



Ocena przydatności średniopolewych systemów MR w obrazowaniu hodowli komórkowych

Assessment of the usefulness of medium-field MR systems in imaging of cell cultures

Adrian Truskiewicz, Dorota Bartusik-Aebisher

Uniwersytet Rzeszowski, Kolegium Nauk Medycznych, al. Rejtana 16c, 35-959 Rzeszów, tel. +48 17 872 10 00, e-mail: atruskiewicz@gmail.com

Wprowadzenie

Obrazowanie metodą rezonansu magnetycznego stanowi w obecnej dobie złoty standard w badaniach medycznych. Gwałtowny rozwój obrazowania zapewnia doskonałą jakość obrazowania narządów ciała ludzkiego. Zastosowanie tej metody wykracza daleko poza prezentacje morfologiczne przekrojów tkanek. Spektroskopia (MRS) pozwala na śledzenie przemian biochemicznych zachodzących w organizmie. Funkcjonalny rezonans mózgowy (fMRI) obrazuje pracę mózgu. Możliwym jest obrazowanie dyfuzji wody (DWI), jak również perfuzji krwi (PWI)

w tkankach. Innym obszarem zastosowań obrazowania MR są badania z zakresu mikroskopii rezonansu magnetycznego (MRM).

Mikroskopia rezonansu magnetycznego należy do badań obrazujących badane struktury w rozdzielczości poniżej 100 μm (0,1 mm). Wykonywana jest z użyciem wysokopolewych systemów MR, które to pozwalają na otrzymywanie obrazów z rozdzielczością na poziomie od kilku do kilkunastu μm . W piśmiennictwie światowym istnieje wiele doniesień o wykorzystywaniu MRM do różnorodnych badań zarówno zwierząt, jak i ludzi.

Badania o zwiększonej rozdzielczości służą diagnostyce zmian skórnych [3, 8] lub też narządów umiejscowionych w zasięgu

38

Streszczenie

W niniejszym artykule autorzy podjęli próbę oceny przydatności systemów rezonansu magnetycznego o sile 1,5 Tesla do obrazowania małych struktur, jakimi są hodowle komórkowe. Zakres obrazowania, jaki stał się przedmiotem badań, wkracza w obszar będący domeną mikroskopii rezonansu magnetycznego (MRM). W dzisiejszej dobie badania te wykonywane są przy użyciu systemów wysokopolewych zapewniających dużo większe rozdzielczości przestrzenne. Celem pracy było określenie warunków, jak również parametrów skanowania pozwalających na obrazowanie małych obiektów przy wykorzystaniu systemu OPTIMA MR360 produkcji GE Healthcare. W wyniku prac koniecznym stało się opracowanie dodatkowej cewki solenoidalnej, której to zarówno wymiary, kształt, jak i konstrukcja zapewniły optymalną jakość obrazowania możliwą do uzyskania w oparciu o w/w system MR.

Artykuł ten jest pierwszym z serii prac ukazujących badania hodowli komórkowych z użyciem rezonansu magnetycznego w Uniwersytecie Rzeszowskim.

Słowa kluczowe: rezonans magnetyczny, mikroskopia MRI, hodowle komórkowe

In this article, the authors attempt to assess the usefulness of 1,5 Tesla magnetic resonance imaging systems for imaging of small structures such as cell cultures. The scope of imaging that has become the subject of research enters the area that is the domain of magnetic resonance microscopy (MRM). Nowadays, these tests are performed using high-field systems providing much higher spatial resolutions. The purpose of the work was to determine the conditions as well as scanning parameters that allow imaging of small objects using the OPTIMA MR360 production system. GE Healthcare. As a result of the work, it became necessary to develop an additional solenoid coil, which both dimensions, shape and design ensured optimal imaging quality possible based on the above MR system.

This article is the first in a series of works showing the study of cell cultures using magnetic resonance imaging at the University of Rzeszów.

Key words: magnetic resonance imaging, MRI microscopy, cell cultures

Abstract

otrzymano / received:

13.01.2020

poprawiono / corrected:

28.01.2020

zaakceptowano / accepted:

30.01.2020

cewek powierzchniowych, np. gałki ocznej [2]. Mikroskopia rezonansu magnetycznego oddaje wielkie usługi na polu obrazowania organów zwierzęcych [4, 6, 7]. Metoda ta znajduje szczególną rolę na polu badań histopatologicznych [9, 10]. Bardzo ciekawy projekt został zapoczątkowany przez badaczy [11], których celem stało się opracowanie zautomatyzowanego systemu opracowywania danych pochodzących z badania MR oraz badania histologicznego. Praca [5] opisuje wyniki działań badaczy w zakresie obrazowania naczyń wieńcowych serca ex vivo. Badania wykonane zostały z użyciem systemu MR 1,5T i stanowiły jedno z pierwszych doniesień o obrazowaniu MRM architektury blaszek miażdżycowych umiejscowionych w obrębie tętnic wieńcowych.

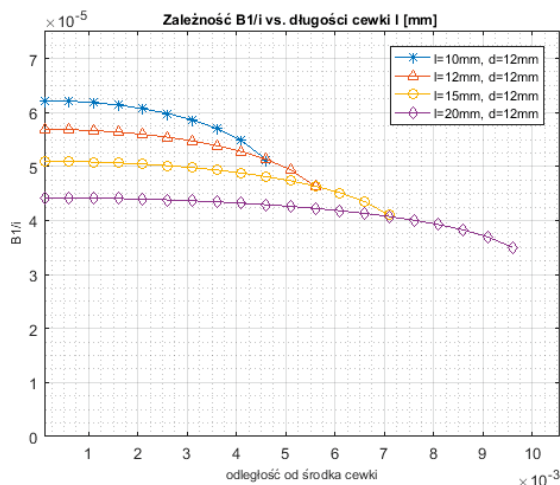
Wprawdzie MRM jest domeną systemów wysokopolowych, to również pewien zakres badań może być prowadzony w systemach o mniejszej sile pola.

Do badania hodowli komórkowych wykorzystano cewkę objętościową o geometrii solenoidalnej. Charakteryzuje się ona wysoką jednorodnością generowanego pola B1 w płaszczyźnie prostopadłej do osi długiej, jak również prostotą w konstrukcji. Cewki powierzchniowe pozwalają na obrazowanie małych struktur z dużą rozdzielczością i czułością w bliskim polu, lecz ze względu na charakterystykę badanych hodowli lepszym rozwiązaniem okazała się zaproponowana i opisana poniżej konstrukcja cewki solenoidalnej.

Czułość cewki określona przez stosunek wartości pola B1 do prądu jednostkowego i została podana w pracy [1].

$$\frac{B_1(y)}{i} = \pi \mu_0 \left[\frac{0,5 + \frac{y}{l_{\text{coil}}}}{\sqrt{d_{\text{coil}}^2 + (l_{\text{coil}} + 2y)^2}} + \frac{0,5 - \frac{y}{l_{\text{coil}}}}{\sqrt{d_{\text{coil}}^2 + (l_{\text{coil}} - 2y)^2}} \right] \quad (1)$$

gdzie: B_1 – pole B₁, y – odległość w osi długiej cewki od środka, d_{coil} , l_{coil} są odpowiednio średnicą i długością cewki, n – liczba zwojów cewki, μ_0 – przenikalność magnetyczna próżni.



Rys. 1 Wykres zależności stosunku B1/i w funkcji długości cewki
Źródło: Opracowanie własne.

Na rysunku 1 zaprezentowano rodzinę charakterystyk obrazującą zmianę stosunku B1/i w funkcji odległości od środka cewki. Wyraźnie widać, iż zwiększenie długości solenoidu wpływa ujemnie na czułość, która to ulega znacznemu zmniejszaniu. Odchylenie pola w okolicy krawędzi solenoidu jest opisane w [1]. Tam też Czytelnik znajdzie dodatkowe wskazówki praktyczne związane z tym zagadnieniem. Długość cewki stanowi niejako kompromis pomiędzy koniecznym polem obrazowania a czułością układu.

Solenoid stanowi odbiorczą część układu, w którym generowane jest napięcie. Jego własnością charakterystyczną oprócz rezystancji jest zależna od geometrii indukcyjność. Dla cewki solenoidalnej wartość tego parametru można określić z empirycznego wzoru:

$$L = \frac{n^2 d_{\text{coil}}^2}{46 d_{\text{coil}} + 100 l_{\text{coil}}} \quad (2)$$

Oznaczenia literowe parametrów cewki są tożsame z równaniem (1). Wzór ten daje wystarczająco dokładne przybliżenie wartości rzeczywistej. Pojemność rezonansowa wynosi:

$$C = \frac{1}{4\pi^2 f_0^2 L} \quad (3)$$

gdzie: f_0 – częstotliwość rezonansowa, L – indukcyjność cewki.

Dobroć obwodu rezonansowego stanowi stosunek częstotliwości rezonansowej ω_0 do szerokości pasma przy spadku sygnału o 3 dB:

$$Q = \frac{\omega_0}{\omega_{-3\text{dB}}} \quad (4)$$

Metoda

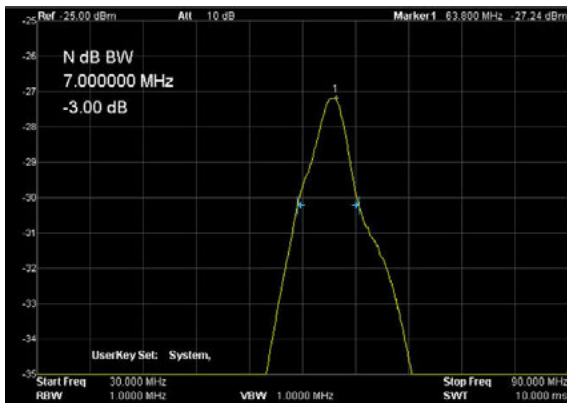
Jak już wcześniej wspomniano, celem pracy jest ocena przydatności systemów rezonansu magnetycznego o polu 1,5 T do obrazowania hodowli komórkowych. Do prób wykorzystano system MR prod. GE Healthcare typ: OPTIMA 360MR zainstalowany w Laboratorium Badań Ośrodkowego Układu Nerwowego i Kręgosłupa Przyrodniczo-Medycznego Centrum Badań Innowacyjnych Uniwersytetu Rzeszowskiego. System ten został zaprojektowany do wykonywania badań diagnostycznych u chorych z wykorzystaniem najnowszych technologii medycznych. Został on wyposażony w szereg wielokanałowych cewek nadawczo-odbiorczych pozwalających na prowadzenie badań wszystkich okolic ludzkiego ciała. Hodowle komórkowe to obszar zastosowań, który ze względu na swoje specyficzne cechy jest całkowicie odmienny od tych, dla których ten rezonans magnetyczny został zaprojektowany. Główną cechą różnicującą jest sama wielkość badanych obiektów. Obrazowanie struktur hodowli komórkowych wkracza w obszar mikroskopii MR.

Liczne próby przeprowadzone z użyciem fabrycznych cewek nie przynosiły zadowalających rezultatów z uwagi na odmienną ich przeznaczenia. W celu poprawy obrazowania zdecydowano się na opracowanie cewki odbiorczej ściśle dedykowanej do badania małych obiektów umieszczonych w probówkach typu „ependorf”.



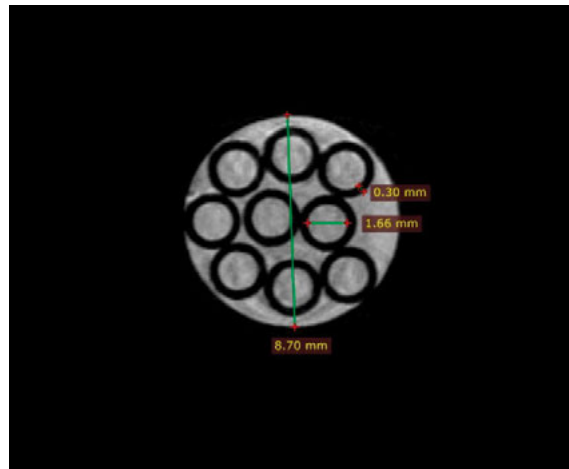
Projektowana cewka odbiorcza została zaprojektowana jako cewka będąca solenoidem o średnicy wewnętrznej 11 mm. Nawinięta drutem miedzianym o średnicy 1,8 mm posiada 5 zwojów. Duża grubość drutu zmniejsza efekt naskórkowości, który to związany jest ze zwiększaniem się rezystancji zwolnicy ze wzrostem częstotliwości. Opis zagadnienia naskórkowości wykracza znacznie poza zakres niniejszego opracowania. Zewnętrzna średnica wynosi około 15 mm. Obliczona analitycznie indukcyjność wynosi 298 nH, co pokrywa się z pomiarem dokonany cyfrowym miernikiem parametrów RLC prod. Agilent Technologies typ U1733C z dokładnością na poziomie 3%. Obwód został zestrojony do rezonansu i zbadany analizatorem widma prod. RIGOL typ DSA815 pozwalającym na analizę układów w zakresie częstotliwości od 9 kHz do 1,5 GHz. W układzie wykorzystano kondensatory wykonane w wersji niemagnetycznej i przeznaczone do zastosowań w obwodach rezonansu magnetycznego. W celu zabezpieczenia układu wykorzystano diodę PIN typ MA4P7441F-1091T. Dobroć obwodu określono na podstawie charakterystyki częstotliwościowej zgodnie z równaniem (4) i dla obwodu odbiorczego wynosi ona 9.1.

Cały obwód rezonansowy został podłączony przez fabryczny adapter cewki jednonakałowej, który to zapewnia właściwe dopasowanie do stopnia wejściowego systemu MR.



Rys. 2 Charakterystyka cewki odbiorczej

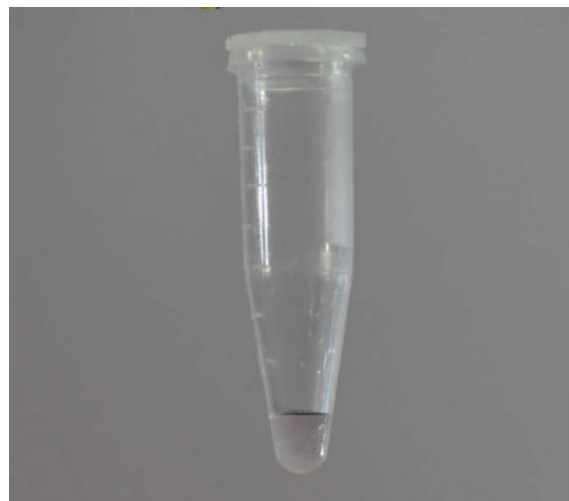
Źródło: Opracowanie własne.



Rys. 3 Wynik skanowania fantomu

Źródło: Opracowanie własne.

Kolejnym krokiem badania systemu pod kątem możliwości obrazowania małych obiektów, jakimi są hodowle komórkowe było sporządzenie fantomu żelowego, którego wygląd przedstawiono na rysunku 4.



Rys. 4 Wygląd fantomu żelowego

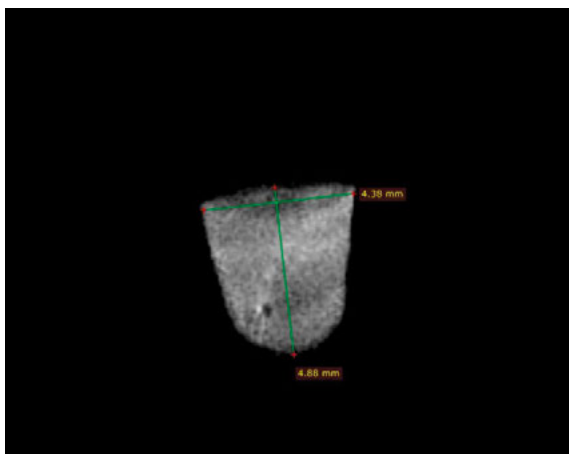
Źródło: Opracowanie własne.

Wyniki

Celem oceny jakości i rozdzielczości obrazowania sporządzono odpowiedni fantom. Jest to wypełniona wodą demineralizowaną próbkówka z zanurzonymi w niej dziewięcioma kapilarami o średnicy zewnętrznej 2,3 mm i grubości ścianki 0,3 mm. W obrazowaniu wykorzystano sekwencję T2FSE. Na rysunku 3 przedstawiono wynik skanowania fantomu. Parametry sekwencji wykorzystanej w badaniu to FOV: 5 cm, matryca akwizycyjna: 512x512, TE: 107,1 ms, TR: 6116 ms, grubość warstwy: 1 mm. Uzyskana rozdzielczość jest na poziomie 0,1 mm, co stanowi dolną granicę rozdzielczości mikroskopii MR (MRM). Czas badania wyniósł poniżej 10 min. Z uwagi na charakter badanego obiektu jest on parametrem drugorzędym mającym mniejsze znaczenie.

W probówce o pojemności 2 ml umieszczono niewielką ilość żelu i uzupełniono płynem stanowiącym medium hodowlane komórek. Rysunek 5 przedstawia wyniki badania metodą rezonansu magnetycznego tego fantomu. Badania wykonano przy ustawieniach pozwalających na uzyskanie maksymalnej rozdzielczości przestrzennej, a mianowicie FOV: 4 x 4 cm, TR: 4151 ms, TE: 98,8 ms, matryca akwizycyjna: 512 x 512, grubość warstwy: 1 mm. Parametry te pozwoliły na osiągnięcie rozdzielczości przestrzennej na poziomie 0,08 mm.

W wyniku badania otrzymano obrazy z wyraźnie zaznaczonym obszarem żelu oraz płynu. Według pomiaru wykonanego oprogramowaniem służącym do prezentacji obrazów DICOM wielkość próbki wynosiła 4,88 mm x 4,38 mm. Na ryc. 5 uwidocznił



Ryc. 5 Wynik skanowania fantomu żelowego
Źródło: Opracowanie własne.

się również artefakt związany z pęcherzykiem powietrza wewnątrz próbówki. Zaszumienie obrazu jest związane z założoną dużą matrycą obrazowania. Zmniejszenie matrycy spowoduje zwiększenie SNR, jednakże wymogi stawiane w założeniach pracy obligują do uzyskania możliwie dużych rozdzielczości. Poprawę tego parametru można uzyskać na drodze zwiększenia liczby akwizycji. Spowoduje to oczywiście wzrost czasu badania, ale czas ten jest w tym przypadku parametrem mało istotnym.

Ostatecznie powyższe doświadczenia polegające na obrazowaniu fantomów dowodzą dostatecznych możliwości wykorzystywanego systemu do realizacji założeń.

Dyskusja

Analizując uzyskane obrazy, z całą pewnością można stwierdzić, iż system OPTIMA 360MR prod. GE Healthcare wraz z opracowanym obwodem odbiorczym pozwala na obrazowanie hodowli komórkowych po ich uprzednim przygotowaniu. Analizując światowe doniesienia, należy stwierdzić, iż systemami dedykowanymi są systemy wysokopolowe, jednakże systemy o sile pola magnetycznego 1,5 T nie są pozbawione możliwości obrazowania w tym zakresie.

Podziękowania

Dorota Bartusik-Aebisher otrzymała grant od Narodowego Centrum Nauki (New drug delivery systems-MRI study, Grant OPUS-13 number 2017/25/B/ST4/02481)

1. L. Ciobanu: *Microscopic Magnetic Resonance Imaging: A Practical Perspective*, Pan Stanford Publishing Pte. Ltd., 2017, 8-18.
2. H. Gufler, F.E. Franke, W.S. Rau: *High-resolution MRI of basal cell carcinomas of the face using a microscopy coil*, *AJR Am J Roentgenol.*, 188(5), 2007, W480-484.
3. M.J. Budak, J.R. Weir-McCall, P.M. Yeap, R.D. White, S.A. Waugh, T.A. Sudarshan, I.A. Zealley: *High-Resolution Microscopy-Coil MR Imaging of Skin Tumors: Techniques and Novel Clinical Applications*, *Radiographics*, 35(4), 2015, 1077-1090.
4. M. Bilgen: *Magnetic resonance microscopy of spinal cord injury in mouse using a miniaturized implantable RF coil*, *J Neurosci Methods*, 159(1), 2007, 93-97.
5. M. Poirier-Quinot, J.C. Ginefri, F. Ledru, P. Fornes, L. Darrasse: *Preliminary ex vivo 3D microscopy of coronary arteries using a standard 1.5 T MRI scanner and a superconducting RF coil*, *MAGMA*, 18(2), 2005, 89-95.
6. R. Sharma: *Microimaging of hairless rat skin by magnetic resonance at 900 MHz*, *Magn Reson Imaging*, 27(2), 2009, 240-255.
7. J.C. Nouis, M.G. Izenson, H.P. Greeley, G.A. Johnson: *Design of a superconducting volume coil for magnetic resonance microscopy of the mouse brain*, *J Magn Reson.*, 191(2), 2008, 231-238.
8. E. Laistler, M. Poirier-Quinot, S.A. Lambert, R.M. Dubuisson, O.M. Girard, E. Moser, L. Darrasse, J.C. Ginefri: *In vivo MR imaging of the human skin at subnanoliter resolution using a superconducting surface coil at 1.5 Tesla*, *J Magn Reson Imaging*, 41(2), 2015, 496-504.
9. M. Morawski, E. Kirilina, N. Scherf, C. Jäger, K. Reimann, R. Trampel, F. Gavriilidis, S. Geyer, B. Biedermann, T. Arendt, N. Weiskopf: *Developing 3D microscopy with CLARITY on human brain tissue: Towards a tool for informing and validating MRI-based histology*, *Neuroimage*, 182, 2018, 417-428.
10. S. Macura, P.K. Mishra, J.D. Gamez, I. Pirko: *MR microscopy of formalin fixed paraffin embedded histology specimens*, *Magn Reson Med.*, 71(6), 2014, 1989-1994.
11. M. Goubran, C. Leuze, B. Hsueh, M. Aswendt, L. Ye, Q. Tian, M.Y. Cheng, A. Crow: *Steinberg GK, McNab JA, Deisseroth K, Zeineh M, Multimodal image registration and connectivity analysis for integration of connectomic data from microscopy to MRI*, *Nat Commun.*, 10(1), 2019, 5504.