

STŘEDOŠKOLSKÁ ODBORNÁ ČINNOST

Obor SOČ: 10. Elektrotechnika, elektronika a telekomunikace

Nové metody neinvazivní charakteristiky architektury mikrocév pomocí magnetické rezonance

New methods for non-invasive characterization of microvessel
architecture using magnetic resonance imaging

Autor: **Marek Jüttner**

Škola: Gymnázium Brno, Křenová, p.o.
Křenová 304/36, 602 00, Brno

Kraj: Jihomoravský kraj

Konzultant: Ing. Jiří Kratochvíla, Ph.D.

Brno 2023

Prohlašuji, že jsem svou práci SOČ vypracoval samostatně a použil jsem pouze podklady (literaturu, projekty, SW atd.) uvedené v seznamu vloženém v práci SOČ.

Nemám závažný důvod proti zpřístupnění této práce v souladu se zákonem č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) v platném znění.

V dne podpis:

Děkuji Ing. Jiřímu Kratochvílovi, Ph.D. za obětavou pomoc a podnětné připomínky, které mi během práce poskytoval.

Tato práce byla vypracována za finanční podpory JmK. Děkuji.



jcm jihomoravský kraj



STŘEDOŠKOLSKÁ
ODBORNÁ ČINNOST

Anotace:

Práce se zabývá návrhem nových metod pro zobrazení architektury mikrocév ve tkáních pomocí nukleární magnetické rezonance (NMR). Klinicky používané metody NMR sice dokáží zobrazit parametry kvantitativně popisující fyziologické děje ve tkáni na mikroskopické úrovni (průtok krve, objem krve, difuze, atd.), ale nedokáží, či se nepoužívají pro popis architektury (orientace) mikrocév. Cílem práce je pochopení jevu NMR a principu zobrazování systémem NMR, zaměření se na používané metody zobrazení, které mají potenciál pro zobrazení směrovosti mikrocév a využití těchto metod pro návrh a ověření vlastní metodiky stanovení směrovosti. Pro ověření metodiky stanovení směrovosti mikrocév je cílem práce konstrukce fantomu, který nahrazuje živou tkáň a na tomto fantomu naměřit a zpracovat vybranými zobrazovacími metodami data tak, aby výsledné parametry po zpracování potvrdily směrovost mikrocév ve fantomu.

Klíčová slova: nukleární magnetická rezonance, architektura mikrocév, perfuze, difuze, modelování

OBSAH

ÚVOD	6
1. TEORETICKÁ ČÁST	7
1.1 Základy NMR	7
1.1.1 Jev magnetické rezonance	7
1.1.2 Struktura magnetu	11
1.1.3 Tvorba obrazu	13
1.1.4 Akviziční sekvence	18
1.2 Difuzní zobrazování v NMR	20
1.2.1 Základní princip	21
1.2.2 Matematický model	23
1.2.3 Využití difuzní anizotropie v NMR	25
1.2.4 Klinické využití	26
1.3 Perfuzní zobrazování v NMR	26
1.3.1 Základní princip	27
1.3.2 Kontrastní látka	31
1.3.3 Farmakokinetický model	31
1.3.4 Klinické použití	34
1.4 Perfuzo-difuzní zobrazování v NMR	34
1.4.1 Základní princip	34
1.4.2 Matematický model metody IVIM	35
1.4.3 Klinické použití	36
2 CÍLE PRÁCE	37
3 PRAKTICKÁ ČÁST	38
3.1 Návrh a realizace fantomu	38
3.2 Návrh metodiky zjištění architektury cév	41
3.2.1 Perfuzo-difuzní metodika	41
3.2.2 Perfuzní metodika	42
3.3 Měření na systému NMR	43
3.3.1 Perfuzně-difuzní měření IVIM	45
3.3.2 Měření perfuze s kontrastní látkou	47
3.4 Zpracování naměřených dat	50
3.4.1 Zpracování perfuzně-difuzních dat	51
3.4.2 Zpracování kontrastní perfuze	52
3.5 Výsledky měření a jejich diskuze	54
3.5.1 Výsledky a diskuze perfuzně-difuzních měření	54
3.5.2 Výsledky a diskuze perfuzního měření s kontrastní látkou	60
ZÁVĚR	65
LITERATURA	67
SEZNAM OBRÁZKŮ	69

ÚVOD

Lidstvo ve 21. století konzumuje veškeré výtobytky moderní techniky. Toto lidem šetří čas a energii. Vždyť ještě před sto lety se na mnohých vesnicích a městech teprve zaváděla elektrifikace. Taková samozřejmost, jakou je dnes otevření lednice v domácnosti, zapnutí světla, apod. ještě před sto lety nemusela být zdaleka něčím běžným. Díky rozkvětu technologie ve všech oblastech lidského života dochází ke zlepšení lidského života v porovnání s dřívějšími dobami a to se projevuje mimochodem na zvýšení průměrné délky života. Právě moderní technika kromě nesporných výhod ale přináší také negativa. Z pohledu této práce jde zejména o fakt, že lidstvo, spoléhající se na ulehčení činností a ruku v ruce se zvyšující se délkou života, trpí tzv. civilizačními chorobami. O civilizačních chorobách se mluví v posledních letech víc a víc. Stávají se nejpálčivějším problémem, proč lidé umírají. Infarkt myokardu, mozková mrtvice, Alzheimerova choroba, rakovina, cukrovka. Tyto nemoci souvisí s prodloužením života a faktem, že manuální činnost převzaly za člověka stroje a člověk se podvolil sedavému stylu života a pohodlnosti, jež mu technologie přináší. Zároveň je příčinou také stres, kterému jsou lidé díky zrychlené době vystaveni.

V lékařství je pak technika dnes naprosto nepostradatelná. Zobrazovací modalita jako počítačová tomografie, ultrasonografie, elektrokardiografie, jednofotonová emisní tomografie nebo právě nukleární magnetická rezonance jsou každodenně využívány pro diagnostiku a monitorování léčby. Lékař dnes bez obrázků a křivek vyprodukovaných těmito stroji nestanoví výslednou diagnózu.

Proto je stále důležitější vyvíjet tyto lékařské systémy tak, aby lékař dostal výsledný obraz rychleji a ideálně také levněji a aby obraz byl kvalitnější. Jen tak bude možné docílit kvalitnější diagnostiky, léčby a pomoci více lidem.

Tato práce se zabývá vývojem metod nukleární magnetické rezonance tak, aby výsledek splnil právě požadavek přínosu diagnostiky a léčby chorob pacientů.

V první, teoretické, kapitole je vysvětlen princip jevu nukleární magnetické rezonance a je popsána tvorba obrazu. V dalších, stále teoretických kapitolách jsou vybrány a popsány metody zobrazení související s řešením práce, tedy perfuze a difuze. Další kapitola, cíle práce, definuje v souladu se zadáním výstup práce – nalezení parametru, který by definoval architekturu mikrocév. Další, praktické kapitoly práce, pak popisují praktický postup, jak bylo cíle dosaženo. Zahrnují návrh fantomu tkáně, měření na něm, zpracování obrazů a diskuzi výsledků.

1. TEORETICKÁ ČÁST

1.1 Základy NMR

Nukleární magnetická rezonance (NMR) je neinvazivní zobrazovací modalita, která poskytuje informace o vnitřní stavbě lidského těla, fyziologii a funkci jednotlivých orgánů. Tato zobrazovací modalita je používána zcela rutinně v klinické praxi v mnoha odvětvích (onkologie, neurologie, chirurgie, atd.). Na rozdíl od rentgenu nebo počítačové tomografie (CT) nepoužívá pro zobrazení ionizující záření, které při průchodu hmotou podél své dráhy odtrhuje elektrony z elektronového obalu, což může vést ke vzniku nádorových onemocnění. Proto se nyní označuje NMR jako zdraví neškodlivá.

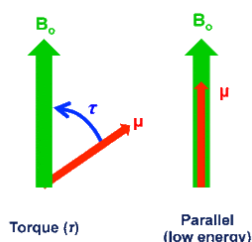
1.1.1 Jev magnetické rezonance

Lidské tělo je tvořeno z největší části vodou. Klinické systémy NMR proto nejčastěji zobrazují právě vodu. Pojem "zobrazení vody" však není zcela přesný, systém zobrazuje vodík, který je součástí vody. Systémy NMR mohou zobrazovat i jiné prvky kromě vodíku. Nukleární magnetická rezonance, jak už název napovídá, pro zobrazení signálu využívá atomová jádra (v případě vodíku jde o zobrazení protonů, neboť jádro vodíku obsahuje pouze proton). Často se v literatuře nesprávně popisuje princip jevu magnetické rezonance připodobněním jedné elementární částice (např. protonu vodíku) k malé rotující kuličce, která rotuje kolem vlastní osy (tzv. „spin“) a tento pohyb jí uděluje spinový moment hybnosti a dále v případě působení vnějšího magnetického pole je částice vyobrazena jako rotující magnetka s měřitelným magnetickým momentem znázorněným vektorem. Je nemožné takto uvažovat představou klasické fyziky. Na úrovni elementárních částic totiž platí kvantová fyzika, kde magnetický moment osamocené částice není spojitý, ale kvantovaný a nelze jej měřit (pouze jeho průmět do určité osy). Taktéž osamocená částice nerotuje kolem své osy a tato rotace není spin. Spin, přesněji spinový moment hybnosti, je intrinzičná vlastnost elementární částice a její existence má kromě jiného také vliv na existenci vlastního magnetického momentu částice (odtud představa magnetky), který nesouvisí s elektrickým proudem (pohybem nabitých částic). Pokud ale budeme uvažovat jistý elementární objem částic (např. elementární objem jader/protonů vodíku), pak lze většinu výše uvedeného popsat pomocí klasické fyziky. Spin lze pro dané atomové jádro stanovit – nemůže nabývat jiných hodnot, než kladných (včetně nuly) celočíselných násobcích hodnoty $\frac{1}{2}$. Pouze jádra

s nenulovým spinem (lichý počet nukleonů, tedy součet protonů a neutronů) mohou pohltit a vyzářit elektromagnetickou energii a taková jádra jsou příčinou jevu magnetické rezonance. Výše uvedené pojmy magnetický moment a moment hybnosti jsou pro vysvětlení jevu magnetické rezonance stěžejní. [1]

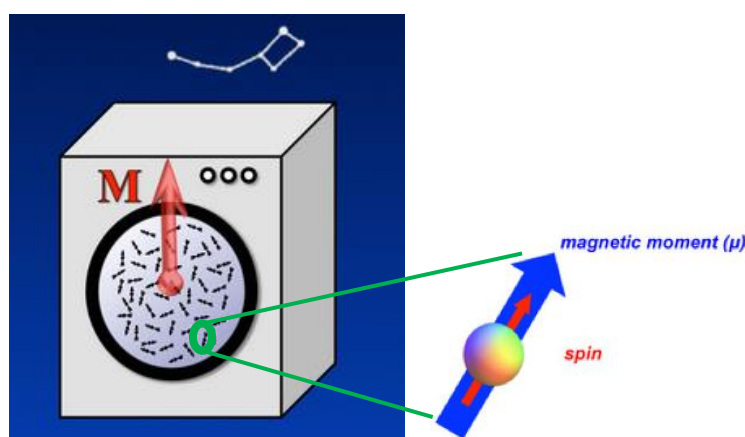
Elementární objem jader s nenulovým spinem bude pro přímější představu nahrazen střílkou kompasu (malá magnetka). Pokud bude kompas mimo magnetické pole, bude střílka orientována náhodně podle dalších vlivů (pohyb, náklon, teplota, tření, atd.). Pokud ale bude přítomno magnetické pole Země (či jiné magnetické pole), střílka se zorientuje ve směru tohoto magnetického pole a to tak zřetelně, jak „silné“ bude vnější magnetické pole Země a jak „silná“ bude magnetka střílky. „Síla“ vnějšího magnetického pole je dána veličinou magnetická indukce (B), jednotka Tesla (T), a vyjadřuje silové účinky magnetického pole na částici s magnetickým momentem. „Síla“ magnetky střílky je dána veličinou magnetický moment (μ), který určuje, jakou silou působí vnější pole na magnetku. Výsledný moment síly tedy stáčí magnetický moment střílky do souhlasného směru s magnetickou indukcí vnějšího pole, tedy do stavu minimální energie. Oba vektory (B a μ) tak budou mít v přítomnosti magnetického pole souhlasný směr. (1)

Téměř zcela stejně se bude chovat elementární objem protonů vodíku bez přítomnosti a v přítomnosti silného vnějšího magnetického pole (stroje NMR). Bez přítomnosti vnějšího magnetického pole nepůsobí na částice jednotně orientovaná síla tak, aby se jejich magnetické momenty zorientovaly do směru působícího magnetického pole. Vlivem dalších jevů (kinetická, tepelná energie, interakce s elektronovým obalem, dalšími jádry a dalšími částicemi) budou magnetické momenty elementárních objemů orientovány nahodile a pro zkoumaný větší objem bude výslednice magnetických momentů nulová. V přítomnosti silného magnetického pole (vložením do systému NMR) budou na elementární objemy působit síly, které by měly otočit jejich magnetický moment do směru vnějšího magnetického pole, tedy do stavu minimální energie obdobně jako u střílky, viz Obr. 1.



Obr. 1 – Srovnání směru vnějšího magnetického pole s magnetickým momentem [1]

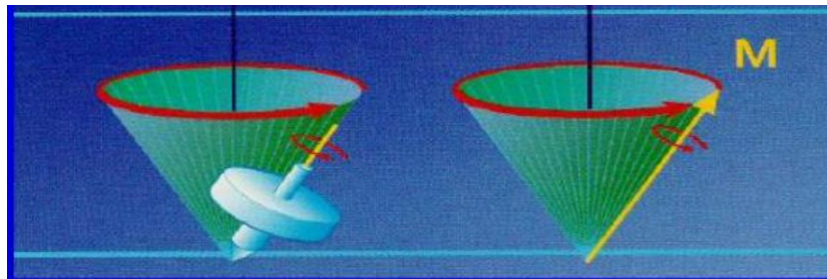
Ne u všech elementárních objemů částic se podaří dotočit magnetický moment do směru vnějšího pole, protože jsou kinetickou a tepelnou energií vyrušovány od dotočení do stavu minimální energie. Některé elementární objemy budou dokonce tvrdošijně setrvávat se směrem magnetického momentu právě opačným, než je směr vnějšího magnetického pole. Přesto ve velkém objemu dojde k malé převaze stavů s minimální energií, kdy výsledný magnetický moment směřuje ve směru vnějšího magnetického pole (v následujícím odstavci je upřesněno jeho přesné chování v tomto směru). Tento výsledný magnetický moment, vektorová výslednice směrů magnetických momentů jednotlivých elementárních objemů, je nazýván vektorem magnetizace (M) a tvoří základní prvek pro tvorbu obrazů získaných ze systémů NMR. Celou situaci lze trefně přirovnat ke spoustě kompasových střelek v sušičce. Většina střelek (elementárních objemů jader vodíku) bude díky chodu sušičky všelijak rotovat a směřovat jinam, než je směr severu (vnějšího magnetického pole), ale z pohledu celku pak bude převažovat výslednice směřující na sever (orientaci vnějšího magnetického pole), viz Obr. 2.



Obr. 2 – Vysvětlení výslednice vektoru magnetizace [1]

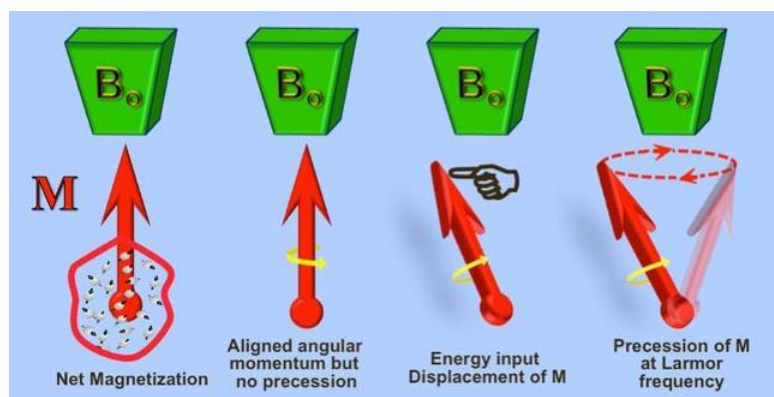
Pokud je dodána do tohoto velkého objemu částic energie (v podobě radiofrekvenčního, tj. RF, pulzu), vychýlí se vektor magnetizace mimo směr vnějšího magnetického pole. Po tom, co se RF pulz ukončí, vektor magnetizace dodanou energií emituje a vrací se opět do směru vnějšího magnetického pole. Očekávalo by se, že se stejně jako strelka kompasu prostě otočí do tohoto směru. Protože ale mají elementární objemy také moment hybnosti (ta jejich intrinzičná vlastnost), rychle se otáčí kolem osy totožné s vektorem svého magnetického momentu (otáčení je z pohledu makroskopického vnímání klasické fyziky pro elementární objem částic, při reálnějším pohledu kvantové mechaniky nejde o otáčivý pohyb jednotlivých částic) a rotace působí proti snaze srovnání vektoru magnetického momentu s vektorem vnějšího magnetického

pole. Výsledkem je tzv. precesní pohyb, kdy vektor magnetizace (M) opisuje plášť kužele ve směru vnějšího magnetického pole, obdobně jako známá dětská hračka, „káča“, kdy po roztočení funguje jako setrvačnick konající tento precesní pohyb, viz Obr. 3.



Obr. 3 – Setrvačnick „káča“ vlevo, vpravo vektor M , oba konají precesní pohyb [1]

Výsledný vektor magnetizace při vychýlení ze své rovnovážné polohy (působení RF pulzu) tedy koná precesní pohyb podél vnějšího magnetického pole, a to s frekvencí (tzv. Larmorova frekvence) přímo úměrnou velikosti tohoto vnějšího pole, viz Obr. 4.



Obr. 4 – Chování výsledného vektoru magnetizace M [1]

Tato frekvence je tedy typická pro dané jádro (jiná je pro vodík a jiná pro uhlík, atd.) a pro velikost magnetické indukce vnějšího pole tak, jak ukazuje Obr. 5.

Nucleus or Particle	Gyromagnetic Ratio (γ) in MHz/Tesla
^1H	42.58
^3He	-32.43
^{13}C	10.71
^{19}F	40.05
^{23}Na	11.26
^{31}P	17.24
electron	-27,204

Obr. 5– Rezonanční frekvence pro různá jádra [1]

Vychylování vektoru magnetizace a jeho návrat zpět je základní kámen tvorby výsledného obrazu (obrázku řezu mozkiem pacienta), více viz kapitola 1.1.3. A proč se říká sousloví magnetická rezonance? Protože na to, aby se „oslovila“ (tedy aby se vychýlil

vektor magnetizace) jádra pouze vodíku a žádného jiného prvku, je potřeba použít RF pulz o přesně stejné, rezonanční, frekvenci pro daný prvek a danou magnetickou indukci.

1.1.2 Struktura magnetu

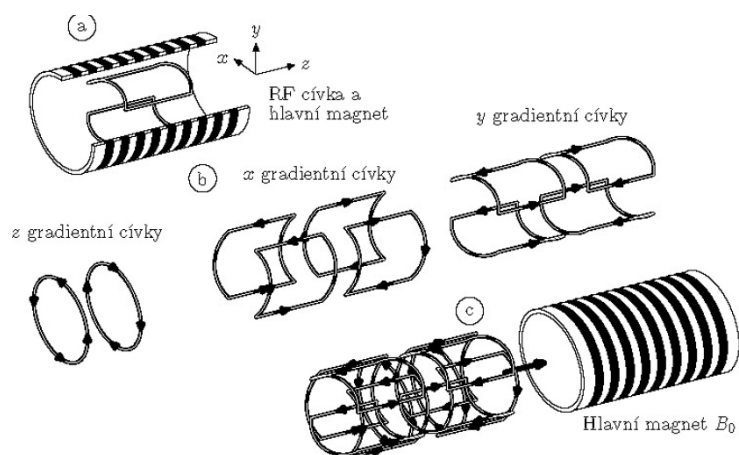
Magnet používaný pro NMR je většinou tzv. supravodivý magnet. To je elektromagnet vyroben ze supravodivých materiálů (zejména měď a její sloučeniny a sloučeniny dalších kovů), který při ochlazení pod kritickou teplotu vykazuje tyto hlavní výhody:

1. Vede elektrický proud téměř bez odporu
2. Dosahuje vyšších hodnot magnetické indukce (až 20T) než elektromagnet nebo permanentní magnet při stejné hmotnosti
3. Magnet je mnohem lehčí než elektromagnet nebo permanentní magnet

Tyto systémy mají ovšem tu nevýhodu, že se musí neustále chladit pod kritickou teplotu. K tomu se využívá nejčastěji kapalné helium, které je velmi drahé. Pokud by helium přestalo být chlazené, nastává tzv. „quench“ magnetu. Helium přejde z kapalné formy do formy plynné a tím zvětší mnohonásobně svůj objem. Aby se nepoškodil hardware a nedošlo k újmám na zdraví osob, je při „quenchi“ magnetu toto plynné helium odvedeno komíny ven z budovy. Opětovné vybudování systému NMR do stavu supravodivosti stojí značné finance. [1]

Vlastní stroj systému NMR má tvar tunelu, oproti systémům CT, které jsou prstencové. Hlavní výhodou tunelového systému je největší homogenita magnetického pole, nevýhodou je limitovaný prostor pro pacienta. Tento systém může měřit celé tělo a používá se jak na klinické účely, tak i preklinické. Pro klinické účely jsou nejpoužívanější magnety s magnetickou indukcí 1,5 T nebo 3 T. Pro preklinické a výzkumné účely jsou používány magnety dosahující hodnoty magnetické indukce až 12 T, pro NMR spektroskopii až 20 T [1]. Magnetické pole Země je přibližně 20000x menší než magnetické pole magnetu s magnetickou indukcí 1 T. Existují také tzv. otevřené systémy NMR, které jsou vhodné pro zobrazování periférií, jsou lehčí, levnější, vyšetřovaná osoba netrpí klaustrofobií, nemají ale tak silné magnetické pole.

S trochou nadsázky lze říct, že magnet NMR systému je spousta cívek poskládaných do sebe, viz Obr. 6. Mezi nejdůležitější patří gradientní a radiofrekvenční cívky.



Obr. 6 – Systém NMR jako soustava cívek [2]

Gradientní cívky jsou Helmholtzovy (kruhové buzené opačným směrem proudu, Obr. 6 uprostřed vlevo, vytváří gradientní pole v ose z, viz následující kapitola) a Golayovy (obdélníkové, opět buzené opačnými směry proudu, vytváří gradientní pole v osách x a y, viz Obr. 6 uprostřed a uprostřed vpravo). Gradientní magnetické pole slouží k výběru tomografie a rozlišení zobrazovaných struktur tkáně, viz následující kapitola 1.3. [2]

Radiofrekvenční (RF) cívky se dělí na vysílací a přijímací. Vysílací cívky například generují budící RF pulz k vychýlení vektoru magnetizace do požadovaného úhlu, viz kapitola 1.3. Přijímací cívky přijímají signál vycházející ze signálu tkáně (atomových jader) při návratu jejich vektoru magnetizace M do rovnovážné polohy. RF cívky se dále dělí na objemové, povrchové a prstencové dle způsobu polohování na měřený vzorek. [1]

Průchod signálu cívkami vytváří během měření silný hluk, proto jsou při klinickém vyšetření pacientovi poskytnuta sluchátka.

Pracoviště systému NMR se skládá z prostoru pro elektroniku a chlazení, vlastní magnet a ovladovnu. Na Ústavu přístrojové techniky Akademie věd České republiky se systém NMR rozkládá ve třech místnostech. V první místnosti je veškerá elektronika magnetu (gradientní zesilovače, chlazení, atd.). Ve druhé místnosti se nachází hlavní magnet, viz Obr. 7.



Obr. 7 – Systém NMR na pracovišti, kde probíhalo měření

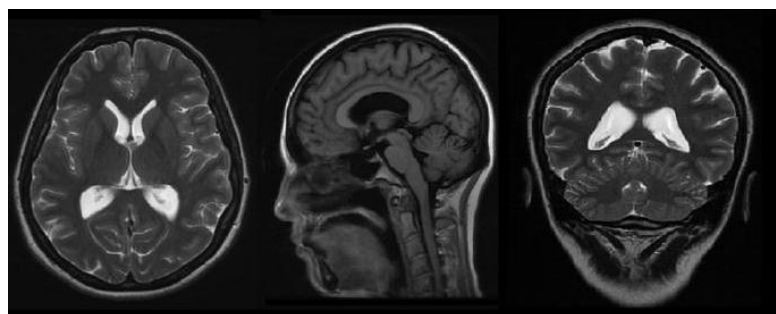
Místnost s magnetem ohraničuje Faradayova klec, aby nedošlo k rušení signálu zvenčí. Z místnosti jsou však vyvedeny malé otvory, kterými prochází kabely a hadičky, které byly využívány v této práci. Otvory průchodů jsou však speciálně navrženy tak, aby se v průchodu otvoru stihla elektromagnetická vlna zlomit, a po průchodu celou délkou neovlivnila měření. Třetí místnost je tzv. ovladovna, kde jsou umístěny výpočetní PC pro zpracování naměřených dat, dále je zde software pro nastavování měřících sekvencí a ovládání magnetu a v neposlední řadě monitorovací systémy pro sledování životních funkcí měřených zvířat.

1.1.3 Tvorba obrazu

V kapitole 1.1.1 je uvedeno, že jediným způsobem, jak oslovit jádra atomů, která chceme zobrazit, je vyslat do tkáně excitační RF pulz přesně na takové rezonanční frekvenci, která odpovídá jádrům daného prvku pro danou velikost magnetické indukce vnějšího pole. Tehdy se vektor magnetizace M daného chemického prvku sklopí mimo svou rovnovážnou polohu (mimo směr B_0). Pro to, aby byl vytvořen obraz řezu například mozku, který je předložen lékařům, je nutné změřit signál, ze kterého se obraz vytvoří. Pro měření takového signálu je nutno přestat aplikovat RF pulz, kdy se vektor M navrací do své rovnovážné polohy (podél B_0) a odevzdává při návratu energii dodanou RF pulzem. Tato energie je zachytávána ve formě radiofrekvenčního signálu přijímacími cívkami. Parametry RF pulzu určí, jak moc se vektor M ze své rovnovážné polohy podél B_0 vychýlí. Velmi často se používá tzv. 90° nebo 180° pulz (ale i jiné hodnoty). Stupně udávají, o jaký úhel se vektor magnetizace otočí. Při aplikaci 90° pulzu se vektor sklopí do roviny kolmé k B_0 (tedy z osy z , která je osou směru B_0 , do roviny xy). Po ukončení pulzu se vektor magnetizace z roviny xy začne vracet zpět do směru B_0 . Době výskytu

vektoru magnetizace v rovině xy se říká příčná relaxace a označuje se T_2 (stovky milisekund až sekundy). Vektor M se dále navrácí do směru B_0 a tomuto návratu se říká podélná relaxace, T_1 (sekundy). Časy T_1 a T_2 jsou specifické pro danou tkáň a určují tak ve výsledném obraze (kromě jiných parametrů, například počet protonových jader, atd.) jasový rozdíl různých tkání (rozeznáme např. ledvinu od kosti). [1]

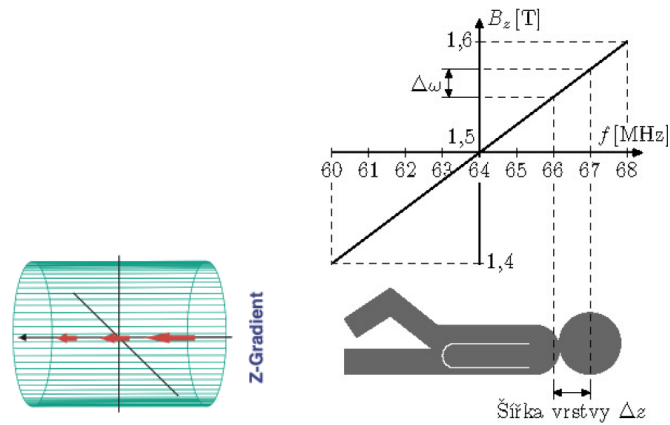
Obrázek tkáně (např. mozku, viz Obr.8, zleva řez axiální, sagitální, koronální), který po vyšetření systémem NMR drží lékař v ruce (prohlíží si v počítači), je nejčastěji 2D matice, která je složena z určitého množství pixelů (stejně jako digitální fotografie z fotoaparátu). Samozřejmě systém NMR umožňuje také 3D zobrazení, ale k pochopení tvorby obrazu bude dále předpokládána 2D matice pixelů.



Obr. 8 – Směrové orientace zobrazení tkáně [3]

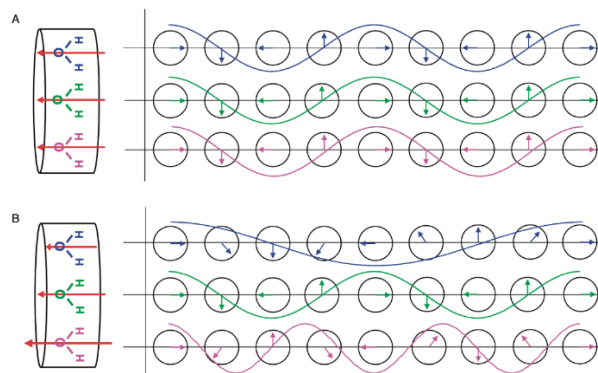
Je zřejmé, že každý pixel v obrázku musí být pozičně definován (zakódován) zvlášť, jinak není možné získat pro každý pixel vlastní hodnotu jasu v obraze (nebylo by možné poznat, že signál je právě z daného místa). Je tedy nutné nějak ve tkáni, kterou zobrazujeme, definovat pozici vybraného řezu (požadavek zobrazit řez např. středem mozku) a dále v daném řezu každý pixel odlišit.

Pro výběr řezu se využijí gradientní cívkky. Předpokládejme např., že je požadavek zobrazit axiální řez. Využijí se tedy gradienty Helmholtzovy (viz Obr. 6), které vytvoří gradientní pole v ose z , které se přičte k vnějšímu poli B_0 . To znamená, že z původně konstantní hodnoty B_0 v ose z se stala lineárně rostoucí hodnota a tím také v každém místě osy z je vyžadována jiná rezonanční frekvence na sklopení vektoru M , viz Obr. 9. Objemy jader vodíku, které před aplikací těchto gradientů měly svou rezonanční frekvenci dānu všechny stejnou podél osy z a RF excitační pulz na této rezonanční frekvenci by tak sklopil jejich vektory magnetizace podél celé osy z , nyní sklopí vektor magnetizace pouze těch jader, která jsou v místě se stejnou rezonanční frekvencí. Tím je vybrán řez pro zobrazení.



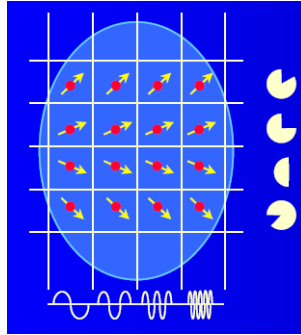
Obr. 9 – Gradientní pole v ose z pro výběr řezu [1] [2]

Stejným způsobem se definují pozice pro jednotlivé pixely v daném řezu. Nejprve se odliší sloupce tak, že se aplikují další gradienty (Golayovy) z Obr. 6, např. v ose y. Tomuto se říká fázové kódování (fázové gradienty), protože v každém sloupci bude sice stejná rezonanční frekvence až se gradienty v této ose vypnou, ale s jinou fází. Tedy při působení fázových gradientů se vytvoří obdobná lineární závislost v ose y jako na Obr. 9, to znamená, že v každém místě vektor magnetizace precesuje s jinou frekvencí. Po vypnutí fázových gradientů bude frekvence precese všech vektorů magnetizace stejná, ale v každém sloupci budou mít jinou fázi. Podle počtu sloupců (velikost matice požadovaného obrázku) se toto opakuje pro různě velké fázové gradienty. Řádky se obdobně odliší změnou frekvence (děje se tak při čtení signálu přijímacími cívkami), kdy zbývající gradienty v ose x vytvoří gradientní pole, které mírně změní rezonanční frekvenci pro jednotlivé řádky, viz Obr. 10.



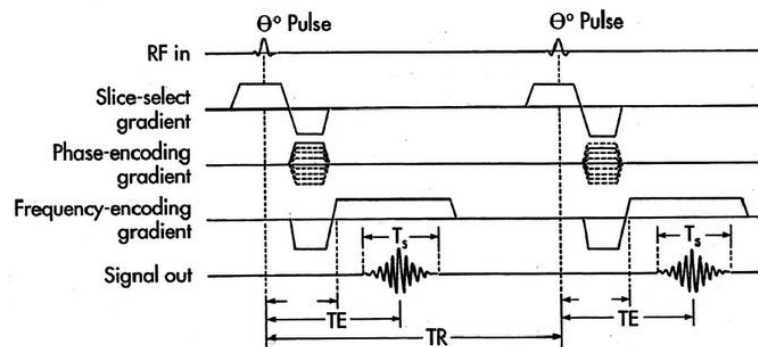
Obr. 10 – Frekvence precese před aplikací gradientu nahoře, dole po aplikaci [4]

Kombinací frekvenčního a fázového kódování došlo pro každý pixel k jednoznačné definici jeho pozice (každý pixel má svou unikátní frekvenci a fázi), viz Obr. 11.



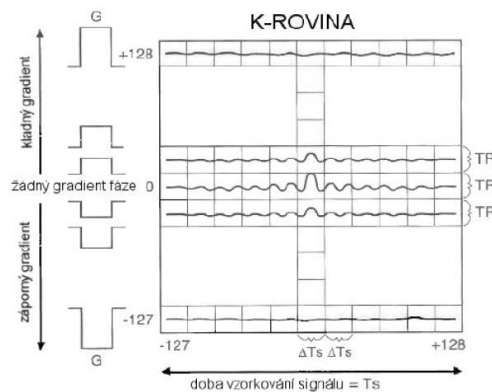
Obr. 11 – Jednoznačná definice pozice pixelu [2]

Konkrétní realizace zakódování pozice jednotlivých pixelů po aplikaci RF pulzu a náběr měřených signálů lze ukázat na následujícím obrázku, Obr. 12. Tímto způsobem se schematicky znázorňují různé akviziční sekvence, které se v NMR používají (zde jde o tzv. sekvenci gradientního echa). V obrázku uvedený čas TR, tzv. repetiční čas, je čas, během kterého se vždy stihne aplikovat RF pulz („RF in“), zakódovat řez pomocí gradientních cívek („slice-select gradient“), zakódovat pixely v řezu (frekvence „frequency encoding gradient“ a fáze „phase encoding gradient“) a získat signál návratu vektoru magnetizace směrem k rovnovážné poloze („signal out“). V obrázku jsou ilustrovány dvě repetice, dvě opakování času TR. Čas TE, echo čas (kde slovo echo vyjadřuje „ozvěnu“, lépe emisi energie, precesujícího vektoru magnetizace po aplikaci RF pulzu, odtud názvy sekvencí jako gradientní echo, spinové echo, apod.) je čas od aplikace RF pulzu po maximální hodnotu získaného měřeného signálu. U mnoha sekvencí se do jednoho TR vleze mnoho TE. Tyto časy a další parametry sekvence nastavuje obsluha stroje před měřením. V obrázku T_s pak značí dobu vzorkování (snímání) signálu, která je ovlivněna počtem řádků matice. Za upřesnění stojí informace, že v obrázku je vždy použitý fázový gradient naznačen plnou čarou (v každém TR jen jeden a pokaždé jiný), z celkového souboru fázových gradientů, které jsou naznačeny čárkovaně (jejich počet určuje počet sloupců matice obrázku).



Obr. 12 – Ilustrace akviziční sekvence [5]

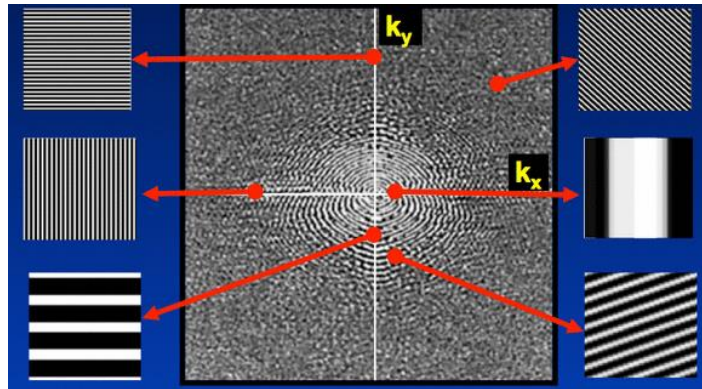
Díky zakódování pozice jednotlivých pixelů v řezu (fázové a frekvenční gradienty) by šlo obraz zobrazovaného řezu (obrázek mozku, který vidí lékař) získat tak, že by z každého pixelu byl přijímán signál o dané hodnotě (tzv. signálové intenzitě, úměrné relaxačním časům, počtu jader vodíku, atd.) a požadovaný obrázek tkáně by se poskládal z hodnot signálových intenzit všech pixelů, pozičně definovaných díky frekvenci a fázi. To je ale bohužel nemožné, celý systém neumožňuje měřit signálovou intenzitu daného pixelu přímo. Každý měřený signál (při daném fázovém a frekvenčním gradientu) je vždy signálem z celého objemu měřeného řezu (celého požadovaného obrázku, všech pixelů) a nikoli jednoho pixelu a je tedy sumační směsicí všech značených frekvencí a amplitud precesujících vektorů magnetizace ve všech pixelech. Cestu ke kýženému obrázku řezu, a tedy lokalizaci signálových intenzit pro konkrétní pixely, zachraňuje matematika. Pokud se totiž tyto měřené signály seřadí dle Obr. 13 do tzv. k-prostoru (matice měřených signálů, kde řádky představují signály získané při dané úrovni fázového gradientu a sloupce různé frekvence při puštěném frekvenčním gradientu), pak lze pomocí matematické metody, tzv. Fourierovy transformace, získat výsledný obraz řezu tkáně. [1]



Obr. 13 – Matice k-prostoru [2]

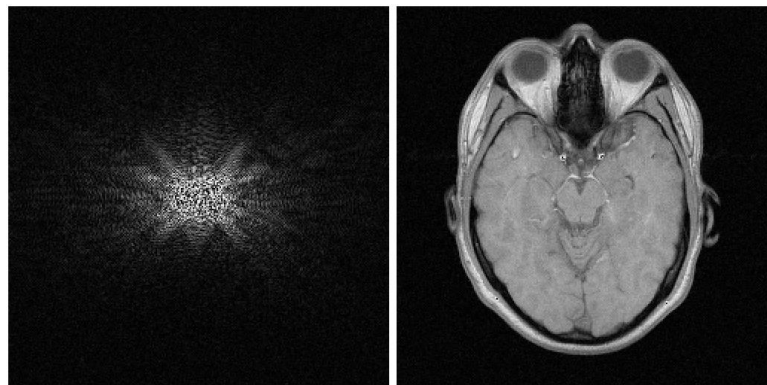
Fourierova transformace umožňuje rozložit (definovat) obecný signál na soubor harmonických funkcí o daných frekvencích, fázích a amplitudách a opět z těchto signálů složit výsledný obecný signál. Tedy každý obecný signál je součtem mnoha harmonických funkcí o různých frekvencích, amplitudách a fázích. V případě obrazů, 2D signálů, je zaveden pojem prostorové frekvence. Z pohledu Fourierovy transformace představuje tedy každý bod k-prostoru informaci o prostorové frekvenci, amplitudě a fázi pro všechny pixely v hledaném obrazu řezu tkáně. Jinak řečeno, každý jeden pixel v k-prostoru přispívá do všech pixelů v obrazu. Různé prostorové frekvence („vlnitý plech“), fáze a amplitudy pro několik pixelů k-prostoru ukazuje Obr. 14. Prostorová frekvence je zobrazena jako hustota proužků, fáze jako jejich sklon a amplituda jako jejich signálová

intenzita (jas). Všechny zobrazené prostorové frekvence mají rozměr matice (velikost obrázku) stejný, jako výsledný obraz řezu tkáně.



Obr. 14 – Prostorové frekvence k -prostoru [1]

Z obrázku je vidět, že informace o nízké frekvenci jsou ve středu k -prostoru a vysoké na jeho krajích. Ve výsledném obrazu řezu tkáně se to projeví tak, že vysoké frekvence zdůrazní hrany a nízké zase nesou informaci o struktuře tkáně. Pokud nyní na k -prostor, Obr. 15 vlevo, použijeme Fourierovu transformaci (sečteme „vlnité plechy“), vznikne výsledný obraz řezu tkáně, viz Obr. 15 vpravo.

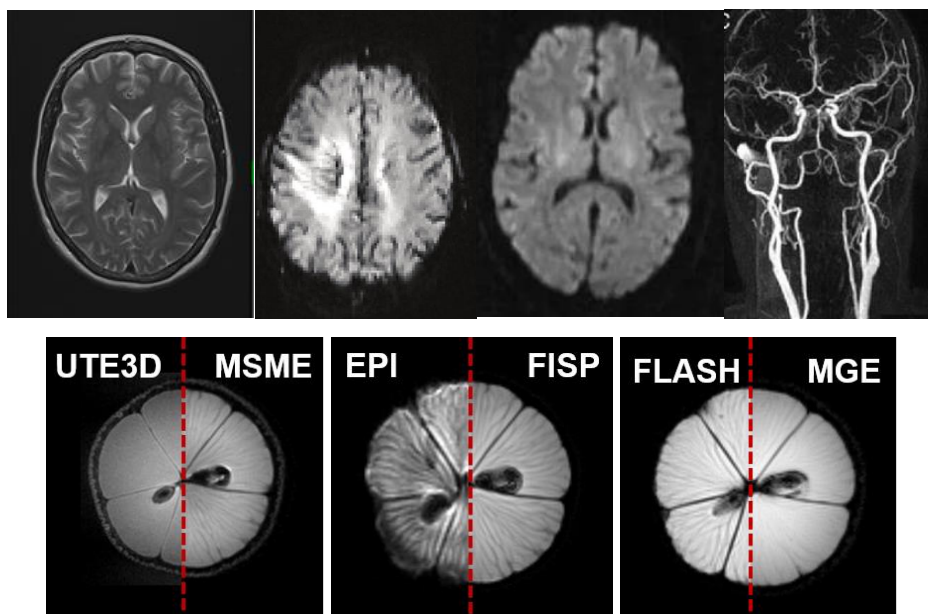


Obr. 15 – K -prostor vlevo a vpravo odpovídající obraz řezu tkáně [6]

1.1.4 Akviziční sekvence

Jak bylo popsáno v předešlém textu, výsledný obrázek tkáně (např. řezu mozku) je váhován mnoha faktory v průběhu měření. Již bylo uvedeno, že mezi ně patří relaxační časy T_1 a T_2 , dále hustota protonových jader a mnohé další. Každá tkáň má své dané relaxační časy a proto je vidět rozdíl jasu na obrázku mezi jednotlivými orgány. Pokud bude akviziční sekvence nastavena tak, že bude váhována hlavně časem T_1 , pak bude jas v obraze (tedy šance rozlišit orgány) dán zejména tímto relaxačním časem. Existuje nepřeberné množství různých akvizičních sekvencí, které se většinou využívají podle

oblasti použití. Například pro zobrazování anatomie slouží T1 váhované sekvence, pro zobrazení difuze jsou speciálně navržené difuzní sekvence (viz dále), pro zobrazení perfuze (průtoku krve) taktéž, pro angiografická zobrazení cév, pro zobrazení spektroskopie (metabolitů), atd. Obrázky z různých typů zobrazení ukazuje Obr. 16. V horní řadě zleva jde o anatomii, dále perfuzi, difuzi a angiografii. Spodní řada obrázku ukazuje řez citronu a použití různých akvizčních sekvencí. Je zřejmé, že někdy je vidět kůra citronu, jindy nikoli, někdy je vidět zřetelně vlákna měsíčku uvnitř citronu, jindy vůbec. Z toho plyne, že lékař, který obrázky řezů tkáně hodnotí a diagnostikuje, musí přesně vědět, jaká sekvence byla použita a co je možno zobrazit.



Obr. 16 – Obrázky získané pomocí různých akvizčních sekvencí

V předešlé kapitole je na Obr. 12 znázorněna jedna z mnoha akvizčních sekvencí. Tímto způsobem se schematicky znázorňují použité akvizční sekvence. Zmíněný obrázek ukazuje sekvenci gradientního echa, dále se používají sekvence založené na spinovém echu, kde se používá 90° excitační pulz a poté tzv. refokusační 180° pulz pro lepší sběr signálu (obdobně se nastavují fázové, frekvenční gradienty a gradienty pro výběr řezu). Od těchto dvou typů základních sekvencí se pak derivují mnohé další, například sekvence rychlého spinového echa nebo sekvence „echo planar imaging“, která využívá rychlejší plnění k-prostoru. Pro difuzi se využívá jak sekvence spinového echa, tak sekvence „echo planar imaging“, před tyto sekvence se dodá tzv. difuzní modul, viz kapitola 1.2.2. Pro perfuzi se využívá sekvence „Fast low angle shot“ (založená na

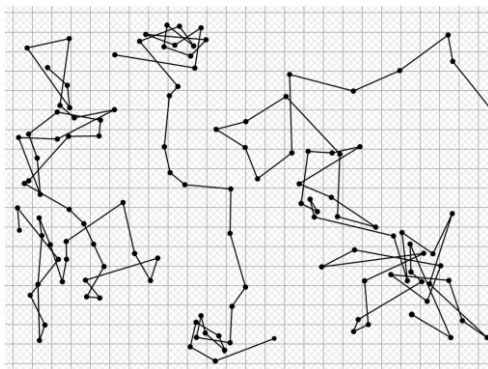
gradientním echu), před tuto sekvenci je možno obdobně jako u difuze předřadit modul inverze (180° pulz). [1]

Následující kapitoly popisují konkrétní aplikace použití systému NMR. Byly vybrány pouze ty aplikace, které souvisí s řešením práce, a to difuzní zobrazování a perfuzní zobrazování pomocí NMR.

1.2 Difuzní zobrazování v NMR

Difuzní zobrazování v NMR je neinvazivní zobrazovací technika, která tak poskytuje detailní informace o funkci tkáně, založena na zachycení pohybu molekul (zde myšleno vody).

Difuze je pohyb molekul (např. vody) z místa o vyšší koncentraci do místa s nižší koncentrací způsobený tepelným pohybem částic. Pohyb částic je nazván Brownovým pohybem, podle svého objevitele, a je zcela náhodný, viz Obr. 17. [4]



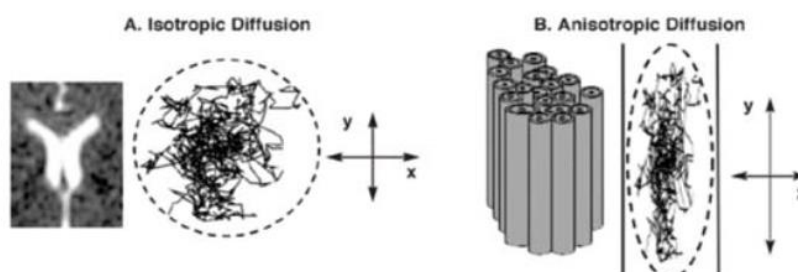
Obr. 17 – Brownův pohyb částic [7]

Jako nejjednodušší příklad difuze, který je znám každému je čajový pytlík umístěný v horkém šálku s vodou. Albert Einstein popsal závislost mezi střední vzdáleností difuze vody a časem pozorování:

$$r = \sqrt{2Dt},$$

kde r (mm) je střední vzdálenost molekul přesunutých za čas t (s). D je pak difuzní konstanta (mm^2/s). Rovnice popisuje, že v nulovém čase molekuly neurazí žádnou střední vzdálenost a se zvyšujícím se časem budou molekuly difundovat do zvyšující se střední vzdálenosti kinetikou udanou difuzní konstantou D . Pokud není v cestě žádná překážka, budou molekuly difundovat dle Gaussovského rozložení, tedy do všech směrů se stejnou pravděpodobností (v případě čajového pytlíku ve vodě by po určitém čase t vznikla koule zabarvená vodou s příměsí čaje o poloměru r). Případu, kdy difundujícím molekulám vody nestojí v cestě žádná překážka a difuze se řídí dle popsaného výše, pak jde o tzv.

izotropní difuzi. Pokud je ale v cestě pohybu molekul vody nějaká překážka, která není ve všech směrech stejná, například voda je uvnitř tenké trubičky (cévy), pak je zřejmé, že difuze bude největší ve směru této trubičky, nikoli kolmo na směr trubičky a po určitém čase bychom neviděli tvar koule, ale tzv. elipsoidu. Takovému jevu říkáme anizotropní difuze. Pokud bychom pak měřili difuzní konstantu ve směru podél trubičky, byla by větší než měřená konstanta kolmo na směr trubičky, vše ilustruje Obr. 18.

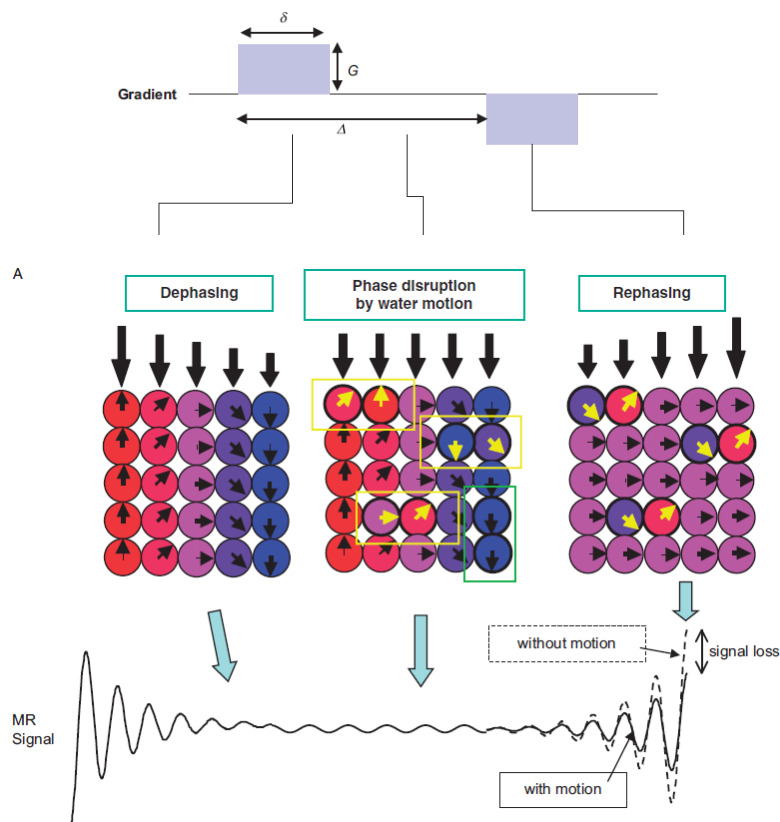


Obr. 18 – Rozdíl mezi nesměrovou (vlevo) a směrovou (vpravo) difuzí [8]

Systém nukleární magnetická rezonance dokáže přesně tyto jevy změřit. Dokáže po daný čas t sledovat difuzní jevy ve tkáni a z naměřených dat je pak možné stanovit difuzní konstantu D a určit, zda šlo o izotropní nebo anizotropní šíření molekul vody. To se děje například tak, že se systém nastaví, aby sledoval difuzi v několika směrech a ve všech se určí tato difuzní konstanta. Pokud v jednom směru jasně převažuje vyšší hodnota D , pak je v tomto směru anizotropní difuze. Nutno podotknout, že měření živé tkáně v NMR způsobuje vlivem překážek (membrány makromolekul apod.) zmenšení hodnoty D oproti příkladu uvedeného v počátku kapitoly. Proto se mnohdy koeficient D nazývá zdánlivý difuzní koeficient. [4]

1.2.1 Základní princip

V kapitole 1.1.3 byly popsány gradienty sloužící pro zakódování fáze – tedy vnutí změnu fáze vektoru magnetizace. Přesně tohoto se využívá pro zakódování difuze, viz Obr. 19.



Obr. 19 – Vysvětlení principu difuze [4]

Na začátku (není v obrázku nakresleno) precesují všechny vektory magnetizace jednotlivých objemů (např. pixelů obrázku) na stejné frekvenci dané vnějším polem B_0 . V této chvíli bychom naměřili největší signál, protože pokud se sečtou zfázované harmonické (precesní otáčení vektoru magnetizace je harmonické) signály, je jejich výslednice nejvyšší. Nyní je aplikován gradient, který jednotlivé vektory magnetizace v objemu donutí precesovat různými frekvencemi (v obrázku levá část). Po jeho ukončení se frekvence opět srovnají na stejnou frekvenci danou vnějším polem B_0 , ale budou mít různou fázi. V této chvíli je ztracen měřený signál, protože pokud se sečtou harmonické signály s různými fázemi, dochází k úbytku signálu (viz dolní část obrázku). Nyní se z hlediska akvizice neděje nic a systém dává čas molekulám vody samovolně difundovat. To je naznačeno uprostřed obrázku žlutými obdélníky. Po určitém čase se aplikuje ten stejný gradient ale s opačnou polaritou (předtím urychleným objemům nastaví menší frekvenci a předtím zpomaleným objemům nastaví vyšší frekvenci). Po jeho ukončení, pokud bude trvat jeho působení stejně dlouho jako předtím, budou všechny objemy mít opět stejnou fázi. Tedy až na ty, které změnili pozici vlivem difuze, viz na obrázku vpravo. Na konci by měl opět být vysoký signál, ale ten bude o něco zmenšen právě těmi objemy, které jsou mimo fázi.

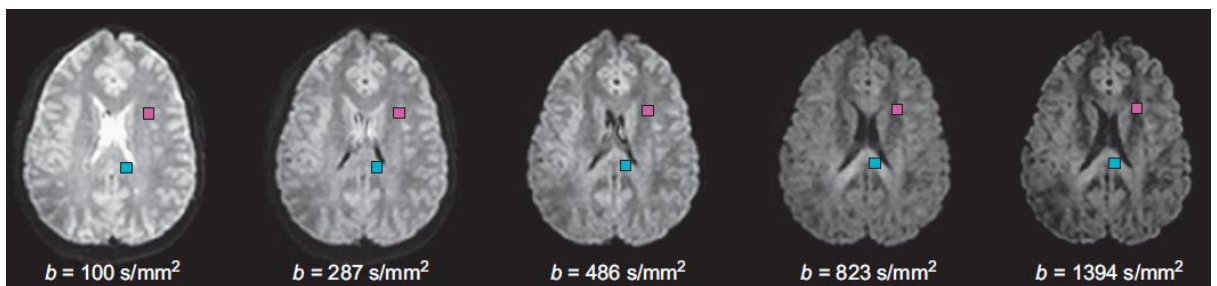
Takto je zakódována difuze v měřeném objemu (existuje více možností, zde je uvedena jedna ilustrace a před gradienty by měl být samozřejmě excitační RF pulz, aby objemy jader precesovaly) a nyní po difuzním modulu následuje některá ze zobrazovacích metod popsána v kapitolách 1.1.3 a 1.1.4.

Jak již bylo v předchozích kapitolách řečeno, gradient je vždy aplikován v určitém směru. V obrázku je kromě žlutých obdélníčků znázorňujících difuzi také zelený obdélníček, který také znázorňuje difuzi (prohodily se dva objemy, pixely, vertikálně), avšak v jiném směru než v případě žlutých. Difuze v tomto směru vůbec nebude mít vliv na výsledný signál. Proto, pro zjištění směrnosti difuze, je potřeba aplikovat vícekrát měření vždy s různými gradienty měnícími pole v různých směrech.

Výsledný obrázek řezu tkáně po aplikaci difuzních gradientů dle obrázku bude tmavší (bude mít nižší hodnoty signálové intenzity) než obrázek bez difuzního váhování. Úroveň ztmavení obrázku bude závislá jednak na velikosti difuze, ale také na parametrech difuzních gradientů. V Obr. 19 je definována velikost gradientu (G), délka působení gradientu (δ) a doba mezi gradienty (Δ). Tyto parametry ovlivňují to, jak moc obrázek nakonec ztmavne. Například pokud se prodlouží čas mezi gradienty, voda bude mít více času na změnu místa. Tyto parametry se pro jednoduchost uvádí jedním číslem, spočteným takto:

$$b = \gamma^2 G^2 \delta^2 (\Delta - \delta/3),$$

kde γ je gyromagnetická konstanta typická pro dané jádro (vodík), viz Obr. 5. Postupné ztmavnutí obrazů při různé úrovni b -hodnoty ukazuje následující Obr. 20. [4]

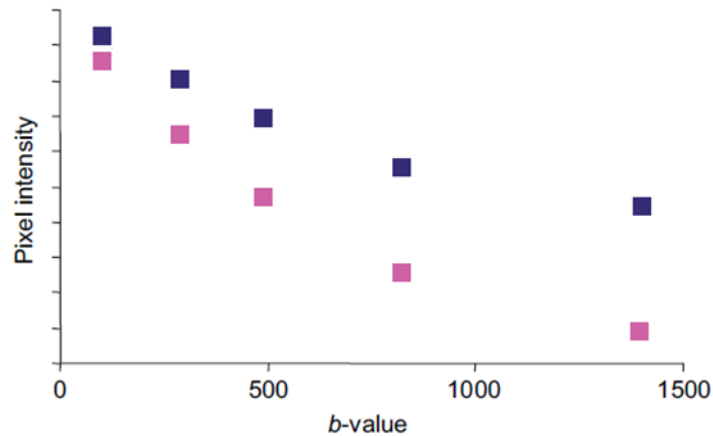


Obr. 20 – Vliv b -hodnoty na obraz [4]

1.2.2 Matematický model

V Obr. 20 jsou znázorněny dva body (modrý a růžový pixel). Pro tyto dva body bude ukázáno stanovení parametrů difuze, tedy konstanty D . Pokud se zobrazí signálová

intenzita (úroveň jasu) v daných pixelech vzhľadom k b-hodnotě, dostane se následující Obr. 21.

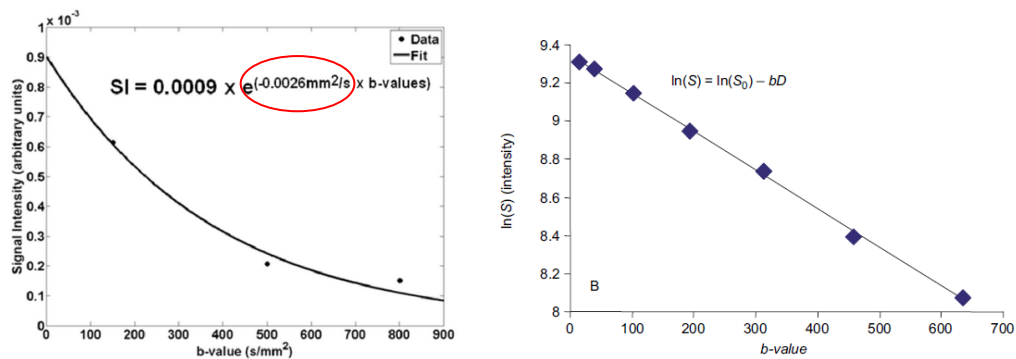


Obr. 21 – Měřený difuzní signál [4]

Závislost poklesu signálu na b-hodnotě je klesající exponenciální, proto se využívá tzv. exponenciální model pro nalezení difuzní konstanty D:

$$S = S_0 e^{-bD},$$

kde S je měřená signálová intenzita daného pixelu, S_0 je měřená signálová intenzita pro b-hodnotu rovnu 0 (tedy obraz bez difuzního váhování), b je b-hodnota a D je difuzní konstanta. V klinické praxi je běžné (vzhľadom k úspore času a apriorní znalosti, že je závislost exponenciální) měřit pouze dva obrazy v jednom směru, jeden pro S_0 bez difuzního váhování a druhý pro vyšší b-hodnotu (pro přesnější měření je samozřejmě lepší mít víc bodů). Těmito body se proloží exponenciála (tedy najde se např. metodou nejmenších čtverců) s takovými parametry, které nejlépe proloží naměřené body. Parametrem exponenciály je difuzní konstanta D a po proložení správnou exponenciálou je tak určena, viz Obr. 22 vlevo.



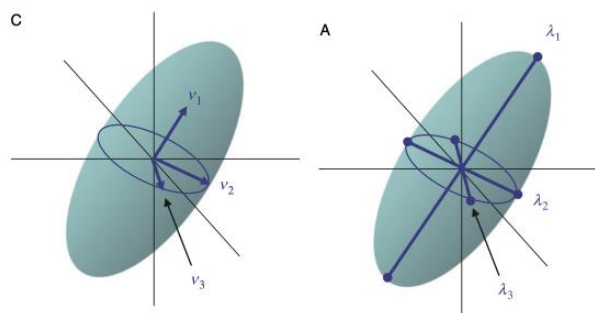
Obr. 22 – Prokládání difuzním modelem [4]

Pokud se toto vše (akvizice dat a zpracování) provede pro více směrů, dostanou se difuzní konstanty pro každý směr a pokud převažuje v určitém směru vyšší D , pak je v tomto směru difuzní anizotropie.

Difuzní konstantu lze také určit linearizací exponenciálního modelu – tedy tak, že se data zlogaritmují a takto změněnými daty se proloží klesající lineární funkce, jejíž parametry definují parametry difuze, tedy opět se stanoví difuzní konstanta D , Obr. 22 vpravo. [4]

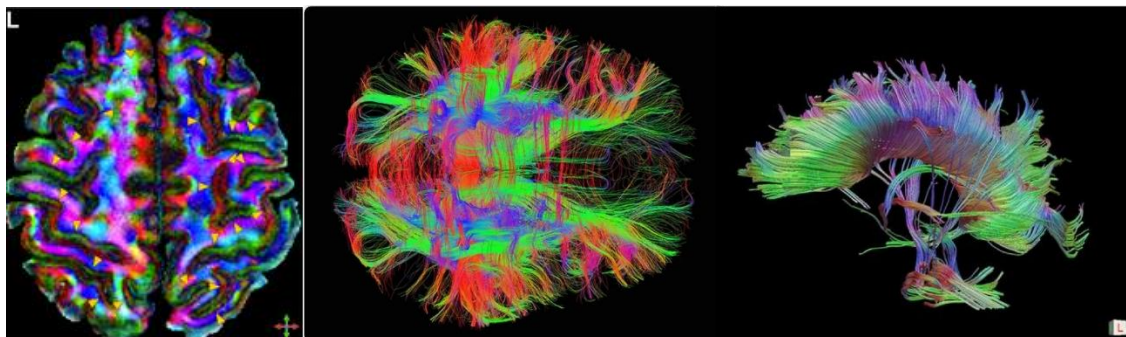
1.2.3 Využití difuzní anizotropie v NMR

V klinickém použití difuze v NMR je požadavek na rychlost měření a jednoduchost zobrazení, proto je nepraktické, jak z hlediska času a z hlediska přehlednosti zobrazení výsledků, používat základní model pro zjištění anizotropie. Definoval se jiný model, tzv. model tenzoru. Jde o elipsoid, který je určen 6 parametry (parametry difuze) a jde o rozšíření základního modelu popsáno v předešlé kapitole. K definování elipsoidu je potřeba minimálně 6 parametrů. Nejméně 3 hodnoty délky nejkratší, nejdelší a střední osy, které jsou na sebe kolmé. Tyto hodnoty jsou označeny jako λ_1 , λ_2 , λ_3 . K definování orientace elipsoidu složí 3 jednotkové vektory, které se nazývají v_1 , v_2 , v_3 . Vše ilustruje Obr. 23. Protože pro definování elipsoidu je potřeba 6 parametrů, musí být provedeno alespoň 6 měření definovaných v předešlé kapitole podél libovolných os, avšak v praxi se využívá více měření. Pokud bychom měření zpracovali podle předešlé kapitoly (tedy pro více směrů), dostali bychom mnoho hodnot pouze parametru D , ze kterých by se mohl vyrobit také elipsoid v případě anizotropní tkáně (hodnoty D by se vynesly do jednotlivých směrů). Model tenzoru umožňuje stanovit ale více parametrů (než pouze D), souvisejících s difuzí a lékař má tak více informace.



Obr. 23 – Parametry potřebné k definování elipsoidu [4]

Díky modelu tenzoru je pak jednoduché stanovit mapy difuzních parametrů, například směrovosti difuze, kde barva určuje orientaci, viz Obr. 24 vlevo. Pokud se poté směrovost trasuje ve více řezech pro všechny pixely, říká se tomu traktografie, je možné zobrazit 3D obrazy difuze tkáně, např. mozku, viz Obr. 24 uprostřed a vpravo, kde barva značí opět směr. [4]



Obr. 24 – Barevné difuzní mapy [9]

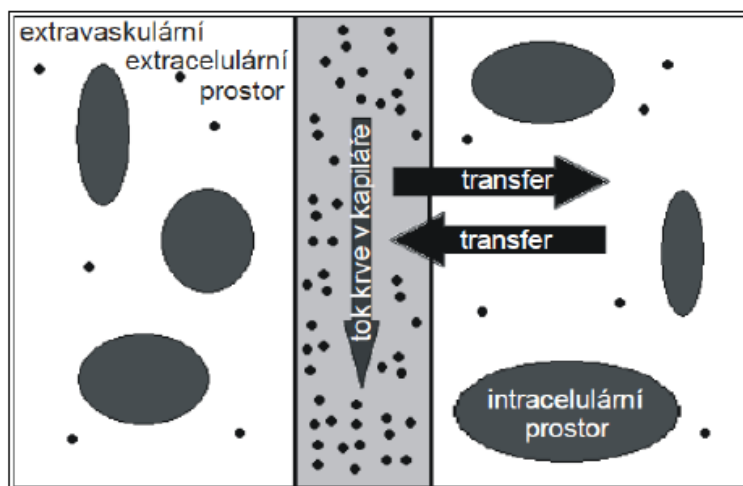
1.2.4 Klinické využití

Difuzní zobrazování má využití v onkologii, neurologii a kardiologii [10]. Difuzně váhované zobrazování je nyní nejpoužívanější metodou pro diagnostiku a léčbu mozkového infarktu [11]. Dále se difuzní NMR uplatňuje se především při hodnocení patologických stavů mozku, například změny vlivem Alzheimerovy choroby [12], autismu [13], schizofrenie [14], ale také k posouzení buněčného složení mozkového nádoru [15].

1.3 Perfuzní zobrazování v NMR

Perfuzní zobrazování pomocí systému NMR je neinvazivní (v případě použití kontrastní látky je pouze tato injekčně vpravena do žíly) zobrazovací modalita, která popisuje funkci zkoumané tkáně z hlediska jejího prokrvení. Oproti difuznímu NMR zde lze zobrazovat distribuci kontrastní látky v těle. Existuje několik zavedených metod v NMR, které zobrazují perfuzi. Zobrazování perfuze bez kontrastní látky se říká „Arterial spin labeling“ (ASL), zobrazování s kontrastní látkou se pak nazývá „Dynamic Susceptibility Contrast (DSC)“ a „Dynamic Contrast Enhanced“ (DCE). První jmenovaná metoda odhaduje pouze parametr průtok krve v dané tkáni. Druhá, DSC, umí stanovit kromě průtoku krve také objem krve a střední dobu průchodu kontrastní látky daným prostorem („mean transit time“, T_c). Třetí jmenovaná, DCE, ta předpokládá, že molekuly

kontrastní látky pronikají také vně krevního řečiště do extravaskulárního, extracelulárního (mimo buňky) prostoru. Proto zde kromě parametrů jako je průtok krve v cévách, objem krve v cévách, lze teoreticky stanovit další perfuzní parametry jako je objem extravaskulárního prostoru (mimo buňky, tam kontrastní látka neproniká), „děravost cév“, tedy jak kontrastní látka proniká skrz stěny cév a zpět, atd. DSC je využívána v oblasti mozku (zde je hematoencefalická bariéra, proto kontrastní látka neproniká mimo cévy, DCE se využívá všude jinde v těle. Pro účely této práce je perfuzním zobrazováním NMR myšlena podskupina technik zobrazujících perfuzi, které využívají kontrastní látku a to konkrétně DCE, tedy ta metoda, kde kontrastní látka proniká i mimo cévy, viz Obr. 25. Metody zobrazování perfuze v NMR nachází hlavní uplatnění v onkologii, kardiologii a neurologii. Zejména v onkologii je řada pacientů hodnocena stále na základě morfologie, tedy velikosti nádoru, kde nádor po nasazení léčby reaguje značně pomalu z hlediska změny velikosti (měsíce), ale na perfuzních mapách je vidět změna v řádu dnů, tedy lékař dostane více času na případnou změnu léčby.



Obr. 25 – Model tkáně [16]

1.3.1 Základní princip

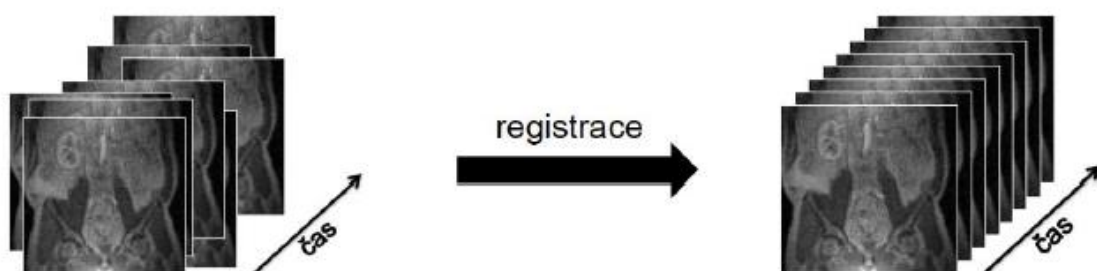
Tato kapitola popisuje princip a jednotlivé kroky perfuzní analýzy od akvizice dat, přes zpracování naměřených obrazů až po stanovení map perfuzních parametrů. Pro zobrazení a následnou analýzu pomocí metody DCE je stěžejní relaxační čas T1 (viz kapitola 1.1.3). Tento čas je totiž lineárně úměrný koncentraci kontrastní látky, která se do tkáně vpravuje. Jinými slovy, pokud bude znám relaxační čas T1 tkáně, bude známa i koncentrace kontrastní látky ve tkáni. V předešlých kapitolách bylo řečeno, že ve výsledném obraze (nebo lépe měřené signály) jsou váhovány spoustou parametrů – počet

(hustota) protonových jader, relaxační časy T1, T2 a další. Proto, aby se omezil vliv dalších faktorů a výsledné signály (obrazy) vyjadřovaly co nejvíce váhu T1 (a tedy jen T1 určil kontrast v obraze, tedy rozdíl mezi např. ledvinou a játry) a zároveň bylo měření co nejkratší, aby postihlo rychlé děje ve tkáni a nezatížilo dlouhou dobou pacienta a pojišťovny, je nutno zvolit správně akviziční NMR sekvenci a použít kontrastní látku. Kontrastní látka zajistí to, že zkrátí relaxační časy T1 a vhodná akviziční sekvence (založená na gradientním echu, viz. Obr. 12), kde signálová intenzita v daném pixelu obrázku (S) je dána dle vzorce:

$$S = k \rho \sin(FA) \frac{1 - e^{-\frac{TR}{T_1}}}{1 - \cos(FA) e^{-\frac{TR}{T_1}}}$$

kde $k \rho$ je hodnota váhovaná hustotou protonových jader a odhaduje se z prekontrastních obrázků, které se měří před aplikací kontrastní látky. TR je repetiční čas, FA je úhel, o který se sklápí vektor magnetizace, oboje viz kapitola 1.1.3. TR a FA jsou známé parametry, které se nastavují na stroji NMR v rámci akviziční sekvence. Je zřejmé, že jedinou neznámou v daném vzorci je pak čas T1. Ten je navíc úměrný koncentraci kontrastní látky, a tak je tedy možné stanovit jas v pixelu obrazu vyjadřující koncentraci kontrastní látky. [17]

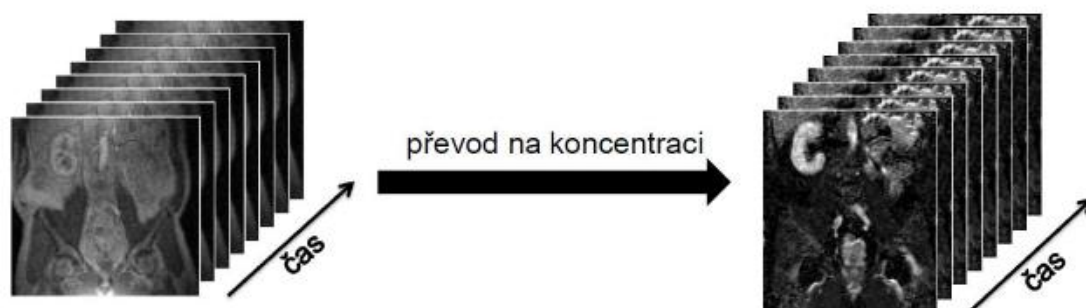
Vlastní měření perfuze probíhá tak, je pacientovi aplikována kontrastní látka (do žíly, jako tzv. Bolus, tj. nikoli infuze) a měří se (zpravidla několik jednotek minut) daný řez (více řezů) v čase. Tedy opakovaně (s určitým časem T_s – vzorkovací periodou, většinou cca 1 s) stejný řez (řezy). Jde tedy o tzv. dynamickou sekvenci. Ilustraci takové dynamické sekvence uvádí Obr. 26.



Obr. 26 – Dynamická perfuzní sekvence [16]

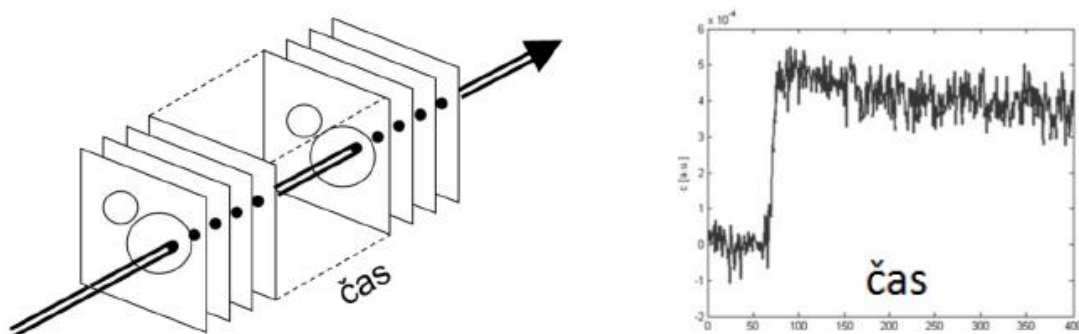
Jak tento obrázek ukazuje, vlivem pohybu pacienta (zvířete), dýchání, pohybu srdce, atd. Je taková sekvence nezarovnaná, je potřeba provést tzv. registraci (matematická optimalizace), jejíž výsledkem je zarovnaná sekvence v prostoru a čase.

Aby pixely v sekvenci vyjadřovaly koncentraci kontrastní látky, je potřeba provést převod na koncentraci kontrastní látky, kdy výsledkem jsou obrazy, kdy jas vyjadřuje koncentraci, Obr. 27.



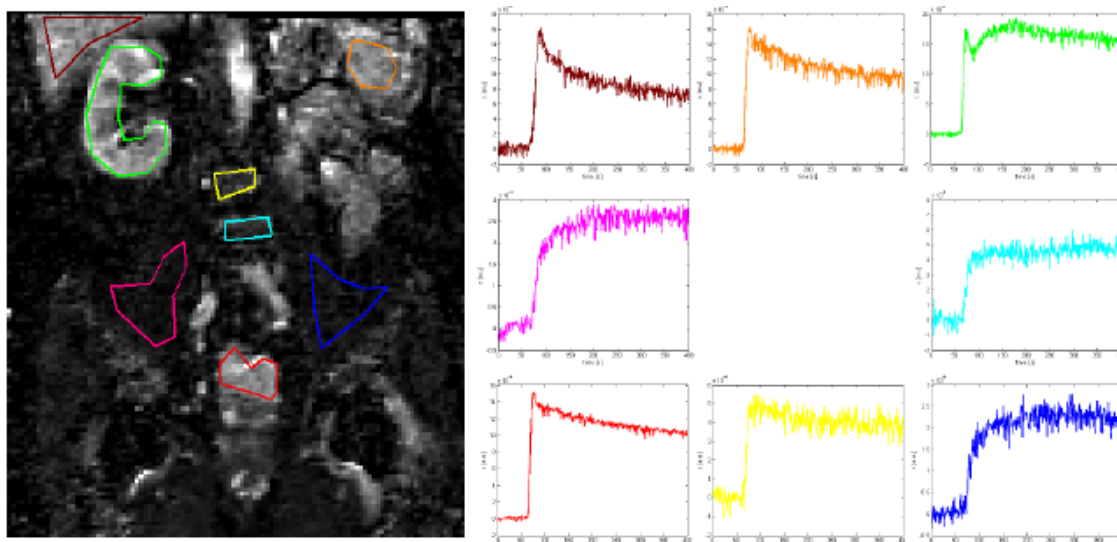
Obr. 27 – Převod na koncentraci kontrastní látky [16]

Vlastní perfuzní analýza se provádí nikoli na obrazovém 2D signálu, ale na křivkách, 1D signálu. Ty jsou z obrazů extrahovány jako časové průměry daných pixelů (oblastí zájmů) skrze celou sekvenci, dle Obr. 28, který zobrazuje jednu křivku pro daný pixel. Tím jsou získány měřené křivky koncentrace kontrastní látky.



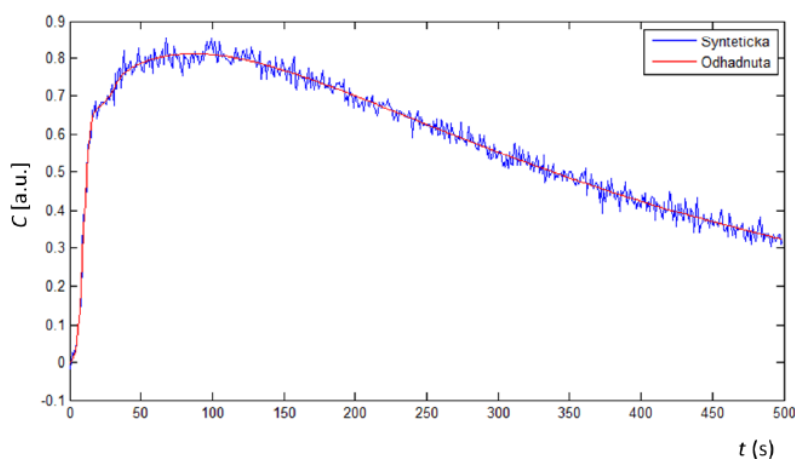
Obr. 28 – Křivka koncentrace kontrastní látky [16]

Tyto křivky jsou různé pro různé tkáně a jsou pro ně typické, viz Obr. 29.



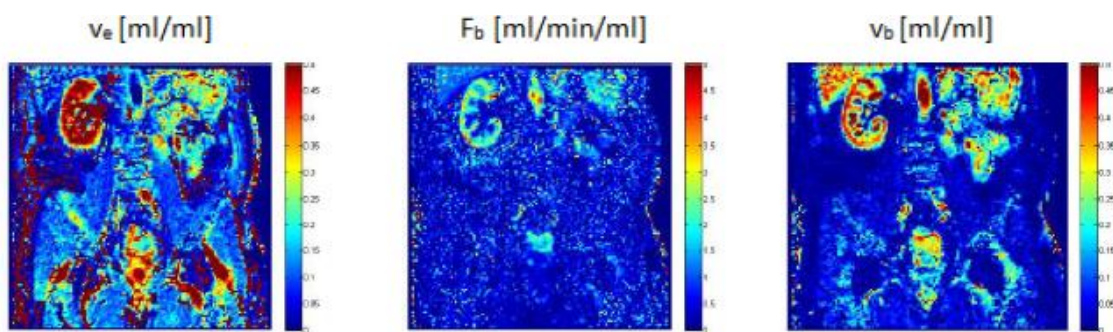
Obr. 29 – Typické křivky pro danou tkáň [16]

Nyní je několik možností jak určit z takových křivek perfuzní parametry. Prostým pohledem na křivku lze určit čas, kdy je křivka maximální, jak rychle se koncentrace vyplavuje (sklon křivky), atd. To jsou tzv. kvalitativní, nebo semikvantitativní parametry a nejsou příliš robustní vůči opakovatelnosti měření. V této práci se parametry určí kvantitativní analýzou, která je lépe reprodukovatelná a poskytuje kvantitativní hodnoty perfuzních parametrů, tedy pomocí matematické optimalizace se měřená křivka proloží modelem, viz Obr. 30 a dále v kapitole 1.3.3.



Obr. 30 – Aproximace měřené křivky modelem [16]

Parametry modelu pak určují již vlastní perfuzní parametry. Složitost modelu určuje počet perfuzních parametrů. Pokud se provede odhad parametrů pro každou křivku ve všech pixelech obrazu, pak lze stanovit výsledné mapy perfuzních parametrů, které ilustruje Obr. 31 pro objem krve (v_b), objem mimo krev a buňky (v_e) a průtok krve (F_b). [17]



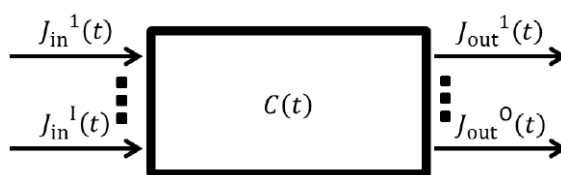
Obr. 31 – Mapy perfuzních parametrů [16]

1.3.2 Kontrastní látka

Naprostá většina kontrastních látek používaných v klinické praxi je na bázi gadolinia, díky tomu dochází ke zkrácení relaxačních časů T1 a T2 a systém NMR tak může zobrazovat oproti difuznímu NMR distribuci kontrastní látky v těle. Vázané gadolinium ve sloučeninách těchto látek není toxické pro organismus. Dle velikosti molekul se takové kontrastní látky dělí na ty, které pronikají mimo cévy a ty, které v nich zůstávají, od toho se odvíjí možnost stanovení perfuzních parametrů, a tedy volba modelu. Mezi typické kontrastní látky patří Magnevist, Gadovist, Omniscan, MultiHance, atd. V posledních letech se ukazuje, že u některých kontrastních látek dochází k uvolnění gadolinia z vazby (případ lineární vazby, kde není gadolinium vázáno tak pevně) a jeho uložení, nevyplavení, z organismu. Jedná se např. o nejběžněji používané látky Magnevist, jejichž použití bylo pozastaveno, dokud se neprokáže, jaké účinky tím nastávají. [17]

1.3.3 Farmakokinetický model

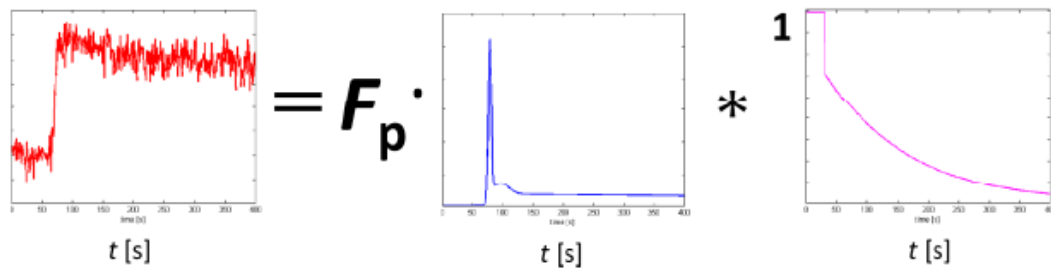
Farmakologický model je popis reality pomocí matematiky. Odvození modelu začíná z obecné představy na Obr. 32, kde tkáň, ve které se vyskytuje kontrastní látka o molární koncentraci $C(t)$, mol/ml, má arteriální vstupy, toky $J_{in}(t)$ a venózní výstupy $J_{out}(t)$. Jde o objemově normované parametry vyjadřující počet molekul prošlých skrz vstup/výstup za čas.



Obr. 32 – Obecný model tkáně [16]

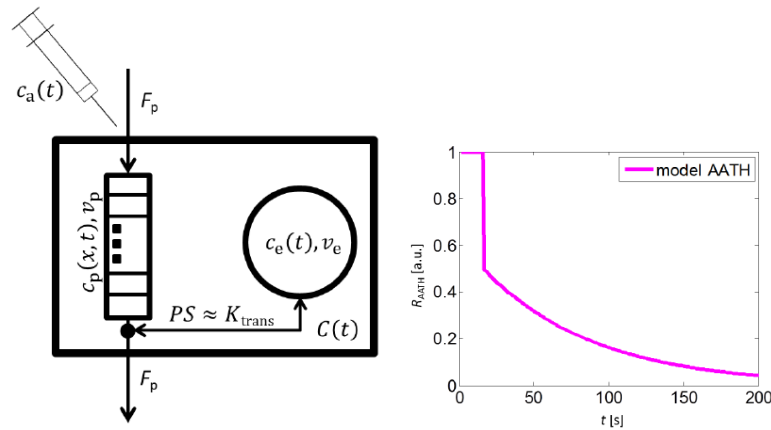
Nyní se odvozuje pomocí integrálních a diferenciálních rovnic (v rovnicích se vyskytují derivace, tedy změny pro téměř nulový čas, přesahuje zaměření a úroveň práce) tento model a výsledná rovnice modelu popisující kinetiku šíření kontrastní látky, Obr. 33.

$$C(t) = F_p \cdot (c_a * R)(t)$$



Obr. 33 – Model aproximace měřené koncentrace [16]

Zde $C(t)$ je měřená koncentrace v obraze, F_p je průtok („rychlostní konstanta“, ml/min/ml, jde o podíl toku $J(t)$ a koncentrace $C(t)$), $c_a(t)$ je měřená či matematicky odhadnutá koncentrace kontrastní látky z vyživující arterie, $R(t)$ je pak model tkáně, jehož parametry jsou hledané perfuzní parametry (jde o frakci kontrastní látky zůstávající ve tkáni, pokud by na vstup tkáně byla přivedena kontrastní látka jako časově nekonečně krátký impulz. Poslední parametr, znaménko „*“ značí tzv. konvoluci, což je matematická funkce, která znamená specifické násobení obou křivek (jedna se časově otočí a poté se s časem pronásobují obě křivky). Výsledkem pravé části rovnice je pak stejná křivka jako v části levé (mimo šum), viz Obr. 30. Nejcitlivějším elementem ovlivňujícím přesnost modelu je pak křivka $c_a(t)$, tedy arteriální vstup. Ta se často stanovuje měřením z nějaké větší tepny, ale tím, že je daleko od zkoumané oblasti zájmu, nepostihne různé efekty, které tvar křivky změní na cestě ke tkáni. Proto se tato křivka může i matematicky odhadovat a modelů pro popis tvaru křivky je, stejně jako modelů pro popis $R(t)$, mnoho. Zde následuje konkrétní popis modelů křivek z Obr. 33, které se použily v této práci. Předpoklad je model tkáně a měření křivky $c_a(t)$ dle Obr. 34 vlevo.



Obr. 34 – Model tkáně použitý v praktické části [16]

Tento model, popsáný v [18], upřesňuje obecný model popsáný v Obr. 32, rozlišuje oblast koncentrace kontrastní látky v cévách (C_p) a v extravaskulárním prostoru (mimo buňky), $C_e(t)$. Cévy jsou popsány jako set paralelních trubic o objemu v_p . Extravaskulární extracelulární prostor je považován za stejnoměrně rozmíchané množství kontrastní látky o objemu v_e . Přechod kontrastní látky mezi cévami a tkání je realizován rychlostní konstantou PS . Na vstup přivedeme kontrastní látku ($C_a(t)$, signál z artérie před zkoumanou tkání) a tato kontrastní látka se bude pohybovat průtokem F_b měřeným intravaskulárním prostorem. Střední doba průchodu kontrastní látky měřeny kapilárami je pak parametr T_c („mean transit time“). Růžová křivka na Obr. 34 vpravo pak znázorňuje $R(t)$, tedy jak by vypadal časový průběh odpovědi tohoto modelu tkáně, kdyby byla na vstup přivedena $C_a(t)$ za čas limitně se blížícímu nule. Parametry této růžové křivky popisují výše zmíněné perfuzní parametry, tedy objem kapilár (v_p , ml/ml), objem mimo kapiláry (v_e , ml/ml), průtok krve (F_b , ml/min/ml), úroveň vyplavování (děravosti) cév (PS , ml/min/ml) a střední dobu průchodu kontrastní látky kapilárami (T_c , min).

Parametry modelu $R(t)$ se nachází tak, aby po konvoluci s křivkou $C_a(t)$ přesně kopírovaly měřenou křivku $C(t)$. To se děje tzv. dekonvolucí, tedy optimalizací, kdy se v iteračním postupu hledá minimum kvadrátů rozdílů mezi měřenou křivkou a modelem. Zkrátka se v aktuálním kroku odhadu (minimalizace) vezmou nějaké parametry modelu, vytvoří se modelová křivka $C_m(t)$, ta se odečte od měřené křivky $C(t)$ a rozdíl se umocní. Výsledné číslo je hodnota která se má v dalších krocích (jiné, lepší hodnoty parametrů $R(t)$), vytvoří se jiná $C_m(t)$, provede se rozdíl s $C(t)$ a umocní se) zmenšovat až se bude blížit nule, tedy přesně kopírovat měřenou křivku $C(t)$. [17]

1.3.4 Klinické použití

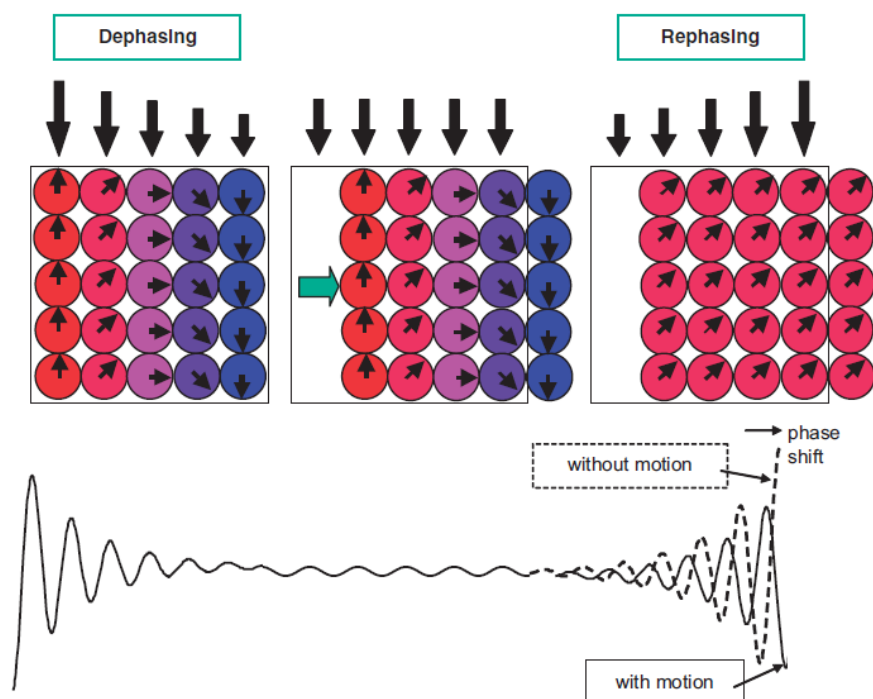
Hlavní oblastí použití perfuzního zobrazování v NMR onkologie, kde pro mozek se používají metody DSC [19] a ostatní tkáně DCE [20], dále se využívá pro hodnocení akutní mozkové mrtvice [21] nebo diagnózy cirhózy jater [22]. V neposlední řadě jde také o oblast kardiologie [23]. Výhoda perfuzního měření je rychlost. Doba měření perfuze obvykle trvá okolo 10 minut. Nevýhoda je nutnost použití k.l.

1.4 Perfuzo-difuzní zobrazování v NMR

V klinické praxi při zobrazovacích modalitách (nejen NMR) je hledán vždy kompromis mezi kvalitou výsledku, dobou měření, zátěží pro pacienta a finanční zátěží. Proto je velmi žádoucí, pokud se dá pomocí jedné akviziční metody získat více parametrů, zkrátit čas měření, apod. V této kapitole jde o případ, kdy se pomocí jedné akvizice stanoví jak parametry difuze, tak parametry perfuze. Ač nebude stanoveno tolik perfuzních parametrů, jako v případě čistě perfuzního zobrazování metodou DCE popsaného v předešlých kapitolách, pro určité oblasti použití to může stačit. Další výhodou je fakt, že není potřeba použít kontrastní látku.

1.4.1 Základní princip

Princip zobrazení vychází z difuzního zobrazování pomocí NMR (kapitola 1.2, pohyb molekul vody) a pouze jej rozšiřuje o část perfuze, nyní ale bude v měřených signálech vystupovat pouze perfuze v mikrokapilárách, nikoli mimo ně, jako to bylo u perfuzního zobrazování metodou DCE. Vše popsané výše v kapitolách o difuzním zobrazování zůstává v platnosti a k jevu popsanému v části difuze pomocí Obr. 19 se nyní pouze přidá jev perfuze, viz Obr. 35. Oba jevy (Obr. 19 a Obr. 35) tak nyní budou analyzovány současně. Této metodě se říká „Intra Voxel Incoherent Motion“, IVIM, která byla poprvé popsána zde [24].



Obr. 35 – Perfuze v metodě IVIM [4]

Jak ukazuje obrázek, vlivem perfuze nedojde ke znovu zřazování (difuzní gradienty) precesujících elementárních objemů, tedy výsledné měřené signály budou mít posunutou fázi a v součtu s ostatními signály mimo oblast perfuze sníží signál. Navíc označené objemy (z výběru řezu a oslovené RF pulzem) vlivem perfuze odtečou pryč a přitečou nové, které nebyly rozfázovány, a proto jim zřazování nevrátí fázi zpět, což také vede ke ztrátě signálu.

1.4.2 Matematický model metody IVIM

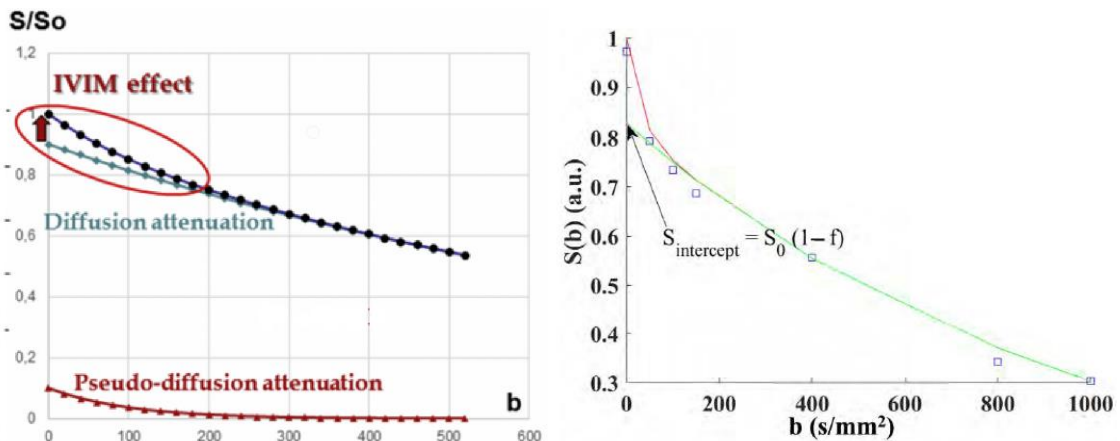
Matematický model se od modelu difuze popsaného v kapitole 1.2.2 liší použitím dvou exponenciál, místo jedné:

$$S = S_0 f e^{-bD^*} + S_0 (1 - f) e^{-bD},$$

kde S je měřená signálová intenzita pixelu v obraze, S_0 je stejně jako v případě difuzního zobrazování signálová intenzita v obraze bez použití difuzních gradientů, D je difuzní konstanta stejná jako v difuzním zobrazování, D^* je nová, tzv. pseudodifuzní konstanta ovlivněná mikrocirkulací v kapilárách a f je tzv. „toková frakce krve“, z anglického *flowing blood fraction* [24], která popisuje perfuzi.

Reálné měření je pak téměř shodné jako v případě difuzního zobrazování, tedy měří se pro několik b -hodnot (zde je vhodnější použít více b -hodnot, aby se mohly dvě

exponenciály lépe měřenými daty proložit) a pro nulovou b-hodnotu bez difuzních gradientů. Naměřená data a proložení dvojitou exponenciálou pak ilustruje Obr. 36 vlevo.



Obr. 36 – Model IVIM [24] [25]

Na obrázku v levé části jsou černými body znázorněny měřené hodnoty, černá linka je pak proložení dvojitou exponenciálou. Ta se skládá z difuzní exponenciály (zelená) popsané v dřívějších kapitolách a perfuzní exponenciály (červená). Stanovení parametru f pak ilustruje pravá část obrázku, kde f je rozdíl mezi S_0 a teoretickou $S_{\text{intercept}}$, tedy S_0 , pokud by byl pouze jev difuze. Zde dle obrázku by f bylo cca 20%. Tedy toková frakce krve by byla 20% měřeného objemu. Hodnoty parametru f pro různé tkáně udává následující obrázek tabulkou v levo, kde f je popsáno jako PF (perfusion fraction). Vpravo je pak na tomto obrázku mapa parametru f pro řez lidskou tkání.

Organ	PF (%)	PF ($\times 100\%$)
Cardiac ¹	8 – 31	
Pancreatic ¹	24 – 55	
Kidney ¹	8 – 37	
Placenta ¹	25 – 56	
G&W matter ^{1,2}	0.2 – 14	
Breast ¹	5.3 – 8.9	

Obr. 37 – Hodnoty tokové frakce krve ve tkáních [25]

1.4.3 Klinické použití

Metoda IVIM se používá převážně v neurologii [24], patofyziologii malých mozkových cév [24] a dále pro zobrazování tkání celého těla v souvislosti s onkologií [24].

2 CÍLE PRÁCE

V teoretické části práce byl popsán jev nukleární magnetické rezonance a teorie tvorby obrazu při akvizici dat. Ze získaných obrazů různými akvizičními metodami se pak různými metodami zpracování těchto obrazů stanovují parametry související s oblastí použití v klinické praxi. Protože zadání práce požaduje popsat architekturu mikrocév, byly v teoretické části dále popsány metody získání obrazů a zpracování obrazů právě těch odvětví, které úzce souvisí s charakterizací funkce tkáně na mikroskopické úrovni – tedy perfuzí a difuzí (a jejich kombinace). Tyto metody mají nejbližší k tomu, aby mohly popsat architekturu (orientaci) mikrocév. Ani perfuzní ani difuzní (ani žádné jiné bez invazivního zásahu) zobrazovací metody se však k tomuto účelu zatím nepoužívají (výjimku tvoří nedávné dvě vědecké publikace s náznaky takového účelu, které ukazují, že vědecká obec se o tuto problematiku začíná zajímat [26] [27]), přesto, že znalost orientace mikrocév je v mnoha klinických oborech žádoucí (reakce nádorů na léčbu, léčba prokrvení při/po cévní mozkové příhodě, různé choroby jako Alzheimerova choroba, atd.). Proto by další výsledný parametr, který by definoval, zda jsou ve zkoumané oblasti mikrokapiláry orientovány souhlasně, či nesouhlasně, a hlavně jakým směrem, obohatil možnosti diagnostiky a léčby v klinické oblasti.

Hlavní cíl práce je nalezení parametru či parametrů, pomocí kterých by byla neinvazivně popsána směrovost (orientace, architektura) mikrocév ve zkoumané oblasti zájmu a ověřit jejich použití.

Vedlejší cíle práce, neméně podstatné pro splnění zadání, které pomohou naplnit hlavní cíl práce, zahrnují návrh a realizaci modelu (fantomu) tkáně s definovanou a popsanou orientací mikrocév, výběr vhodných metod zobrazování NMR, které mají potenciál zobrazit tuto směrovost, provést měření pomocí systému NMR na tomto vytvořeném fantomu a získaná naměřená data zpracovat tak, aby výsledné parametry potvrdily orientaci (směrovost) mikrokapilár ve fantomu. V případě splnění výsledných cílů pak navrženou metodu akvizice a zpracování ilustrovat na reálných datech, tzv. in vivo, na živém, konkrétně na zvířeti, potkanovi. Tím bude splněn také hlavní cíl práce a nalezena neinvazivní metoda umožňující zobrazit architekturu mikrocév ve tkáni.

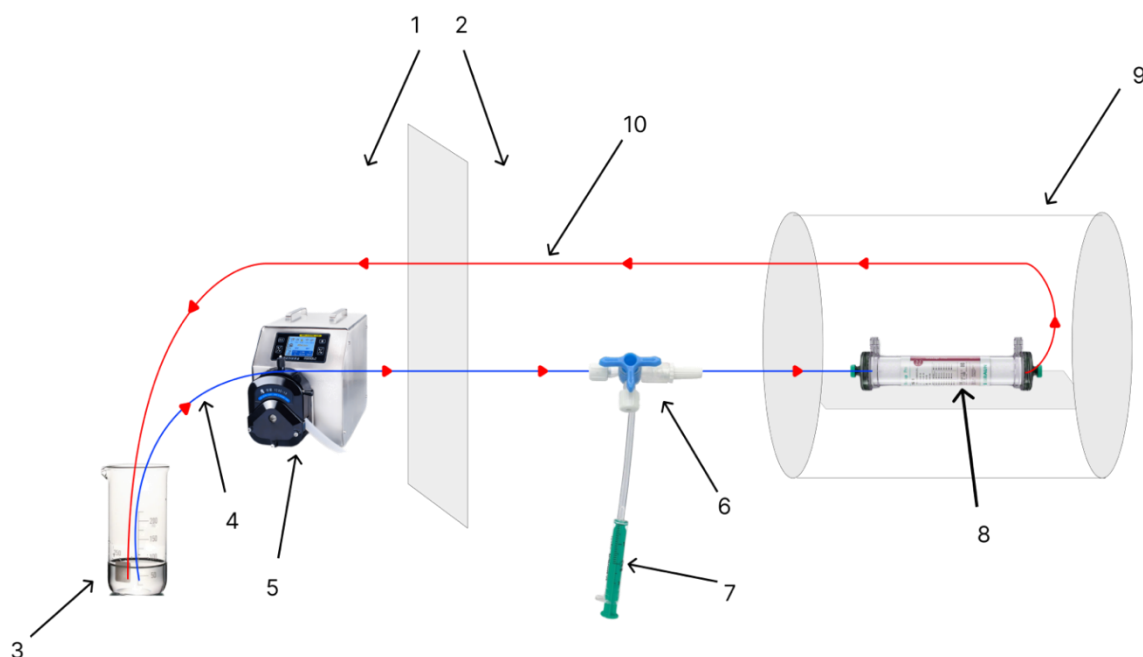
3 PRAKTICKÁ ČÁST

Veškerá praktická část práce se odehrávala na půdě Ústavu přístrojové techniky Akademie věd České republiky (ÚPT AVČR), na oddělení Magnetické rezonance, kde toto oddělení je vybaveno preklinickým systémem NMR BioSpec od německé firmy Bruker. Supravodivý magnet má magnetickou indukci o velikosti 9,4T a lze, díky průměru „tunelu“ dovnitř vložit a měřit nejen neživé vzorky, rostliny, ale také malá zvířata, jako je myš, potkan a králík. Fotografie tohoto systému 9,4T je na Obr. 7.

Pro splnění cílů práce je nutné navrhnout a vytvořit neživý fantom, na kterém bude možné reprodukovatelně, díky jeho jasně popsáním vlastnostem, měřit a vyhodnocovat data. Zároveň by takový fantom měl z hlediska zaměření práce splňovat definovanou směrovost „mikrocév“ a měl by se blížit svými parametry reálné živé tkáni.

3.1 Návrh a realizace fantomu

V průběhu řešení práce bylo autorem navrženo a realizováno několik verzí fantomu, které byly postupně vylepšovány až do definitivní podoby hotového prototypu. Obecné schéma zapojení fantomu ukazuje Obr. 38.



Obr. 38 – Schéma zapojení fantomu

Fantom se rozkládá v místnosti ovladovny magnetu (1) a v místnosti s vlastním magnetem (2). V místnosti ovladovny je pak kádinka s vodou (3) a peristaltická pumpa

(5). Ve druhé místnosti (2) se nachází trojcestný ventil (6) s možností, dle potřeby, vpravit do systému kontrastní látku namíchanou ve stříkačce (7). Uvnitř magnetu (9) je pak položen dialyzační filtr (8). Všechny prvky jsou propojené mezi sebou dlouhou hadičkou, znázorněnou v obrázku modrou čarou (4, přítok do dialyzačního filtru) a červenou čarou (10, odtok z dialyzačního filtru).

Celý systém je zavodněný a voda je uvnitř systému poháněna od peristaltické pumpy přes trojcestný ventil do magnetu, kde teče dialyzačním filtrem a z něj se pak vrací zpět do nádoby se zásobou vody. Směr toku v obrázku znázorňují červené šipky. Voda v hadičkách reprezentuje velkou tepnu (dle nastavení na peristaltické pumpě je možné měnit velikost průtoku) a dialyzační filtr pak představuje tkáň. Je zřejmé, že hadičky by mohly být kratší, vzhledem k tomu, že pumpa je zařízení elektrické, nesmí být v blízkosti magnetu, a proto byla umístěna do druhé místnosti.

Dialyzační filtr je vhodným připodobněním k živé tkáni. Jde o filtr, který se využívá při dialýze ledvin k čištění krve. Jeho výhodou pro účely této práce je fakt, že sestává z velkého množství jedním směrem orientovaných velmi tenkých mikrotrubiček (mikrokapilár), kudy při dialýze proudí nevyčištěná krev a tyto trubičky jsou propustné („dírkované“), aby mohlo docházet k očišťování krve od nežádoucích sloučenin. To je ideální připodobnění k živé tkáni. Trubičky představují mikrocévy, které jsou ve tkáni propustné pro látkovou výměnu mezi mikrocévním a mimocévním prostorem, viz Obr. 25. Zároveň jsou trubičky orientovány jednosměrně v dialyzačním filtru, tedy architekturu mikrocév definuje směr sumy těchto trubiček. Detail použitého dialyzačního filtru (firma B-Braun, typ DiaCap Pro 16L) ukazuje Obr. 39 nahoře, uprostřed vlevo pak řez filtrem, kde jsou vidět mikrohadičky, uprostřed vpravo změřené a vypočítané parametry dialyzačního filtru podstatné k řešení této práce a dole pak hmotnost (gramy) filtru před (vlevo) a po (vpravo) zavodnění.

V průběhu návrhu fantomu lze ilustrovat další verze fantomů, se kterými byly prováděny pokusy, ale neosvědčily se. Obr. 40 ukazuje jeden typ takového fantomu, který nebylo možné dokonale zavodnit. Jde o malou verzi dialyzačního filtru (původní filtr má délku cca 40 cm, tento má délku 5 cm) vytvořeného v prostorách ÚPT AVČR.



Charakteristika fantomu	
počet vláken:	10000
vnitřní průměr vlákna [um]:	200
vnitřní průměr fantomu [cm]:	4
protékaná plocha [cm2]:	3,141592654
plocha fantomu [cm2]:	12,56637061
objem uvnitř hadiček v celém filtru [ml]:	100
objem celého filtru [ml]:	300



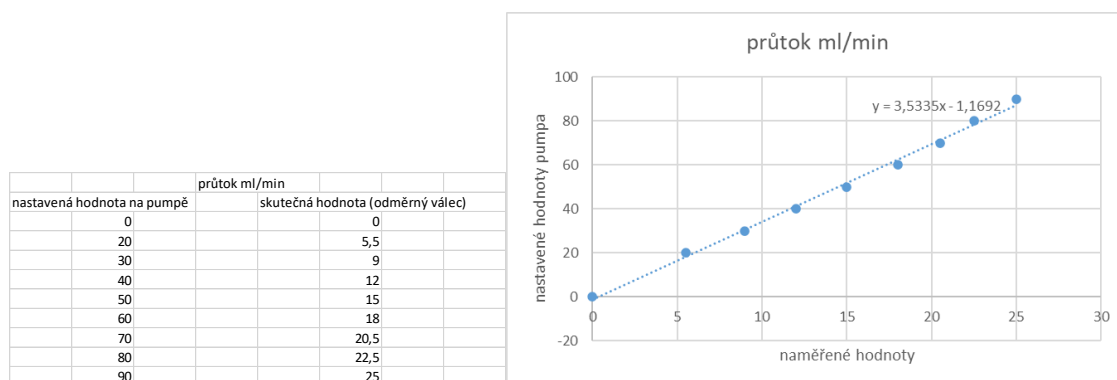
Obr. 39 – Dialyzační filtr použitý při měření a jeho parametry



Obr. 40 – Jiná verze filtru

Po zavodnění celého systému z Obr. 38 byla nejprve stanovena skutečná hodnota průtoku při zapnuté peristaltické pumpě. Skutečná hodnota průtoku byla jiná, než jakou ukazoval displej na peristaltické pumpě, protože na konstrukci fantomu byly použity z důvodu velké délky hadiček jiné hadičky s jiným průměrem a tuhostí, než cejchované a náležící

k pumpě. Pokus zjištění správné hodnoty průtoku byl proveden tak, že na pumpě se nastavoval průtok a výpustní hadička systému byla na dobu jedné minuty vložena do odměrného válce. Po jedné minutě se pro dané nastavení průtoku na pumpě zjistil objem vody v odměrném válci a tím byla zjištěna skutečná hodnota průtoku za minutu. Závislost skutečného průtoku a průtoku, který zobrazovala pumpa je lineární a ukazuje ji Obr. 41.



Obr. 41 – Zjištění korekčního faktoru průtoku

Výsledkem z proložení naměřených dat lineární funkcí lze z definice této lineární funkce zjistit korekční faktor (zjištěná hodnota je 3,5, viz obrázek), kterým je potřeba podělit nastavenou hodnotu z displeje peristaltické pumpy, aby byl stanoven skutečný průtok systémem.

3.2 Návrh metodiky zjištění architektury cév

Před vlastním měřením na vytvořeném fantomu byla stanovena metodika určení směrovosti mikrohadiček (mikrokapilár) ve fantomu. Bylo zvoleno, že směrovost se určí perfuzo-difuzním zobrazováním a perfuzním zobrazováním a zpracováním dat. Každá z těchto metod bude schopna samostatně určit směrovost mikrokapilár.

3.2.1 Perfuzo-difuzní metodika

Kapitoly 1.2 a 1.4 (včetně podkapitol) v teoretické části práce vysvětlují difuzní a perfuzo-difuzní zobrazování pomocí NMR. Na Obr. 36 je pak zřejmé, že pokud je přítomna perfuze, křivka proložení naměřených hodnot (dvojitá exponenciála) tuto perfuzi zohlední ve svém parametru f (toková frakce krve). Je zřejmé, že pokud by perfuze nebyla přítomna, bude $f=0$ a naměřená data by stačilo proložit jednoduchou exponenciálou, tedy čistou difuzí. Pokud bude perfuze (průtok) růst, bude parametr f růst také. Pozornost nyní směřuje k Obr. 35, kde je znázorněn směr průtoku a difuzní

gradients. Z obrázku je zřejmé, že pokud perfuze má souhlasný směr, jako mají difuzní gradienty (rozfázování a zřázování), pak bude mít největší vliv na úbytek měřeného signálu. Vlivem perfuze se opětovným zřázovacím gradientem nedotočí fáze do stavu před rozfázováním. Pokud by ale perfuze byla kolmá na směr gradientu, tedy zelená šipka v Obr. 35 by byla o 90° otočena, po aplikaci rozfázovacího gradientu by se nijak fáze neposunuly vlivem perfuze a po opětovném zřázování by se zpět dostaly na stejné fáze jako na začátku a úbytek signálu by byl minimální. Z toho je zřejmé, že pokud bude průtok směřovat v daném směru, např. v ose z (osa magnetu podél směru B_0) a NMR bude měřit stejný směr (aplikovány difuzní gradienty v ose z), pak bude největší úbytek signálu. Pokud ale systém NMR použije gradienty v ose x či y, kolmé na směr průtoku, pak bude vliv perfuze nejmenší. Pokud se tedy bude měření opakovat pro různé směry (např. 30 směrů měření, 30 směrů difuzních gradientů), bude se prokládat třicet dvojitéch exponenciál naměřenými daty a pouze jediná z nich bude mít nejvyšší hodnotu parametru f – ta v ose z.

Pro účely této práce tedy metodika bude následující.

1. Na nastaveném průtoku provést běžnou akviziční perfuzo-difuzometrickou metodou měření na fantomu pro větší počet difuzních směrů.
2. Získaná data proložit exponenciálními modely pro každý směr.
3. Zjistit, zda pro gradientní směr shodný se směrem perfuze, vyšla hodnota parametru f nejvyšší.
4. Provést celý tento postup s vypnutou peristaltickou pumpou a porovnat hodnoty parametru f .

3.2.2 Perfuzní metodika

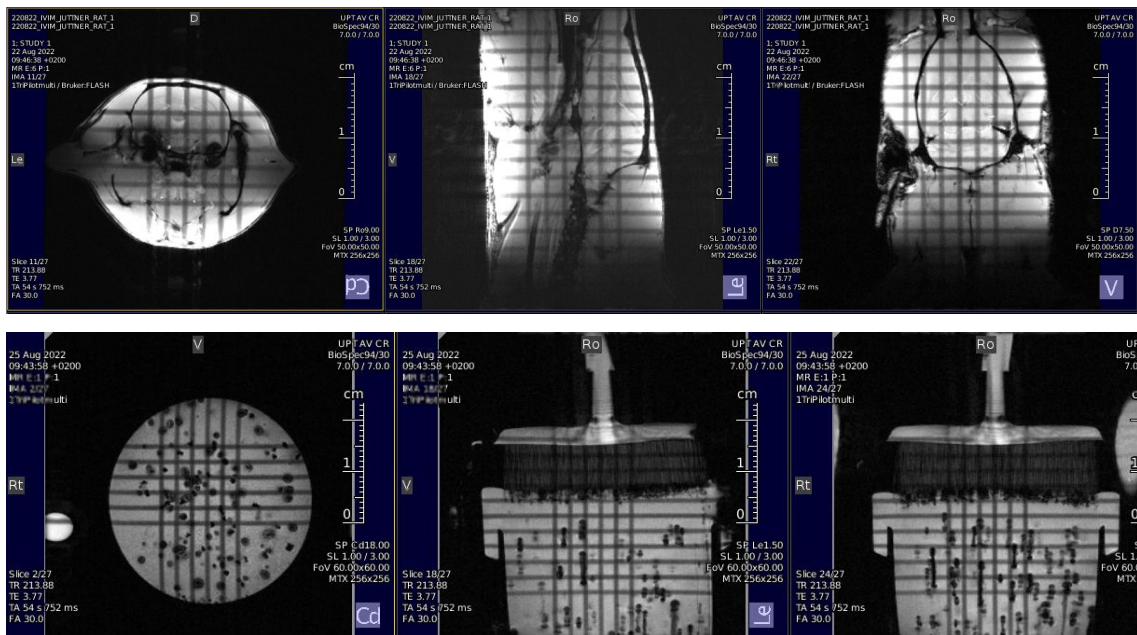
Kapitola 1.3 včetně podkapitol popisuje princip perfuzního zobrazování a perfuzní analýzy. Z těchto kapitol plyne, že, kromě jiných, existuje perfuzní parametr, střední doba průchodu kontrastní látky cévním řečištěm (T_c), popisující čas, za který kontrastní látka (tzn. krev, protože kontrastní látka putuje zároveň s krví) projde zkoumanou oblastí v cévě. Tento parametr je nesměrový. Pokud by se ale podařilo jej vyhodnotit směrově, pak by mohl popsat, který směr perfuze (pokud nějaký, ale u fantomu je jasně převládající směr vláken) převládá. Z hlediska akvizice dat by se nic neměnilo, při zpracování by se měla oblast zájmu definovat v různých směrech a různých velikostech a výsledné hodnoty parametru T_c by měly korelovat se směrovostí vláken ve fantomu. Body metodiky lze stanovit:

1. Běžnou perfuzometrickou akviziční sekvencí naměřit perfuzní data na fantomu.
2. Definovat oblasti zájmu v různém směru a v různých velikostech.
3. Provést perfuzní analýzu (proložit data modelem), viz kapitola 1.3.1 a 1.3.3 a stanovit hodnoty parametru T_c .
4. Vyhodnotit parametr T_c a diskutovat, zda směr udávaný parametrem T_c koreluje se směrem vláken ve fantomu.

3.3 Měření na systému NMR

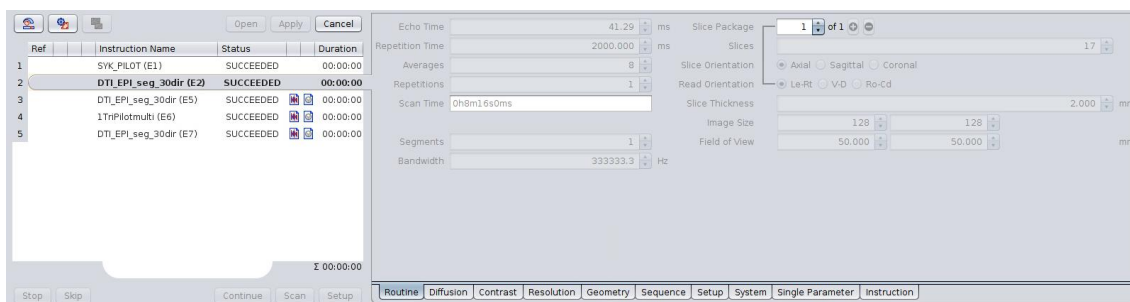
Tato kapitola popisuje autorem zrealizovaná měření systémem NMR Bruker BioSpin 9,4 T na autorem vytvořeném fantomu. Celkem proběhlo deset celodenních měření (deset hodin měření v daný den), kdy jejich výstupem je osm naměřených souborů dat na fantomu, jeden naměřený soubor dat na ex vivo (vypreparovaném vzorku) páteři potkana a jeden soubor dat měřených na in vivo (živém) potkanovi (hlava). Naměřeným souborem je myšleno mnoho akvizičních sekvencí a získaných obrazů jak pro perfuzi, tak pro difuzi, tak pro perfuzo-difuzi, kdy se odlazovalo nastavení fantomu a kdy se měřily různé průtoky, různé pozice fantomu v magnetu, různé difuzní směry, různé koncentrace kontrastní látky při perfuzometrii a různé další parametry. V rámci měření se dodržují pravidla a předpisy stejně jako postup při měření. Běžný měřicí den vypadal následovně. Vstup do místnosti magnetu, resp. ovladovny, je povolen v určené obuvi, s nasazeným ochranným pláštěm a po použití dezinfekce. Přísná opatření jsou kvůli zvířatům, která jsou na pracovišti a je cílem je nekontaminovat viry a bakteriemi. Následně byl nachystán fantom. Příprava fantomu sestává z napojení na systém hadiček, zavedení průtoku pomocí peristaltické pumpy a zavodnění fantomu. Důkladné zavodnění fantomu je pro měření klíčové, protože vzduchové kapsle, které mohou mezi vlákny vznikat, ovlivňují výsledek měření zkreslením dat. Malé vzduchové bubliny mohou být odstraněny při vyhodnocení tak, že se vyberou ROI mimo tyto oblasti. Následně byl fantom umístěn a upevněn na lůžko. Pomocí laseru byla nastavená pozice fantomu tak, aby měřená oblast ležela uprostřed magnetu, kde je magnetické pole nejvíce homogenní. Se správně nastavenou geometrií je fantom zasunut do magnetu. Vzhledem k velikosti dialyzačního filtru a tunelu magnetu, byla pro vysílání RF pulzů a příjem signálů použita objemová cívka, která vysílání i příjem obsluhuje. Dále byla zapnuta elektronika magnetu, která leží mimo místnost hlavního magnetu. Pokud elektronika nehlásí chybu, byl zapnut výkonný počítač určen pouze k měření dat, na kterém byl spuštěn program od dodavatele MR (konkrétně

Bruker, program ParaVision 7.0). Po zapnutí programu je vytvořen nový pacient. „Pacient“ je označen pro celodenní měření. Deset dnů měření tedy znamená deset různých pacientů. V rámci jednoho pacienta je dále založena studie, kterých může být více pro jednoho pacienta. Po založení nového pacienta a studie se otevře rozhraní systému, ve kterém se zadávají zvolené akviziční sekvence a mění se jejich parametry a zároveň se zde prohlíží naměřené obrazy. Před nastavením vlastních akvizičních sekvencí pro zjištění směrovosti mikrocév ve fantomu je potřeba přizpůsobit systém NMR konkrétnímu vzorku ležícímu uvnitř magnetu. Obsluha (autor) například manuálně přizpůsoboval rezistenci vysílacích a přijímacích cívek pro co nejvyšší úroveň přijatého signálu. Nyní začíná první měření dat, kdy první je vždy pilotní měření, viz Obr. 42 (jde o autorem naměřená data hlavy potkana nahoře a dialyzačního filtru dole).



Obr. 42 – Pilotní měření

Pilotní měření má hned několik funkcí. Kontrola dobrého umístění objektu v magnetu (proto je u pilotního měřenív obrazech mřížka), nastavení geometrie a velikosti zorného pole (FOV), a před akvizicí pilotních obrazů jsou provedeny další základní nastavení magnetu vzhledem k vzorku uvnitř (který narušuje homogenitu pole a magnet toto elektronicky musí korigovat v základním nastavení). Pokud je na pilotním měření vše v pořádku, přechází se k měření dat, tedy výběr akviziční sekvence a nastavení parametrů této sekvence, jak ilustruje následující obrázek.

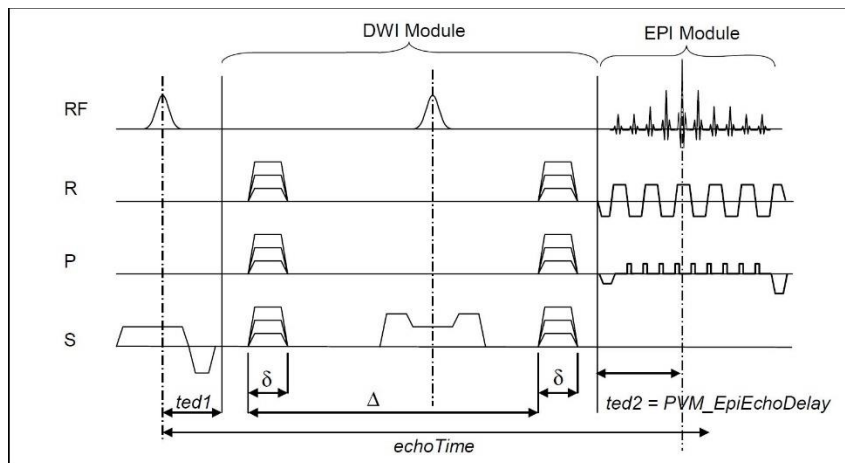


Obr. 43 – Nastavení parametrů akviziční sekvence

Měření na potkanu, tzv. *in vivo*, probíhalo s odlišnostmi. Zvíře bylo přineseno laborantkou ze zvířetníku, který je součástí budovy, na operační sál. Zde bylo zvíře vloženo do červené plastové krabičky a uspáno směsí kyslíku (1 l/min) a uspávacího plynu isofluranu. Po uspání bylo přeneseno na lůžko magnetu, kde mu byl opět dodáván uspávací plyn, a to po celou dobu měření (cca 2 hodiny). Než se zvíře umístilo dovnitř magnetu, musely mu být nasazeny monitory životních funkcí, v tomto případě polštářek pro dechovou funkci a rektální sonda pro kontrolu teploty zvířete. Lůžko bylo vyhřívané, v umělém spánku zvíře není schopno termoregulace a proto se musí nuceně zahřívát. Dále byla použita povrchová přijímací cívka pro lepší signál příjmu, neboť zvíře je menší než fantom. Hodnoty dechová křivky, teploty a množství uspávacího plynu se sledovaly při měření na monitoru v ovladovně a v případě potřeby upravovaly (vyškoleným pracovníkem, nikoli autorem práce).

3.3.1 Perfuzně-difuzní měření IVIM

Měření touto metodou (například desetkrát během jednoho dne) postupně iterovalo k odladěné akviziční sekvenci. Vždy byly použity difuzní gradienty na zakódování difuze, vlastní náběr dat pak byl řešen nejprve dvěma typy akvizičních sekvencí, a to spinovým echem a metodou Echo Planar Imaging, tzv. EPI. První jmenovaná byla zavrhnuta, ač poskytuje lepší obrazy (ostré a geometricky nepoznamenané), čas měření pro účely práce (tedy mnoho směrů difuzních gradientů), je neúnosný (v řádech jednotek až desítek hodin). Proto byla zvolena rychlá sekvence EPI, která díky zkrácení doby akvizice dostala na únosnou míru, avšak za podmínky horší geometrické věrnosti (je velmi náchylná na nehomogenitu magnetického pole). Graf akviziční sekvence EPI včetně difuzního modulu ukazuje následující obrázek. EPI se vyznačuje tzv. „echo vláčkem“, kde se za cca jeden echo čas TE může naplnit celý k-prostor (tedy neplní se v každém TR jeden řádek jako je tomu na Obr. 12, ale k-prostor se plní jakoby „lezl had“). To je důvodem rychlosti akvizice.

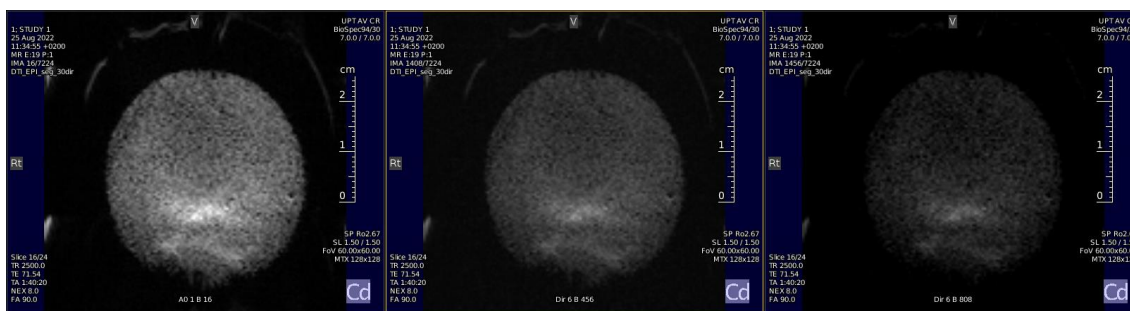


Obr. 44 – EPI difuzní akvizice

Po odladění sekvence byly při měřeních na fantomu používány následující parametry této sekvence s difuzním modulem:

Parametr	Hodnota
Repetiční čas TR	2,5 s
Echo čas TE	70 ms
Počet průměrů	8
Počet segmentů	1
Počet řezů	24
Orientace	axiální
Tloušťka řezu	1,5 mm
Matice obrazu	128x128 px
FOV, velikost obrazu	6x6 cm
Směr plnění k-prostoru	Levo-pravý
Mezery mezi řezy	0 mm
Urychlovací metody plnění k-prostoru	Žádné, plněn celý k-prostor
Difuzní modul	SE – spinové echo
Doba trvání difuzního gradientu, δ	4 ms
Mezera mezi difuzními gradienty, Δ	11 ms
Počet směrů při měření krátkou verzí	6 (dva v ose z)
Počet směrů při měření dlouhou verzí	30 (jeden v ose z – 5.směr)
B0 obraz bez difuze	1
b-hodnoty krátké verze	4 (0-800 s/mm ²)
b-hodnoty dlouhé verze	10 (0-800 s/mm ²)
Doba měření krátké verze	8 min
Doba měření dlouhé verze	1 hod 40 min

Počet průměrů je opakované měření téhož a obraz je tvořen průměrnou hodnotou, počet segmentů je počet na kolik TR časů je nasbírán celý k-prostor. Ilustrace naměřených obrazů takovou sekvencí pro jeden řez a několik b-hodnot ukazuje Obr. 45. Při 24 řezech, 30 směrech a 10 b-hodnotách tvoří jeden set měření 7200 obrázků.



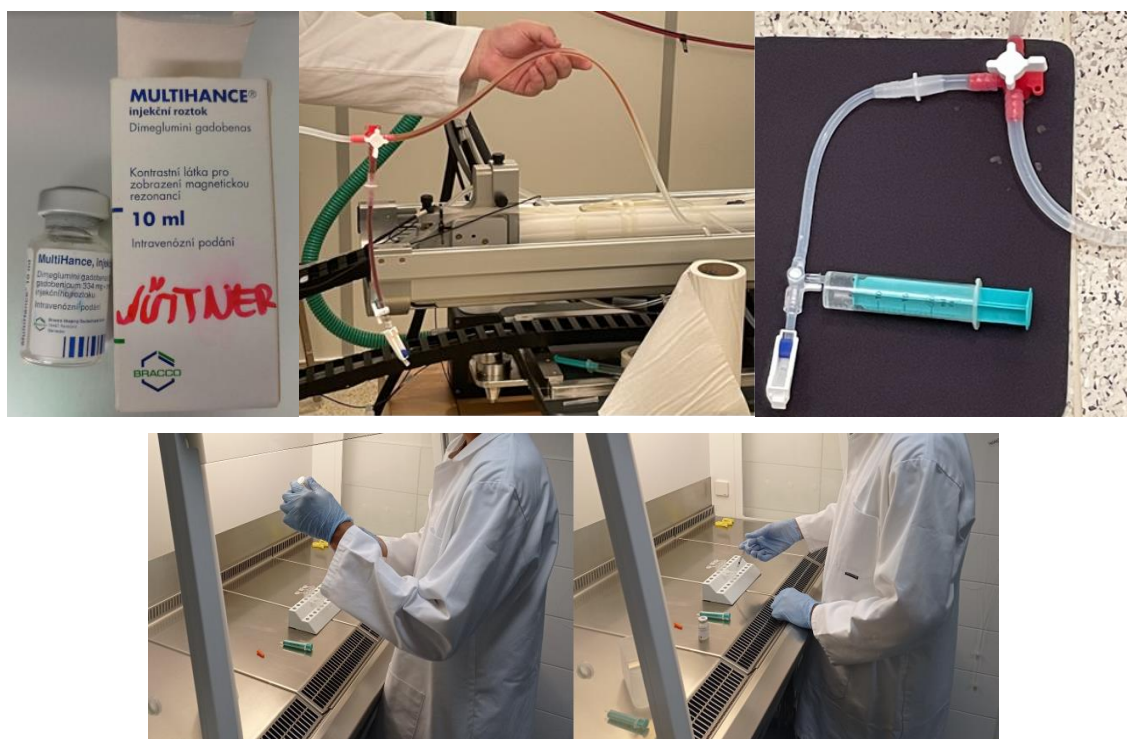
Obr. 45 – Naměřená data pro různé b-hodnoty

Pro měření na zvířeti byla sekvence upravena tak, aby zvíře nebylo v anestezii déle, než je nutné a celkově při měření zvířete bylo nutno provést další odlišnosti. Byl zkrácen TR, použito poloviční nabírání k-prostoru, tím se zkrátí TE. Zároveň bylo použito 6 difuzních směrů, tedy ušetřený čas se investoval do vyššího počtu b-hodnot (25) tak, aby bylo více bodů na měřené křivce, při měření in vivo je to výhodou. Dále muselo být k potlačení pohybových artefaktů použito tzv. triggerování. Jde o metodu, kdy pouze v určitou fázi dechového cyklu zvířete je povoleno měřit data. Tím se omezí pohybové artefakty v naměřených datech.

3.3.2 Měření perfuze s kontrastní látkou

Stejně jako pro měření difuze i zde byla sekvence upravována do odladěné podoby, stejně jako byla měněna koncentrace kontrastní látky a velikost dávky aplikovaná do dialyzačního filtru. Použitá kontrastní látka, Multihance, viz Obr. 46 nahoře vlevo, ve svém příbalovém letáku uvádí aplikovat 0,2 ml kontrastní látky na 1 kg hmotnosti. V případě potkana, který váží 500 g by byla aplikována dávka kontrastní látky 0,1 ml. Aplikace do zvířete se děje tak, že se vloží kanyla do ocasní žíly a kontrastní látka se v daný čas z tenké 100 ul stříkačky vyprázdní do kanyly a do těla zvířete během několika sekund. Běžně se poté do těla zvířete ihned za kontrastní látkou vpraví 0,2 ml fyziologického roztoku. V případě zrealizovaného fantomu, kde objem a hmotnost dialyzačního filtru, viz Obr. 39, lze považovat za téměř odpovídající potkanovi, nelze aplikovat stejný objem kontrastní látky s fyziologickým roztokem (u fantomu s vodou), který se vpravuje do zvířete. To je dáno faktem, že pro účely práce byly měněny průtoky systémem i mimo fyziologické hodnoty zvířat a konstrukce fantomu je odlišná v tom, že propojovací hadičky, které propojují filtr, pumpu a stříkačku s kontrastní látkou, mají větší vnitřní průměr a od místa aplikace kontrastní látky k místu vstupu do dialyzačního filtru je potřeba více objemu dávky. Navíc, pokud by byla vpravena do takového systému malá dávka neředěné kontrastní látky a za ní velký objem vody pro co nejbližší posun

čela kontrastní látky v hadičce k filtru, tlakem tak velkého objemu vody by kontrastní látka mohla zůstat u stěn hadiček a nepohnout se a do filtru se téměř nedostat. Bylo jasné, že oproti aplikaci do zvířete bude kontrastní látka smíchána s určitým objemem vody a taková směs bude vpravena stříkačkou do systému. Pro odladění velikosti dávky a průtoku systémem byla použita nejprve barviva (jodová tinktura, inkoust) místo kontrastní látky pro jasnou pozorovatelnost šíření (kontrastní látka je čirá a drahá) a zjištění za jak dlouho a při jakém objemu nejlépe objem barviva (poté kontrastní látky) doputuje do dialyzačního filtru. Ilustraci takových pokusů ukazuje Obr. 46 nahoře uprostřed a vpravo nahoře pak ukázkou, jak je přes trojcestný ventil ze stříkačky vpravována kontrastní látka do systému. Dolní část obrázku pak ukazuje autorem připravovanou dávku kontrastní látky v digestoři („flowbox“).



Obr. 46 – Kontrastní látka

Zkoumání pak vedlo k úpravě fantomu tak, že bylo posunuto místo vpravení kontrastní látky blíže k dialyzačnímu filtru a byly použity tenčí hadičky. Koncentrace kontrastní látky a objem vpravený do systému v první verzi (tlustší hadičky, aplikace dál od filtru) byla 0,5 ml kontrastní látky a 19,5 ml vody a 0,25 ml kontrastní látky a 19,75 ml vody. Po úpravě systému pak byla dávka 0,075 ml kontrastní látky a 3 ml vody. Je zřejmé, že v porovnání se zvířetem (výrobce doporučena dávka 0,1 ml kontrastní látky na 500 g a 0,2 ml fyziologického roztoku) je množství kontrastní látky již shodné (fantom dle parametrů z Obr. 39 má hmotnost menší než 500 g a obsahuje jen 300 g „živé“

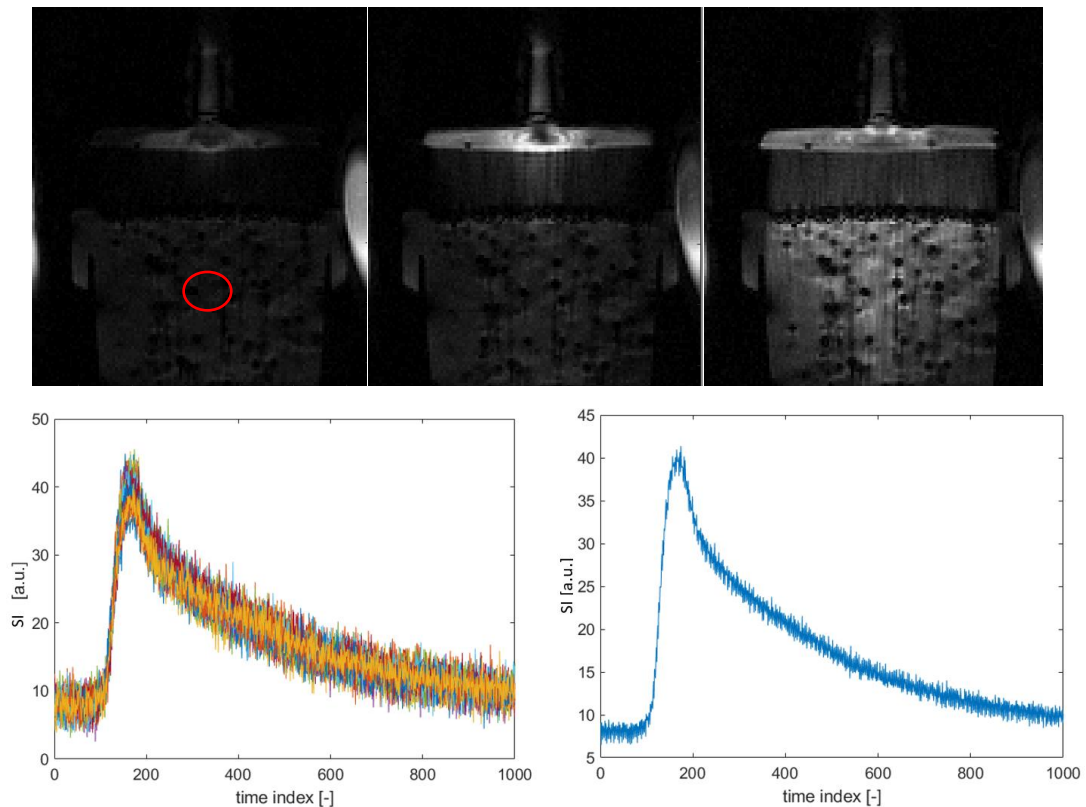
neplastové“ tekutiny). Oproti zvířeti je ale kvůli vzdálenosti od filtru a průměru hadiček mezi filtrem a místem vpravení kontrastní látky použit větší objem vody. To znamená, že koncentrace kontrastní látky je nižší. To se ve výsledku projeví na větším zašumění výsledných obrazů (sníží se tzv. poměr signál/šum). To však nevádí, následná perfuzní analýza, která je popsána v teoretické části (prokládání naměřených křivek modelem) a která je odlišná od metod, pro něž výrobce kontrastní látky stanovuje hodnoty dávky, tento vyšší šum v datech dokáže odfiltrovat. Problém by naopak byl při vysoké dávce kontrastní látky, kdy se systém saturuje a již nebude platit lineární převod relaxačního času T1 na koncentraci kontrastní látky (viz kapitola 1.3.1).

Akviziční sekvence byla použita stejná, jako popisuje teoretická kapitola 1.3.1 (Fast Low Angle Shot, jde o gradientní echo sekvenci) s těmito parametry:

Parametr	Hodnota
Repetiční čas TR	10,396 ms
Echo čas TE	1,334 ms
Počet průměrů	1
Počet repetic (dle měření)	500-1000
Počet řezů	3
Orientace	koronální
Tloušťka řezu	1,5 mm
Matice obrazu	128x128 px
FOV, velikost obrazu	6x6 cm
Směr plnění k-prostoru	Předo-zadní
Mezery mezi řezy	0 mm
Urychlovací metody plnění k-prostoru	Částečné plnění bez doplnění nulami
Sklápěcí úhel (RF pulz)	25°
Doba měření (dle repetice)	11 min 5 s – 22 min 10 s

Počet repetice zde znamená, kolik obrazů stejné scény bude dynamická sekvence obsahovat (viz kapitola teorie), tedy 500 – 1000 obrazů v jednom řezu, při třech řezech jde až o 3000 obrázků jednoho měření. To, jak rychle se nasnímají data pro jeden obrázek, tedy jaká je vzorkovací perioda T_s , která je nutná pro správné provedení perfuzní analýzy, je určeno dobou, za jakou se naplní celý k-prostor, tedy jako TR vynásobené počtem pixelů ve fázovém směru, zde tedy 10,396 ms násobeno 128 pixely. Součin, vzorkovací perioda dat, je tedy 1,33 s. Tuto hodnotu lze stanovit i tak, že se čas měření vydělí počtem repetice. Pro perfuzní zobrazování byl pro účely vyhodnocení použit koronální řez. Ukázka naměřených dat pak v Obr. 47 v různých fázích příchodu kontrastní látky s vyznačenou zájmovou oblastí (horní řada zleva před příchodem kontrastní látky, uprostřed při příchodu a vpravo po určité době, spodní řada vlevo naměřené 1D křivky signálové

intenzity pro jednotlivé pixely ze zájmové oblasti v obraze před převodem na koncentraci kontrastní látky, vpravo jejich průměrná hodnota z oblasti zájmu (viz teoretická kapitola práce vysvětlující princip perfuzního zobrazování). Osa x, označená jako časový index, značí signál z oblasti zájmu pro daný obraz v datasetu, tedy měřený v daném čase po aplikaci kontrastní látky. Osa x lze jednoduše převést přímo na čas (s) tak, že se vynásobí vzorkovací periodou 1,33s.



Obr. 47 – Ilustrace naměřených perfuzních dat

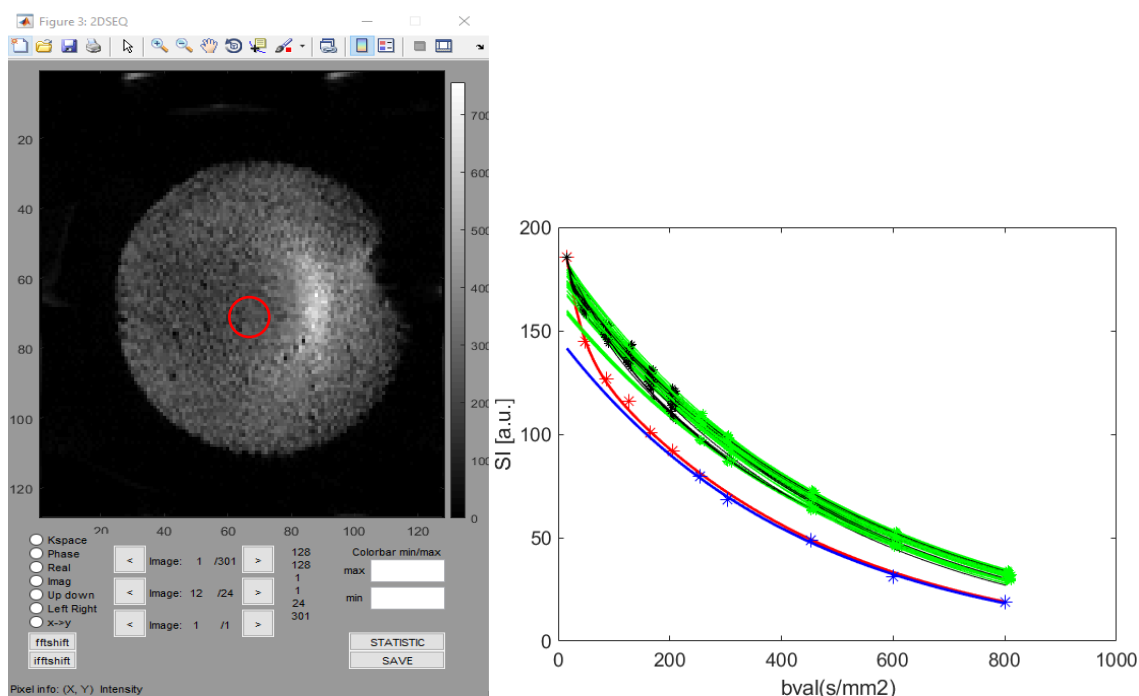
Součástí akvizice perfuze je také několik měření před podáním kontrastní látky, tzv. prekontrastní měření, zde šlo vždy o 6 krátkých měření. Jde o stejnou akvizici jako u kontrastního měření, pouze počet repetic je značně kratší (např. 10) a pro každé měření se mění čas TR. Tato měření jsou potřeba pro správný převod na koncentraci kontrastní látky, kdy pomocí nich lze odhadovat konstantu k_p ze vzorečku kapitoly 1.3.1 (je to hodnota při FA 90° a TR a TE rovno nule) tak, aby neznámá byla jen T1, který je přímo úměrný C(t).

3.4 Zpracování naměřených dat

Tato kapitola popisuje postup zpracování od naměřených dat až po stanovení výsledných parametrů definujících směrovost ve tkáni (směrovost vláken dialyzačního filtru).

3.4.1 Zpracování perfuzně-difuzních dat

Veškerá naměřená perfuzně-difuzní data všech měření a všech pacientů byla zpracována dodaným softwarovým nástrojem vytvořeným na půdě ÚPT AVČR. Tento program je vytvořený v programovém prostředí jazyka MATLAB. Na začátku programu uživatel musí přepsat cestu ke složce s naměřenými daty a po spuštění programu se zobrazí naměřená data v okně dle Obr. 48 vlevo.



Obr. 48 – Zobrazení dat v softwaru

Zde jsou v levé části možnosti přepnutí obrazu do k-prostoru, otočení obrazu atd. Ve střední části je volba procházení mezi obrazy, tedy mezi směry a b-hodnotami a mezi řezy (10 b-hodnot násobeno 30 směry je 300 a jeden obraz bez difuzních gradientů, takto pro 24 řezů). Dále doprava je zobrazena informace o rozměru obrazu (128x128 pixelů a opět počtu řezů a b-hodnot a směrů). Vpravo je možno měnit kontrast obrazu zadáním maximální a minimální hodnoty jasu v obraze. Vpravo dole pak je možno data zpracovat (proložit křivkami exponenciál) anebo uložit obrázek z formátu stroje Bruker do klasického formátu *.png.

Pokud se tedy zakreslí oblast zájmu (v obrázku ilustračně červeně a program vždy spočte průměrnou hodnotu signálové intenzity v zadané oblasti se kterou dále pracuje) a zmáčkne se tlačítko pro zpracování dat (Statistic), pak program proloží exponenciálami všechna naměřená data (pro všechny b-hodnoty a směry) pro všechny řezy a zobrazí vždy samotný graf pro každý řez (zde 24 grafů), kde v každém grafu budou body znázorněna

naměřená data a křivkami znázorněné proložené exponenciály, tak, jak ilustruje pro jeden řez Obr. 48 vpravo. Barevně je pak odlišena křivka pro směr z, aby byla usnadněna interpretace výsledků. Naměřená data se vždy prokládají jednoduchou exponenciálou (modrá pro směr z a zelená pro ostatní směry) a dvojitou exponenciálou (červená pro směr z a černá pro ostatní směry). Jednoduchá exponenciála využívá pouze měřené body od b-hodnoty vyšší než 250 s/mm^2 (hodnota pro lidská data definována v [24]), kde lze předpokládat pouze efekt difuze, druhá exponenciála se přidává pro b-hodnoty menší než tento práh, zde se projevuje difuze. Naměřená data (body) jsou tedy barevně odlišeny od tohoto prahu. Pokud se bude uvažovat pouze jeden směr (např. modrá a červená křivka), pak je zobrazení stejné, jako v teoretické části na Obr. 36.

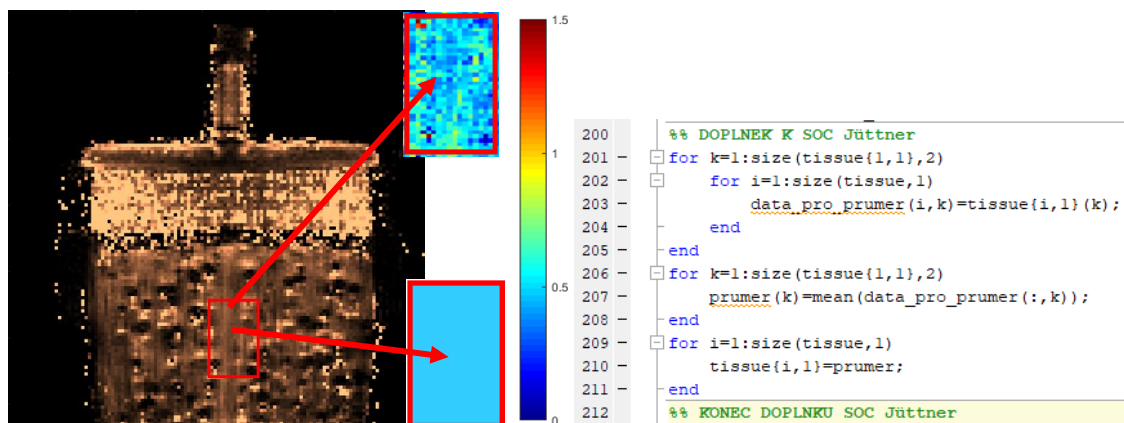
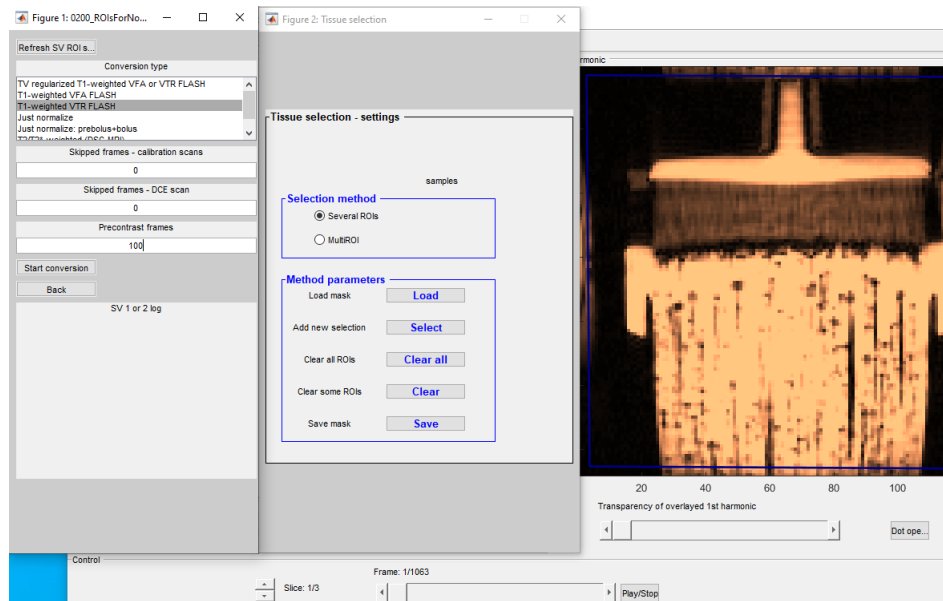
Autor práce pro lepší přehlednost zobrazení výsledků některé sady dat (např. tam kde nebyl průtok a data se prokládala jednoduchou exponenciálou, viz kapitola výsledků práce níže) převedl do logaritmického zobrazení (ekvivalent k Obr. 22 vpravo) tím, že data zobrazil v logaritmické ose y a ve spolupráci s vedoucím práce se podílel na vytvoření kódu na proložení zlogaritmovaných dat lineární funkcí.

3.4.2 Zpracování kontrastní perfuze

Obdobně jako v případě zpracování perfuzně-difuzních dat i v tomto případě byl použit program vytvořený na ÚPT AVČR (tzv. software PerfLab, který jako celek obsahuje desetitisíce řádků kódu), který provádí perfusní analýzu krok po kroku ve shodě s teoretickou kapitolou 1.3 (registrace dat, převod na koncentraci kontrastní látky, výběr signálu z arterie $Ca(t)$, výběr modelu $R(t)$ a výběr oblasti, kde se budou zpracovávat měřené křivky koncentrace kontrastní látky. Tyto křivky se následně v dalším programu aproximují zvoleným modelem dle rovnice v Obr. 33 a výsledné perfusní parametry se uloží do souboru.

Program v jednotlivých krocích ukazuje tři „okna“, jak ukazuje Obr. 49 nahoře. V prvním okně je daný krok perfusní analýzy, kde se zadávají parametry pro provedení daného kroku, druhé okno slouží k výběru oblastí zájmu, které se vybírají v okně třetím, prohlížeče dat. Při postupném procházení jednotlivých kroků perfusní analýzy (v souladu s teoretickou kapitolou práce) je potřeba v programu zadávat či vybírat různé hodnoty a různé varianty, jako je například vzorkovací perioda T_s , označení prekontrastních a kontrastních sekvencí (složky na disku), zadat počet obrazů před příchodem kontrastní látky, vybrat oblast zájmu, vybrat metodu převodu signálové intenzity na koncentraci kontrastní látky (tento krok ilustruje Obr. 49 nahoře), označit

oblast pro převod (v obrázku modrá oblast kolem fantomu), vybrat oblast (nebo načíst uloženou křivku) pro signál z artérie $Ca(t)$ a vybrat model pro aproximaci měřených křivek (ten z Obr. 34). Obr. 49 dole vlevo dále ukazuje, jak vypadají data po převodu na koncentraci kontrastní látky a je zde zakreslena také oblast pro spočítání perfuzních parametrů. V uprostřed dolní části obrázku je pak ilustrace jednoho perfuzního parametru (T_c) spočteného v ROI a to pixel po pixelu a nebo jako průměrná hodnota v celé oblasti v každém pixelu koncentračních křivek.



Obr. 49 – Program perfuzní analýzy PerfLab

Pro účely práce bylo nutno, aby program PerfLab zpracovával právě průměrné hodnoty v oblasti zájmu. To musel autor do programu implementovat, neboť PerfLab touto možností ve výběru oblastí zájmu nedisponoval. Tento krok zahrnuje orientaci v prostředí Matlab, pochopení kódu programu PerfLab v části výběru oblastí zájmu a úpravu tohoto kódu pro to, aby se parametry nepočítaly v každém pixelu, ale v průměrné hodnotě ze

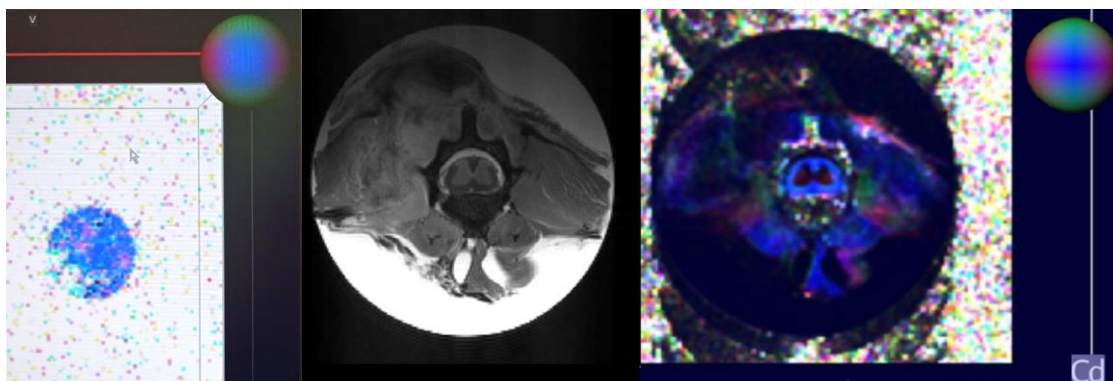
zadaných oblastí. Ukázka doplnění v kódu skriptu „NonBlindDec_ref_inclScaling.m“ je v Obr. 49 dole vpravo.

3.5 Výsledky měření a jejich diskuze

Následující text ukazuje, popisuje a diskutuje spočtené parametry z naměřených dat využitím softwarových nástrojů z kapitoly 3.4. Je zřejmé, že nelze vzhledem k rozsahu práce ukázat výsledky všech naměřených dat, proto jsou voleny typické ilustrační výsledky demonstrující hlavní výsledky práce.

3.5.1 Výsledky a diskuze perfuzně-difuzních měření

Měření na zavodněném fantomu nejprve bez průtoku (bez perfuzních jevů) ukázalo, že uvnitř dialyzačního filtru je anizotropní difuze, tak jak ilustruje Obr. 50 vlevo. Obrázek je z hlediska své obsažené informace stejný jako Obr.24 vlevo v teoretické části – ukazuje směr difuze pomocí barvy.

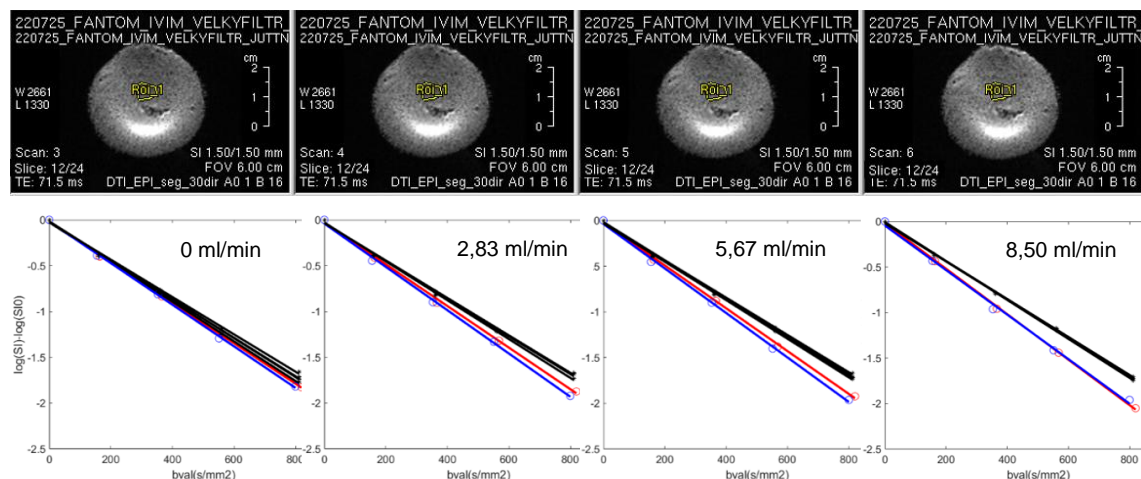


Obr. 50 – difuzní anizotropie

Modrá barva na axiálním řezu fantomu značí difuzi ve směru osy z (orientace vláken). Směr značí legenda v podobě barevného kruhu v tomto obrázku nad měřeným fantomem (červená barva by znamenala směr v ose x, zelená pak osu y). Obrázek řezu fantomem s modrou barvou značící směr z, podél vláken, byl vytvořen přímo v PC u magnetu v softwaru ParaVision 7.0 z naměřených dat dle kapitoly 3.3.1 pro 30 směrů a 10 b-hodnot. Protože nebyl v datech průtok, ale pouze difuze, mohly být naměřená data aproximována modelem difuze (tedy jednoduchou exponenciálou z kapitoly 1.2.2), kterou software u magnetu má implementováno. Tak by se ale zobrazily proložené křivky, nikoli barevná mapa. Barevnou mapu software spočítal modelem tenzoru (viz kapitola 1.2.3).

Obr. 50 uprostřed (anatomie) a vpravo (opět barevná mapa směrů difuze) dále ukazuje, pro srovnání fantomu s reálnou tkání, obdobné výsledky, kdy autor měřil potkaní páteř *ex vivo* (tedy vypreparovanou a naloženou ve formaldehydu). Páteř je přesně uprostřed obrázku. V páteři je, obdobně jako v mozku, šedá a bílá hmota tvořící míchu [28]. Právě bílá hmota je anizotropní (tvoří ji také „tenké trubičky“). Pokud polohujeme páteř v souslednosti s osou z magnetu, pak je z obrázku barevných směrů zřejmé, že bílá hmota míchy je orientována s touto osou – v obrázku modré „srdíčko“.

Tímto byla ověřena difuzní anizotropie a nyní se měřily sekvence (opět dle kapitoly 3.3.1, vzhledem k času v uvedené kratší verzi, kdy se použilo 6 směrů (dva směry byly souhlasné s osou z) a 4 b-hodnoty. Průtoky na displeji peristaltické pumpy (dle přepočtové tabulky Obr. 41 jsou průtoky v systému přibližně 3,5x nižší) byly nastaveny na hodnoty 0 ml/min, 10 ml/min (tedy 2,83 ml/min), 20 ml/min (tedy 5,67 ml/min) a 30 ml/min (8,5 ml/min). Obr. 51 nahoře pak ukazuje jeden z řezů pro všechny nastavené průtoky (směrem zleva pro rostoucí průtok) pro obrazy s b-hodnotou 0, tedy bez difuzního váhování. Zobrazeny jsou zde také oblasti zájmu, ze kterých byla data pomocí softwaru popsaného v kapitole 3.4.1 vyhodnocena. Vyhodnocení bylo zobrazeno po zlogaritmování naměřených dat (přirozený logaritmus o základu e), kdy se prokládalo lineární funkcí, viz kapitola 3.4.1. Tyto křivky proložení naměřených dat pak ukazuje stejný Obr. 51 dole, opět zleva pro vzrůstající průtoky. Odlišnými barvami (modrá a červená) je pak znázorněn dvakrát použitý směr difuze v ose z.



Obr. 51 – Zvyšující se průtok fantomem

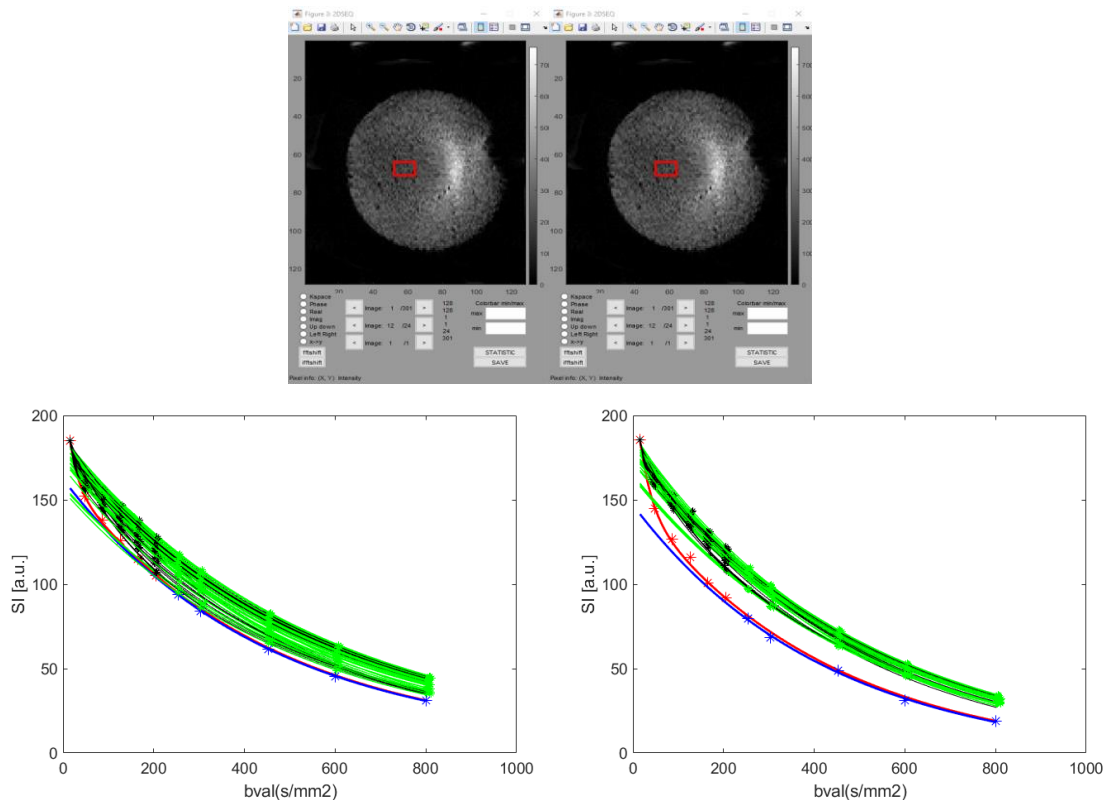
Obr. 51 jasně ukazuje, že se při rostoucím průtoku křivky při použití difuzních gradientů ve směru s vlákny fantomu čím dál více odklánějí. To je jasným důkazem efektu perfuze ve zobrazování metodou IVIM (perfuzně-difuzní zobrazování). Černé křivky, tedy směry mimo orientaci vláken fantomu, zůstávají na zvyšování perfuze

nezávislé. Bez průtoku je také vidět, že křivky ve směru podél vláken fantomu (modrá a červená) jsou oproti černým ostatním směrům nejnižší. To signalizuje efekt anizotropie difuze.

Ze znalosti parametrů fantomu (hodnoty v tabulce na Obr. 39) a parametrů akviziční sekvence lze vypočítat, jaká je teoretická hodnota rychlosti toku v dialyzačním filtru. Pokud bude uvažován nastavený průtok na peristaltické pumpě 20 ml/min, po přepočtení (křivka na Obr. 41) je 5,67 ml/min. Zároveň je z parametrů filtru známa jeho protékaná plocha (která byla spočtena ze znalosti počtu vláken, vnitřního průměru vlákna a kruhového tvaru řezu fantomem, Obr. 39 v tabulce), tedy 3,14 cm². Pokud je vydělena hodnota průtoku (5,67 ml/min) hodnotou protékané plochy (3,14 cm²), pak je stanovena rychlost toku, tedy 1,81 cm/min, tj. 0,03 cm/s. Analogicky pro ostatní měřené nastavení průtoku je rozpětí teoretických měřených rychlostí toku (v kapitole kontrastní perfuze je pak toto potvrzeno měřením) ve filtru při zapnuté pumpě od 0,015-0,045 cm/s. Krev v mikrokapilárách v lidském těle teče rychlostí 0,05 cm/s [29] a v případě malého zvířete (potkan) pak maximálně rychlostí 0,03 cm/s. Lze tedy tvrdit, že fantom s takto nastavenými průtoky odpovídá živé tkáni, protože rychlosti toku ve fantomu jsou ekvivalentní s malými kapilárami u člověka a u potkana. To znamená, že pokud je zachycen efekt perfuze (odklánějící se křivky v Obr. 51) ve směru souhlasném s orientací vláken ve filtru, dá se očekávat, že při měření zvířete by tento efekt měl být při orientované perfuzi zjistitelný.

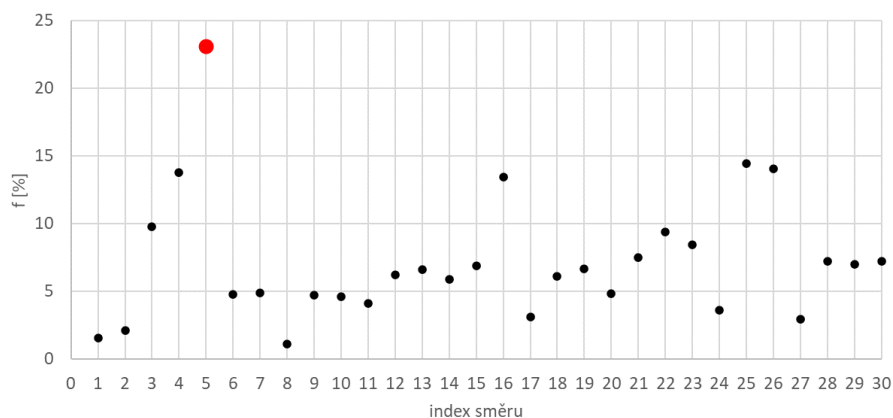
Pro kvantitativní zjištění parametru definujícího směrovost mikrocév byla na základě zjištěných poznatků naměřena delší varianta akvizice perfuzně-difuzních dat (tedy dle kapitoly 3.3.1 30 směrů a 10 b-hodnot a nyní pouze jediný směr difuzních gradientů byl ve směru vláken filtru a byl to 5. směr, který stroj proměřoval) a to pro nulový průtok a pro průtok 5,67 ml/min, odpovídajícímu rychlosti toku 0,03 cm/s. Obr. 52 ukazuje ve své horní části naměřený obraz jednoho z 24 řezů bez difuzního váhování (nulová b-hodnota) jak pro nulový průtok, tak pro průtok 8,5 ml/min s opět vyznačenou oblastí zájmu, ze které se data zpracovala. Nyní již byl aplikován model dvojité exponenciály na proložení naměřených dat a zobrazen nikoli po zlogaritmování, ale v souladu s Obr. 36 v teoretické části a s kapitolou 3.4.1 a Obr. 48 praktické části jako soubor exponenciálních křivek pro každý směr a řez, v Obr. 52 dolní část (pro přehlednost jsou zobrazeny směry pouze pro jeden řez). Zde jsou naměřená data každého směru prokládána od prahové b-hodnoty (viz kapitola 3.4.1) jednoduchou exponenciálou představující difuzi (pro směr souhlasný s vlákny filtru jde o modrou křivku, jinak křivky

zelené) a poté prokládána dvojitou exponenciálou uvažující i perfuzi pro všechny b-hodnoty (pro směr souhlasný s vlákny filtru jde o červenou křivku, jinak křivky černé).



Obr. 52 – Model IVIM na měřených datech bez a s průtokem

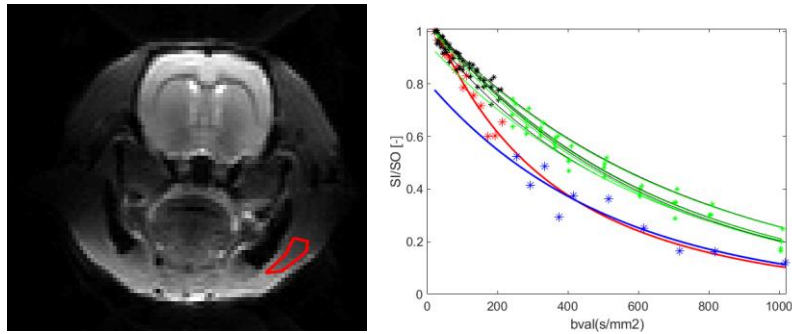
Na první pohled je patrné, že pro směr podél vláken perfuze nejvíc ovlivnila naměřená data. Ostatní směry v jiných orientacích se téměř nemění. Zároveň bez průtoku je opět vidět difuzní anizotropie (křivka ve směru vláken je těsně nejnižší). V souladu s teoretickou kapitolou 1.4.2 a textem pod Obr. 36 v této kapitole je z takto proložených dat určován parametr f , toková frakce (kdy dle teorie výše jde o hodnotu v procentech poklesu signálové intenzity pro difuzi oproti perfuzo-difuzi vše při nulové b-hodnotě, z obrázku pro modrou a červenou křivkou jde odhadem o 25 %). Následující obrázek pak ukazuje přesně spočtený parametr f pro všechny směry z Obr. 52, když je přítomna perfuze.



Obr. 53 – Odhadnutý parametr f pro všechny směry

Z grafu na Obr. 53 je vidět, že na 5. směru (stroj NMR měřil s difuzními gradienty v ose z , souhlasné s vlákny filtru, při pátém směru), odpovídajícím modré a červené exponenciále grafu Obr.52 vpravo, tedy směru souhlasném s orientací vláken, je toková frakce jasně zdaleka nejvyšší oproti ostatním směrům. Tím je nalezen kvantitativní parametr, který dokáže popsat orientaci mikrocév a tím je splněno zadání práce (níže je pak nalezen další kvantitativní parametr popisující orientaci mikrocév pro akvizici s kontrastní látkou). Hodnota parametru f pro směr podél vláken je tedy téměř 25 %. Znamená to, že frakce toku v daném řezu je 25 %, jinak řečeno jedna čtvrtina plochy tkáně v řezu jsou cévy (kapiláry). To lze porovnat s teoretickou hodnotou spočtenou z parametrů filtru (opět viz tabulka Obr. 39). Zde se uvádí, že objem uvnitř hadiček filtru je 100 ml a ze stejného obrázku z porovnání hmotností nezavodněného a zavodněného filtru vyplývá, že objem celého filtru je cca 300 ml. Poměr objemu uvnitř hadiček a objemu celku je cca 33 %, což je teoretická hodnota frakce toku. Experimentálně byla změřena hodnota podobná hodnota, téměř 25%, kdy rozdíl oproti teoretické hodnotě může být způsoben horším zavodněním fantomu v měřeném řezu, nebo výrobní odchylkou filtru.

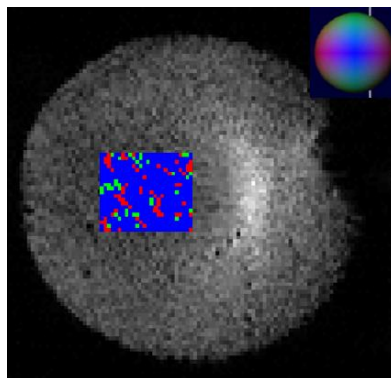
Následující obrázek pak ilustruje měření in vivo, na živém potkanovi dle předchozích kapitol. V levé části je zobrazený řez hlavou potkana, kde je označena oblast výpočtu. Jde o žvýkáci sval, který dle anatomie a polohy potkana má převažující orientaci mikrokapilár podél svalových vláken [28]. Zpracování bylo zcela stejné a křivky exponenciál (zde normovány k hodnotě signálové intenzity v b -hodnotě nula, proto na ose y je maximum hodnota 1) ilustruje pravá část tohoto obrázku.



Obr. 54 – Měřená a zpracovaná IVIM na potkanovi

Zde je obdobný efekt jako u filtru, kde se křivka směru podél mikrokapilár stejně jako u fantomu odklání od jiných směrů. Z grafu je vidět (viz teorie výše), že hodnota parametru tokové frakce f je cca 20 %. Pokud se tato hodnota srovná teoretickými hodnotami z literatury (Obr. 37), které jsou sice pro lidskou tkáň a pro jiné orgány, přesto lze konstatovat, že měřená hodnota nijak nevybočuje z rozsahu těchto hodnot teoretických (je někde uprostřed intervalu hodnot přes všechny jmenované tkáně).

V poslední části této kapitoly je pouze ilustrace, kam se budou ubírat další kroky přesahující obsah této práce ve zpracování a zobrazení směrového parametru. Pokud se nebude analyzovat vždy průměrná hodnota označené oblasti zájmu, ale každý pixel souboru dat, a nebude se analýza provádět zobrazením křivek exponenciál, ale rovnou se vybere nejvyšší hodnota tokové frakce f ve všech směrech daného řezu, pak lze zobrazit mapu směru tokové frakce f , kde by tato mapa neukazovala hodnoty tokové frakce (jako se běžně v literatuře zobrazuje, viz mapa na Obr.37), ale směr tokové frakce, tedy ekvivalent map směrů u difuze (viz Obr. 24 vlevo), avšak pro perfuzi. Obr. 55 pak z měřených dat dialyzačního filtru takovou mapu ilustruje. V Obr. 55 jsou vybrány pouze tři směry: v ose se směrem vláken (modrá) a v osách kolmých ke směru vláken (červená a zelená). Pro více vypovídající zobrazení počítanými se všemi měřenými směry by musel, podobně jako u difuze, být použit model tenzoru.

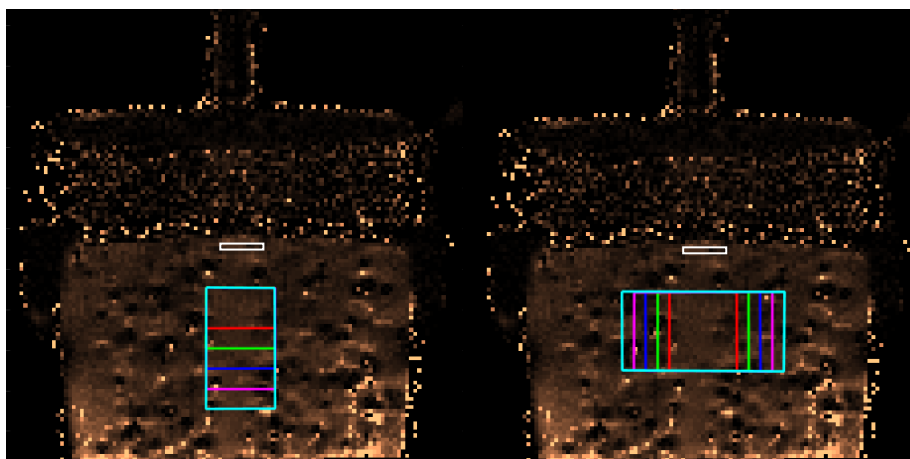


Obr. 55 – Ilustrace mapy směrovosti mikrokapilár

Z obrázku je vidět, že v některých pixelech převážil jiný směr, než je hlavní směr toku. To může být způsobeno zejména nedokonalým zavodněním dialyzačního filtru. Odtud zobrazení takových map už je pouze dalším logickým krokem spojit výsledky z jednotlivých řezů do obrazu objemu a zobrazit traktografii mikrokapilár, obdobně jako traktografii difuze, viz Obr. 24 uprostřed a vpravo. Tím bude zobrazen plnohodnotně další parametr popisující funkci tkáně.

3.5.2 Výsledky a diskuze perfuzního měření s kontrastní látkou

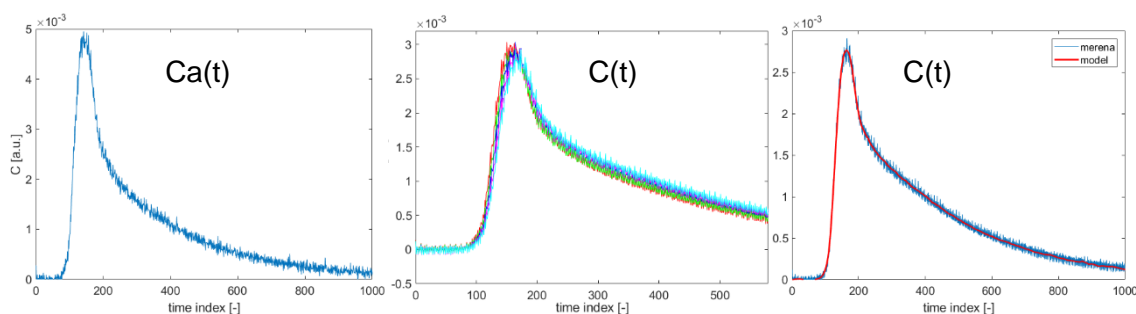
Perfuzní zobrazování s kontrastní látkou na zavodněném fantomu má smysl měřit pouze při spuštěné peristaltické pumpě, zde uvedeny výsledky při 5,67 a 8,5 ml/min, tj. při rychlostech 0,03 a 0,045 cm/s ve filtru. V souladu s kapitolou 3.4.2 byly provedeny jednotlivé kroky perfuzní analýzy, kdy v posledním kroku před aproximací měřených křivek a spočtení perfuzních parametrů a analyzováním parametru T_c byly oblasti zájmu zakreslovány dle Obr. 56.



Obr. 56 – Oblasti zájmu v perfuzní analýze

V obrázku jsou pro přehlednost zobrazeny jen některé oblasti zájmu, ve skutečnosti byly zakreslovány zvětšující se oblasti vždy o jeden pixel v obraze, bylo tedy mnohem více provedených perfuzních analýz. Bílá oblast značí měřený signál z arterie, $Ca(t)$, křivka pak na Obr. 57 vlevo (za srovnání stojí osa y těchto křivek, kdy nyní již po převedu na koncentraci kontrastní látky má zcela jinou škálu než v případě signálových intenzit uvedených v Obr. 47, tamtéž je také vysvětlena osa x, časový index a převod na časový údaj – vynásobením hodnotou T_s , 1,33 s). Barevné oblasti značí signály z tkáně, křivky ve stejných barvách jako znázorněné oblasti zájmu jsou pak na Obr. 57 uprostřed (pro odlišení křivek zobrazeno pouze do časového indexu 600) a to pro se zvětšující oblasti zájmu ve směru vláken z Obr. 56. Každá barva v Obr. 56 znamená provedení proložení

měřené křivky modelem pro tuto jednu barevnou oblast zájmu, toto proložení pro jednu z barevných oblastí ukazuje Obr. 57 vpravo, kde model, který proložil křivku oblasti tkáně (která je, jak bylo uvedeno v kapitole 3.4.2 vždy průměrná hodnota v zadané oblasti zájmu ze všech pixelů, což autor do kódu programu programoval).



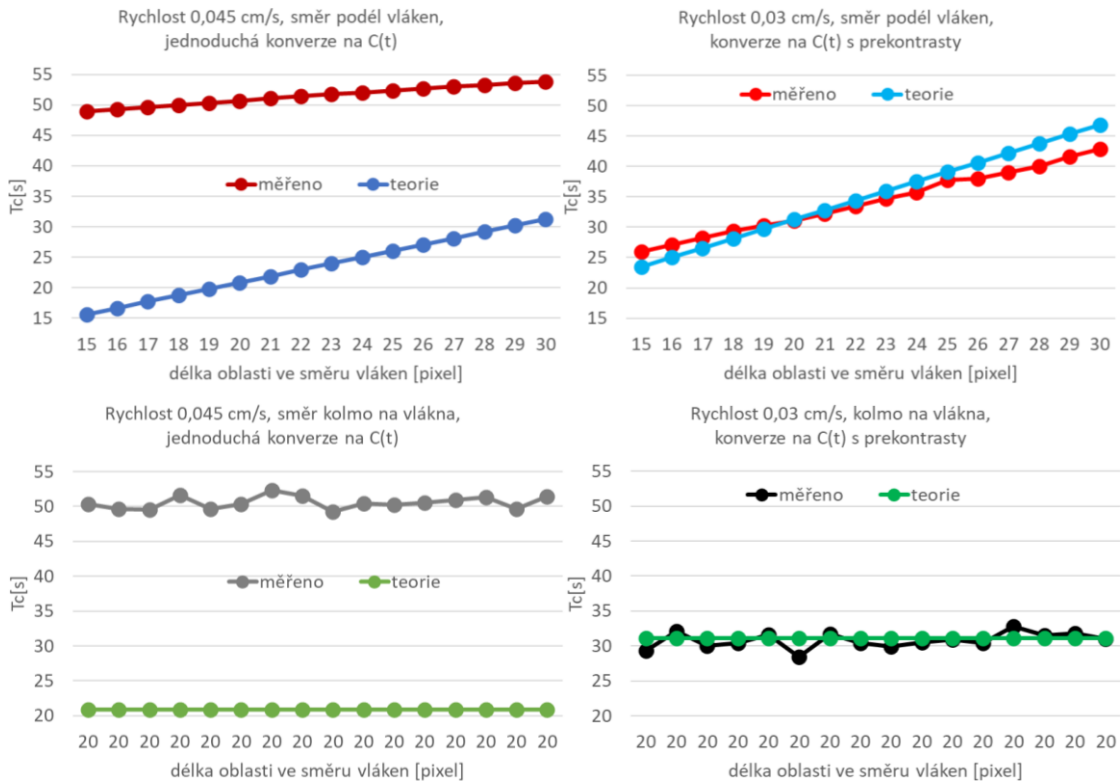
Obr. 57 – Měřené a odhadnuté křivky z oblastí zájmu

Ve výsledku, pokud bude dále uvažován pouze parametr T_c modelu, střední doba průchodu kontrastní látky oblastí zájmu, bude získána sada hodnot tohoto parametru odpovídající počtu zakreslených oblastí. Tyto oblasti byly záměrně zakreslovány jako postupně se prodlužující a ve druhém případě postupně se rozšiřující, neboť ve směru toku by měl narůstat čas střední doby průchodu kontrastní látky, T_c , se zvětšováním oblasti zájmu, ale v případě stejně dlouhé oblasti zájmu, jen se rozšiřující by měl parametr T_c zůstat neměnný na šířce oblasti.

Teoretické hodnoty parametru T_c pro zvětšování oblastí lze stanovit s využitím vypočítané teoretické rychlosti toku v kapitole 3.5.1. Pro měřené dva průtoky jde o rychlosti 0,03 a 0,045 cm/s ve filtru. Velikost matice obrázku v pixelech (128x128) a centimetrech (6x6) dané měřenou sekvencí (kapitola 3.3.2), lze vypočítat teoretický čas průchodu kontrastní látky pro různé délky oblastí zájmu tak, že se počet pixelů délky oblasti zájmu, např. 20 vydělí rozměrem délky obrazu v pixelech (128) a vynásobí rozměrem délky obrazu v cm (6). Délka oblasti zájmu tak bude 0,9375 cm. Tento údaj se vydělí rychlostí pohybu kontrastní látky ve fantomu, tedy pro rychlost 0,03 cm/s vyjde 31,25 s. To je výsledný čas, za který projde kontrastní látka vybranou oblastí zájmu. Pokud se tento výpočet provede pro všechny zadané oblasti zájmu a pro oba průtoky, pak lze spočítat všechny teoretické hodnoty parametru T_c . Tyto hodnoty ukazuje tabulka v horní části Obr. 58 (modrou pro zvětšování oblastí zájmu ve směru vláken, kde odstín modré značí měřené dva různé průtoky a zelenou barvou obdobně pro zvětšování oblastí zájmu kolmo na směr vláken). Stejně jsou pak v tabulce uvedeny hodnoty pro měřená data (červeně pro směr podél vláken, odstín červené značí jinou rychlost toku, a odstín

šedé pro kolmý směr na vlákna). Protože tabulka není příliš přehledná, Obr. 58 dále ukazuje také grafy jednotlivých vývojů parametru T_c .

délka oblasti ve směru vláken [pixel]	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
T_c teorie [s] směr podél vláken rychlost toku 0,045 cm/s	15,625	16,66667	17,70833	18,75	19,79167	20,83333	21,875	22,91667	23,95833	25	26,04167	27,08333	28,125	29,16667	30,20833	31,25
T_c teorie [s] směr podél vláken rychlost toku 0,03 cm/s	23,4375	25	26,5625	28,125	29,6875	31,25	32,8125	34,375	35,9375	37,5	39,0625	40,625	42,1875	43,75	45,3125	46,875
délka oblasti ve směru vláken [pixel]	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
T_c teorie [s] směr kolmo na vlákna rychlost toku 0,045 cm/s	20,83333	20,83333	20,83333	20,83333	20,83333	20,83333	20,83333	20,83333	20,83333	20,83333	20,83333	20,83333	20,83333	20,83333	20,83333	20,83333
T_c teorie [s] směr kolmo na vlákna rychlost toku 0,03 cm/s	31,25	31,25	31,25	31,25	31,25	31,25	31,25	31,25	31,25	31,25	31,25	31,25	31,25	31,25	31,25	31,25
délka oblasti ve směru vláken [pixel]	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
T_c měřeno [s] směr podél vláken rychlost toku 0,045 cm/s	48,9	49,25	49,57	49,96	50,27	50,68	51,08	51,41	51,73	52,06	52,4	52,72	53,05	53,27	53,58	53,83
T_c měřeno [s] směr podél vláken rychlost toku 0,03 cm/s	25,974	27,123	28,204	29,398	30,301	31,068	32,18	33,452	34,641	35,689	37,776	37,997	38,979	40,001	41,572	42,882
délka oblasti ve směru vláken [pixel]	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
T_c měřeno [s] směr kolmo na vlákna rychlost toku 0,045 cm/s	21,974	23,123	24,204	25,398	26,301	27,068	28,18	29,452	30,641	31,689	33,776	33,997	34,979	36,001	37,572	38,682
T_c měřeno [s] směr kolmo na vlákna rychlost toku 0,03 cm/s	29,346	32,1	29,981	30,4	31,602	28,454	31,721	30,45	29,89	30,523	30,95	30,421	32,78	31,5	31,78	31,02



Obr. 58 – Výsledky měření s kontrastní látkou

Grafy v levé části obrázku (rychlost toku 0,045 cm/s) splňují teoretický vývoj parametru T_c z hlediska nárůstu hodnot při prodlužování oblasti ve směru vláken a hodnoty parametru T_c při prodlužování oblasti kolmé na směr vláken (kdy po směru vláken je vždy stejná délka) zůstávají stejné. Absolutní hodnoty času průchodu kontrastní látky jsou však o cca 30 s vyšší než teoretické. To je způsobeno tím, že pro převod na koncentraci kontrastní látky se v tomto případě nepoužily prekontrastní obrazy a neodhadoval se parametr k_p (viz teorie), ale z křivek signálové intenzity se pouze normováním odstranil posun v ose y tak, aby před příchodem kontrastní látky byla hodnota nula (nulová koncentrace kontrastní látky). Výhodou tohoto postupu, který někdy používá, když nejsou přítomny prekontrastní měření, anebo se v datech objevuje příliš velký šum, je fakt, že po takovém převodu na koncentraci kontrastní látky jsou data méně zašuměna. Dalším zdrojem nepřesnosti tohoto měření je, že zde šlo o první verzi fantomu,

s hadičkami o větším průměru a kdy trojcestný ventil byl ve větší vzdálenosti od dialyzačního filtru a kdy byl do systému vpraven značně větší objem kontrastní látky – tedy při tomto pomalém průtoku systémem byla dlouhou dobu do systému stále přiváděna kontrastní látka, což se projeví na dlouhém času nárůstu do maxima perfuzní křivky a například křivka $Ca(t)$, která má symbolizovat signál z tepny a tedy rychlý příchod a rychlý výplach kontrastní látky bude časově velmi prodloužena. Právě měření či matematický odhad křivky $Ca(t)$ je největší výzvou perfuzního zobrazování s kontrastní látkou obecně.

Grafy v pravé části Obr. 58 (rychlost toku 0,03 cm/s) byly měřeny již s pozdějš, vylepšenou verzí celého fantomu, která odstranila výše uvedené nedostatky. Výsledky v grafech opět splňují trend nárůstu parametru T_c pro prodlužování oblastí ve směru vláken, a statickou hodnotu vykazuje parametr T_c při zachování stejné délky oblasti (mění se velikost oblasti kolmo na směr vláken, kde tok není). Zároveň se zde podařilo téměř přesně překrýt teoretické a měřené hodnoty. Zde totiž byl také použit převod na koncentraci kontrastní látky s využitím prekontrastních sekvencí, a to značně zpřesnilo hodnoty měřených T_c . Malá odchylka v méně strmém nárůstu měřených hodnot oproti teoretickým je pak přisuzována nepřesně stanovené křivce $Ca(t)$ (signál z bílého obdélníku Obr. 56. Vedoucí této práce dodal poté autorovi ještě druhou křivku $Ca(t)$ odhadnutou pokročilými matematickými metodami, ale ani to nepomohlo lepší shodě s hodnotami teoretickými. Přesto jsou měřené hodnoty velmi blízko hodnotám teoretickým a lze konstatovat, že takto vyhodnocený parametr T_c jasně potvrdil orientaci mikrohadiček v dialyzačním filtru tím, že jeho hodnota se měnila po směru vláken a kolmo na směr vláken nikoli.

Další kroky ve výzkumu zobrazování směrovosti mikrokapilár v perfuzním zobrazování s kontrastní látkou lze nastínit takto. Pokud se v budoucnu zautomatizuje vyhodnocování takto prodlužujících se oblastí zájmu pro více natočení (více směrů) a program perfuzní analýzy po vypočtení všech natočení a všech prodloužení automaticky vyhodnotí ten směr, kde parametr T_c vykazoval nárůst nejlépe, pak bude možno opět zobrazovat stejné mapy jako pro perfuzně-difuzní měření – mapy směrovosti mikrokapilár tak, jak ilustroval Obr. 55 pro tato difuzní měření. Na algoritimizaci a čas perfuzní analýzy je to však značně časově náročné. Výhodou je ale u perfuzního zobrazování s kontrastní látkou čas akvizice (minuty) v porovnání s perfuzně-difuzní akvizicí (desítky minut). Zvláštní jev, který bude předmětem nejbližších kroků výzkumu této metody, se vyskytoval v měřených hodnotách pro kratší oblasti (délka oblasti měla

méně pixelů), kde přestávaly hodnoty T_c vykazovat lineární závislost tak, jak tvrdí teoretické hodnoty. Toto ilustruje Obr. 59, kde je měřená křivka T_c zobrazena i pro nejkratší rozměry oblastí.



Obr. 59 – Vliv krátkých oblastí zájmu na parametr T_c

Odpověď na to, proč se tento jev u měřených dat s kontrastní látkou pro krátké oblasti zájmu pro navržený fantom s dialyzačním filtrem vyskytuje, bude předmětem navazujícího výzkumu na tuto práci. V současné chvíli je nejpravděpodobnější, že zde původcem je vyšší šum v datech (průměrné hodnoty se tvoří pouze z pár pixelů oproti delším a větším oblastem) a nepřesné stanovení křivky $Ca(t)$.

ZÁVĚR

V souladu se zadáním práce byl popsán jev magnetické rezonance a proces sběru dat a tvorby obrazu. Následně, stále teoretické kapitoly, popisují vybrané metody zobrazování pomocí systému NMR od akvizice dat, přes zpracování naměřených dat až po stanovení a zobrazení výsledných parametrů definujících funkci tkáně. Cíleně pro účely praktické části práce šlo o metody difuzního zobrazování, perfuzně-difuzního zobrazování a perfuzního zobrazování s kontrastní látkou. Následně byly stanoveny cíle práce – pomocí zobrazovacích metod NMR stanovit směrovost mikrocév ve tkáni. Dosud se v literatuře a praxi nepoužívají žádné parametry zobrazující směrovost mikrocév ve tkáni, přesto, že by takový výsledek doplnil spektrum již používaných parametrů popisujících funkci tkáně. V praktické části práce byly z teoretických znalostí stanoveny parametry, které by měly při správném typu akvizice nést informaci o směrovosti kapilár. Byla navržena metodika určení těchto parametrů a to, a to od akvizice dat, přes zpracování až po vyhodnocení parametrů směrovosti mikrocév. Pro ověření této metodiky byl zkonstruován perfuzní fantom (kde tkáň představuje dialyzační filtr používaný při hemodialýze), na kterém se na půdě ÚPT AVČR naměřila data dle vytvořené metodiky. Šlo o perfuzně difuzní a perfuzní měření s kontrastní látkou. Následně byly všechny naměřené datasey zpracovávány dle navržené metodiky a vyhodnoceny výsledné parametry definující směrovost mikrocév.

Byly vyhodnoceny dva parametry ukazující směrovost mikrocév, jeden pro perfuzně difuzní měření (toková frakce krve ve tkáni) a druhý pro perfuzní měření s kontrastní látkou (střední doba průchodu kontrastní látky ve tkáni). Zpracované výsledky ukázaly, že tyto parametry při akvizici a zpracování dle navržené metodiky spolehlivě určí orientaci mikrokapilár (mikrotrubiček v dialyzačním filtru). Zkonstruovaný fantom se svou charakteristikou (rozměry vláken, objemy a průtoky systémem) natolik přiblížil lidské nebo zvířecí tkáni, že bylo možno srovnávat nejen s teoretickými hodnotami pro tyto živé tkáně, ale také zrealizovat měření dle navržené metodiky na živém zvířeti, potkanu. I zde se ukázalo možné stanovit směrovost mikrocév. Zadaný cíl práce byl naplněn. Je však zřejmé, že k rutinnímu zobrazování parametru směrovosti mikrocév bude potřeba navazující výzkum. Závěr kapitol ukazujících a hodnotících výsledky určení směrovosti u obou parametrů (toková frakce krve a střední doba průchodu kontrastní látky tkání) vždy nastiňuje další postup výzkumu a možnosti čeho je možné v budoucnu se zobrazením směrovosti dosáhnout (traktografie mikrocév).

Autor tedy v rámci této práce pochopil a popsal základní princip jevu magnetické rezonance, akvizici dat a tvorbu obrazu z naměřených signálů. Dále se zaměřil na pochopení konkrétních metod zobrazení perfuze a difuze (opět od akvizice, přes zpracování až po identifikaci výsledných parametrů). V rámci praktické části pak tyto metody aplikoval na vlastnoručně vyvinutém a zkonstruovaném fantomu nahrazujícím živou tkáň. Na základě konzultací s vedoucím práce autor navrhl metodiku, jak naměřit a zpracovat data tak, aby byla potvrzena orientace mikrotrubiček ve fantomu. Absolvoval desítky měření (včetně měření na živém zvířeti) a poté všechna data zpracovával pomocí softwarových nástrojů vyvinutých na půdě ÚPT AVČR. U těchto programů, které používal, musel z části pochopit jejich kód, protože potřeboval upravit některé prvky fungování programů. Data vyhodnotil a potvrdil navrženou metodiku stanovení směrovosti mikrocév.

Vzhledem k tomu, že byly navrženy a ověřeny dva způsoby stanovení směrovosti mikrocév (perfuzně-difuzní a perfuzní s kontrastní látkou), autor si nyní dovolí subjektivně zhodnotit jejich případnou praktickou použitelnost při možném zobrazování na člověku. Navržená perfuzně difuzní metodika nemá výpočetně a časově náročnou analýzu naměřených dat, avšak akvizice dat je z hlediska času poměrně náročná (desítky minut). Naproti tomu perfuzní metodika s kontrastní látkou obsahuje časově krátkou akvizici (jednotky minut), avšak zpracování naměřených dat je výpočetně a časově mnohem náročnější než u perfuzně-difuzní metodiky. Navíc je zde potřeba vpravit do člověka kontrastní látku. Autor této práce ze získaných výsledků usuzuje, že větší robustnost je na straně perfuzně-difuzní metodiky. Je-li ale praktická použitelnost navržených metodik kombinací (vzhledem k měření na člověku) nejen věrohodnosti získaných výsledků ale také času měření a tedy ceny, pak se jeví jako praktičtější perfuzní metodika s kontrastní látkou.

V rámci této práce tedy byla navržena neinvazivní metodika zobrazení směrovosti mikrocév pomocí NMR od akvizice dat na systému NMR, přes zpracování po vyhodnocení této směrovosti. Metodika byla ověřena na vytvořeném fantomu a ilustrována na živém zvířeti.

LITERATURA

- [1] Elster, AD. *Questions and Answers in MRI*. [Online] Elster LLC, 2022. [Citace: 20. 11. 2022], dostupné z <https://mriquestions.com/>.
- [2] Drastich, A. *Tomografické zobrazovací systémy*. Brno: Vutium, 2004.
- [3] Nemocnice Jihlava. *Úsek MRI - magnetická rezonance*. [Online] 2023. [Citace: 25. 11. 2022], dostupné z <https://www.nemji.cz/usek-mri-magneticka-rezonance/d-3778/p1=3235>.
- [4] Mori, S. *Introduction to Diffusion Tensor Imaging*. Oxford: Elsevier, 2007, 178 stran. ISBN: 978-0-444-52828-5.
- [5] Hendrick, E. *Breast MRI: Using Physics to Maximize Its Sensitivity and Specificity to Breast Cancer*. Medical Physics. 2004.
- [6] Siemens Medical Solutions. *Magnets, Spins, and Resonances: An Introduction to the basics of Magnetic Resonance*. Erlangen: Siemens AG, 2003, 230 stran.
- [7] Brownian motion. *Wikipedia*. [Online] Wikimedia Foundation, Inc., 2022. [Citace: 1. 12. 2022], dostupné z https://en.wikipedia.org/wiki/Brownian_motion.
- [8] Roceanu A, Onu M, Antochi F, et al. Diffusion Tensor Imaging (DTI) - A New Imaging Technique Applied in Multiple Sclerosis. *Maedica – a Journal of Clinical Medicine*. 2012, 7(4):355-357.
- [9] Johansen-Berg H, Behrens TEJ. *Diffusion MRI: From Quantitative measurement to in vivo neuroanatomy*. London: Elsevier, 2009, 490 stran. ISBN 978-0-12-374709-9.
- [10] Koh DM; Collins DJ. Diffusion-weighted MRI in the body: applications and challenges in oncology. *American Journal of Roentgenology*. 2007, 188(6), 1622-1635.
- [11] Huisman TAGM. Diffusion-weighted imaging: basic concepts and application in cerebral stroke and head trauma. *European radiology*. 2003, 13(10), 2283-2297.
- [12] Zhang Y, et al. Diffusion tensor imaging of cingulum fibers in mild cognitive impairment and Alzheimer disease. *Neurology*. 2007, 68(1), 13-19.
- [13] Chen R; Jiao Y, Herkovits EH. Structural MRI in autism spectrum disorder. *Pediatric research*. 2011, 69(8), 63-68.
- [14] Kyriakopoulos M, et al. Diffusion tensor imaging in schizophrenia. *European Psychiatry*. 2008, 23(4), 255-273.
- [15] Just N. Improving tumour heterogeneity MRI assessment with histograms. *British journal of cancer*. 2014, 111(12), 2205-2213.
- [16] Kratochvíla, J. *Modelování a analýza signálů v zobrazování perfúze magnetickou rezonancí*. Brno: Vysoké Učení Technické v Brně, 2018, 153 stran.
- [17] Jackson A, Buckley D, Parker G. *Dynamic Contrast-Enhanced Magnetic Resonance Imaging in Oncology*. Berlin: Springer, 2005, 312 stran. ISBN 3-540-42322-2.
- [18] St Lawrence KS, Buckley DL. An Adiabatic Approximation to the Tissue Homogeneity Model for Water Exchange in the Brain: I. Theoretical Derivation. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*. 1998, 18(12), 1365-1377. doi: 10.1097/00004647-199812000-00011
- [19] Essig, M, et al. Perfusion MRI: the five most frequently asked clinical questions. *American journal of roentgenology*. 2013, 201(3).
- [20] Barker PB, Golay X, Zaharchuk G. *Clinical perfusion MRI: techniques and applications*. Cambridge University Press. 2013.
- [21] Grandin CB. Assessment of brain perfusion with MRI: methodology and application to acute stroke. *Neuroradiology*. 2003, 45(11), 755-766.

- [22] Thng ChH, et al. Perfusion magnetic resonance imaging of the liver. *World Journal of Gastroenterology*. 2010, 16(13), 1598.
- [23] Constantine G, et al. Role of MRI in clinical cardiology. *The Lancet*. 2004, 363(9427), 2162-2171..
- [24] Bihan DL, Iima M, Federau CH, et al. *Intravoxel Incoherent Motion (IVIM) MRI: Principles and Applications*. Singapore: Pan Stanford Publishing, 2019, 534 stran. ISBN 978-981-4800-19-8.
- [25] Liu, J. *Multi-exponential IVIM MRI model identification: application to the quantification of tissue diffusion and perfusion*. *Signal and Image processing*. Rennes: Universite Rennes, 2020, 166 stran.
- [26] Abdullah OM, Gomez AD, Merchant S, et al. Orientation Dependence of Microcirculation-Induced Diffusion in Anisotropic Tissue. *Magnetic Resonance in Medicine*. 2016, 76(4), 1252-1262.
- [27] Mozumder M, Beltrachini L, Collier Q, et al. Simultaneous Magnetic Resonance Diffusion and Pseudo-Diffusion Tensor Imaging. *Magnetic Resonance in Medicine*. 2018, 79(4), 2367-2378.
- [28] Iwaki T, Hayakawa T. *A color Atlas of Sectional Anatomy of the Rat*. Tokio: Maruzen, 2001, 186 stran. ISBN 4-900659-58-4.
- [29] Dylevský I. *Funkční anatomie*. Praha: Grada, 2009, 544 stran. ISBN 978-80-247-3240-4.

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1 – Srovnání směru vnějšího magnetického pole s magnetickým momentem [1]	8
Obr. 2 – Vysvětlení výslednice vektoru magnetizace [1].....	9
Obr. 3 – Setrvačnick „káča“ vlevo, vpravo vektor M, oba konají precesní pohyb [1].....	10
Obr. 4 – Chování výsledného vektoru magnetizace M [1].....	10
Obr. 5 – Rezonanční frekvence pro různá jádra [1]	10
Obr. 6 – Systém NMR jako soustava cívek [2].....	12
Obr. 7 – Systém NMR na pracovišti, kde probíhalo měření	13
Obr. 8 – Směrové orientace zobrazení tkáně [3]	14
Obr. 9 – Gradientní pole v ose z pro výběr řezu [1] [2]	15
Obr. 10 – Frekvence precese před aplikací gradientu nahoře, dole po aplikaci [4].....	15
Obr. 11 – Jednoznačná definice pozice pixelu [2]	16
Obr. 12 – Ilustrace akviziční sekvence [5].....	16
Obr. 13 – Matice k-prostoru [2]	17
Obr. 14 – Prostorové frekvence k-prostoru [1]	18
Obr. 15 – K-prostor vlevo a vpravo odpovídající obraz řezu tkáně [6].....	18
Obr. 16 – Obrazy získané pomocí různých akvizičních sekvencí	19
Obr. 17 – Brownův pohyb částic [7].....	20
Obr. 18 – Rozdíl mezi nesměrovou (vlevo) a směrovou (vpravo) difuzí [8]	21
Obr. 19 – Vysvětlení principu difuze [4]	22
Obr. 20 – Vliv b-hodnoty na obraz [4].....	23
Obr. 21 – Měřený difuzní signál [4].....	24
Obr. 22 – Prokládání difuzním modelem [4]	24
Obr. 23 – Parametry potřebné k definování elipsoidu [4]	25
Obr. 24 – Barevné difuzní mapy [9]	26
Obr. 25 – Model tkáně [16].....	27
Obr. 26 – Dynamická perfuzní sekvence [16].....	28
Obr. 27 – Převod na koncentraci kontrastní látky [16]	29
Obr. 28 – Křivka koncentrace kontrastní látky [16].....	29
Obr. 29 – Typické křivky pro danou tkáň [16]	30
Obr. 30 – Aproximace měřené křivky modelem [16]	30
Obr. 31 – Mapy perfuzních parametrů [16]	31
Obr. 32 – Obecný model tkáně [16].....	31
Obr. 33 – Model aproximace měřené koncentrace [16].....	32
Obr. 34 – Model tkáně použitý v praktické části [16].....	33
Obr. 35 – Perfuze v metodě IVIM [4].....	35
Obr. 36 – Model IVIM [24] [25].....	36
Obr. 37 – Hodnoty tokové frakce krve ve tkáních [25].....	36
Obr. 38 – Schéma zapojení fantomu	38
Obr. 39 – Dialyzační filtr použitý při měření a jeho parametry	40
Obr. 40 – Jiná verze filtru	40
Obr. 41 – Zjištění korekčního faktoru průtoku.....	41
Obr. 42 – Pilotní měření.....	44
Obr. 43 – Nastavení parametrů akviziční sekvence	45
Obr. 44 – EPI difuzní akvizice.....	46
Obr. 45 – Naměřená data pro různé b-hodnoty	47
Obr. 46 – Kontrastní látka.....	48
Obr. 47 – Ilustrace naměřených perfuzních dat	50
Obr. 48 – Zobrazení dat v softwaru	51
Obr. 49 – Program perfuzní analýzy PerfLab	53
Obr. 50 – difuzní anizotropie	54
Obr. 51 – Zvyšující se průtok fantomem.....	55
Obr. 52 – Model IVIM na měřených datech bez a s průtokem	57
Obr. 53 – Odhadnutý parametr f pro všechny směry	58
Obr. 54 – Měřená a zpracovaná IVIM na potkanovi.....	59
Obr. 55 – Ilustrace mapy směrovosti mikrokapilár.....	59
Obr. 56 – Oblasti zájmu v perfuzní analýze.....	60
Obr. 57 – Měřené a odhadnuté křivky z oblastí zájmu.....	61
Obr. 58 – Výsledky měření s kontrastní látkou.....	62
Obr. 59 – Vliv krátkých oblastí zájmu na parametr Tc	64