

CONTRAST ENHANCED MRI W TKANCE NERKI IN VITRO

Mateusz Mielnik

OPIEKUN NAUKOWY

DR HAB. N. MED. Dorota Bartusik-Aebisher, PROF. UR

email: dbartusik-aebisher@ur.edu.pl; Kolegium Nauk Medycznych, Uniwersytet Rzeszowski

Metoda Contrast Enhanced MRI to obrazowanie rezonansem magnetycznym ze wzmocnionym kontrastem. Obrazowanie metodą rezonansu magnetycznego (MRI) jest nieinwazyjną techniką obrazowania, stosowaną w radiologii do tworzenia obrazów anatomii i fizjologicznych procesów organizmu.

Rola MRI w ocenie uszkodzeń nerek bezustannie rośnie. Rezonans magnetyczny może być stosowany w sytuacji, gdy czynności nerek są nierozwinięte, podczas ciężkiej alergii na kontrast lub w momencie narażenia na promieniowanie, np. kobiet w ciąży. Podejmowane są próby użycia MRI do obrazowania czynności nerek, w tym współczynnika perfuzji przesączania kłębuszkowego, jak i wewnątrznerkowego wskaźnika tlenu.

Cel pracy

Celem pracy było zastosowanie metody obrazowania MRI do oceny wycinków tkankowych in vitro raka nerki, na podstawie zmiany stężenia wody w tkance zdrowej i nowotworowej.

W badaniach wykorzystany został rezonans magnetyczny o polu 1,5 Tesla model Optima MR360 firmy General Electric Healthcare. Dodatkowo do wykonywania pomiarów z wykorzystaniem silnego pola magnetycznego wykorzystane zostały dedykowane cewki gradientowe. Analiza otrzymanych danych była wykonana za pomocą licencjonowanego pakietu MATLAB.

Przebieg badania

Badania przeprowadzono na nieutrwalonych przez formalinę fragmentach tkankowych. W pierwszym etapie została wyznaczona relaksacja podłużna i poprzeczna, co pozwoliło na charakterystykę badanej próbki. Podczas skanów wykorzystane zostały cewki gradientowe, które bezpośrednio wchodzą w skład stosowanego w praktyce układu pomiarowego. Na podstawie otrzymanego sygnału cyfrowego i rekonstrukcji obrazu, która powstaje dzięki zastosowaniu transformaty Fouriera został otrzymany materiał do analizy. Kolejnym etapem była analiza danych, w której dokonana została dokładna ocena otrzymanych wyników, w celu wyznaczenia czasów relaksacji T_1 i T_2 w badanych próbkach. W kolejnym etapie, pod mikroskopem, oceniony został preparat histopatologiczny wykonany z przebadanego wycinka raka nerki. Wycinek zawiera komórki raka nerki oraz tkankę niezmienną nowotworowo. W ostatniej fazie eksperymentu zmiany widoczne w badaniu MRI zostały skorelowane z obrazem histopatologicznym w celu odnalezienia ewentualnych korelacji.

Podczas planowanych badań bazowano na zdobytej wiedzy i doświadczeniu w badaniach metodą rezonansu magnetycznego, jak również wyznaczaniu czasów relaksacji T_1 i T_2 w fragmentach tkankowych. Zwrócono uwagę na manewrowanie parametrami czasu echa (TE) i czasu repetycji (TR) oraz na starannym dobraniu wartości wyjściowych oraz kroku pomiarowego tak, aby uzyskać wiarygodne wyniki w jak najkorzystniejszym czasie. Kolejnym etapem była obróbka danych, w której została wykonana analiza statystyczna, oraz zostały wyznaczone czasy relaksacji T_1 , T_2 oraz mapy tych czasów w badanych wycinkach z raka nerki.

Metoda pomiaru

Wszystkie procedury rezonansu magnetycznego wykonano na urządzeniu do rezonansu magnetycznego 1,5 Tesli Optima MR360 Advance firmy General Electric Healthcare (Milwaukee, Wisconsin, USA). Urządzenie działało pod wersją oprogramowania SV23.

Pobrano świeże próbki, bezpośrednio po chirurgicznym usunięciu guza, za pomocą magnesu o wysokiej rozdzielczości, w celu określenia czasów relaksacji T_1 i T_2 . Do akwizycji obrazu użyto 4-kanałowej cewki o małej elastycznej powierzchni.

W przypadku pomiarów T_1 , wartości czasu powtarzania (TR) w zakresie 50–15000 ms z następującymi krokami (50, 100, 200, 300, 500, 1000, 1500, 2000, 3000, 5000, 10000 i 15000 ms) z czasem echa (TE) 3 ms.

W oparciu o te wartości utworzono impulsowe szybkie echo spinowe (FSE) i wygenerowano obrazy MR dla każdej próbki. Protokół oprogramowania do określania czasu T_1 składał się z następujących kroków: Kalibracja, 3-płaszczyzna, Koronalny T_1 FSE (z różnymi ustawieniami czasu TR). Obrazy wykonano przy użyciu matrycy o wymiarach 320×224 , pola widzenia (FOV) $19 \text{ cm} \times 19 \text{ cm}$ i grubości warstwy 3,0 mm. Pomiar powtórzono, SD wyniosło 5%.

Aby określić czas relaksacji T_2 , wykonano serie obrazów MRI o różnych czasach echa (TE). Obrazy MR uzyskano przy trzynastu różnych czasach echa (od 1 do 250 ms) z ustawieniem sekwencji: TR = 15000 ms, FOV 15 cm × 15 cm, rozmiar matrycy 320 × 224, grubość wycinka 3,0 mm, szerokość pasma odbiornika 31,25 kHz, NEX = 3. Zwykle pobierano 1 warstwę wieńcową, aby pokryć całą tkankę przez środek. Całkowity czas skanowania w celu jednoczesnego pozyskania wszystkich obrazów ważonych T_2 wyniósł 2 godziny. Te parametry MR zastosowano dla wszystkich tkanek.

Użyto aplikacji pakietu oprogramowania VOLUME VIEWER na stacji roboczej AV4.6 (General Electric Healthcare) do pomiaru intensywności sygnału MR. Wartości czasu relaksacji T_1 i T_2 obliczono stosując nieliniowe korekty krzywych opisujących narastanie sygnału MR (dla T_1) i utratę sygnału (dla T_2).

Pomiary wartości T_1 i T_2 dla tkanek zdrowych i chorych nerki.

Przy użyciu tych dwóch metod zaobserwowano różnice fizyko-chemiczne tkanki zdrowej i nowotworowej w diagnozie raka nerki. Poznanie tych różnic ma na celu lepsze zrozumienie procesów, które zachodzą w tkance nowotworowej, a co za tym idzie polepszenie diagnostyki przedoperacyjnej. Następnie tkanki, które zostały poddane badaniu oglądane były przez patologa pod mikroskopem i oceniany był typ nowotworu.

Czasy relaksacji T_1 i T_2 tkanek raka nerki

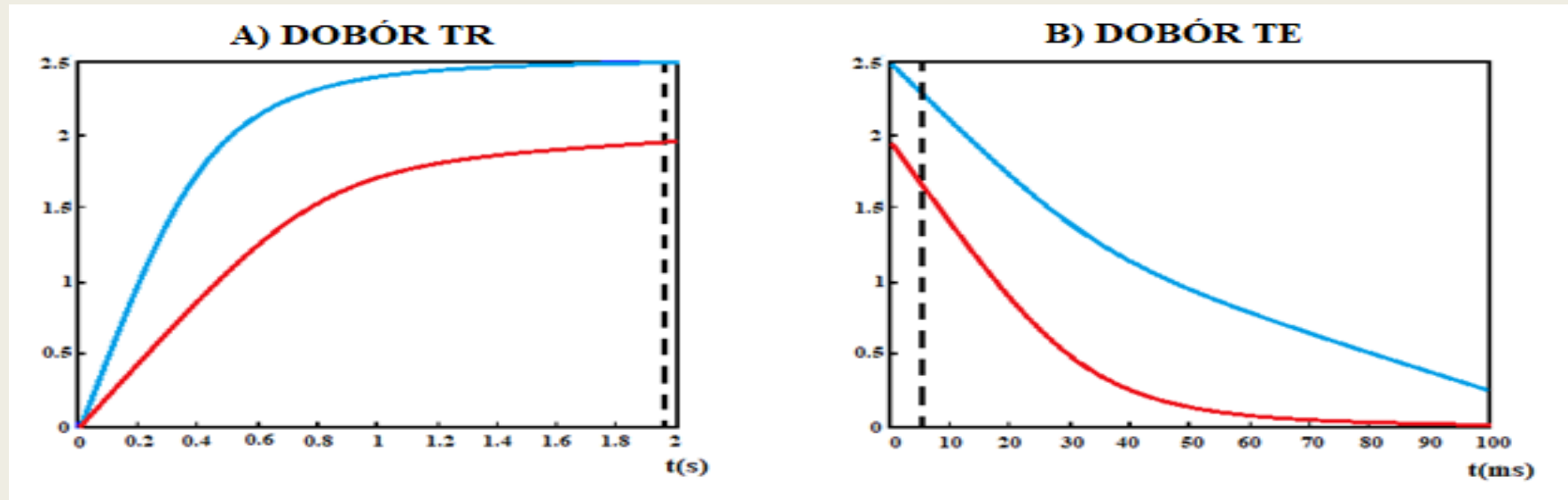
NUMERY TKANEK	T_1 (MS)		T_2 (MS)	
1	840	± 22	67	± 4
2	919	± 54	74	± 4
3	1043	± 62	63	± 4
4	864	± 21	79	± 4
5	773	± 13	93	± 4
6	874	± 10	77	± 4

Czasy relaksacji T_1 i T_2 zdrowych tkanek nerki

Numery tkanek	T_1 (ms)		T_2 (ms)	
1	898	± 2	69	± 16
2	970	± 34	70	± 10
3	1200	± 16	81	± 11
4	980	± 11	100	± 12
5	790	± 10	98	± 5
6	950	± 7	98	± 14

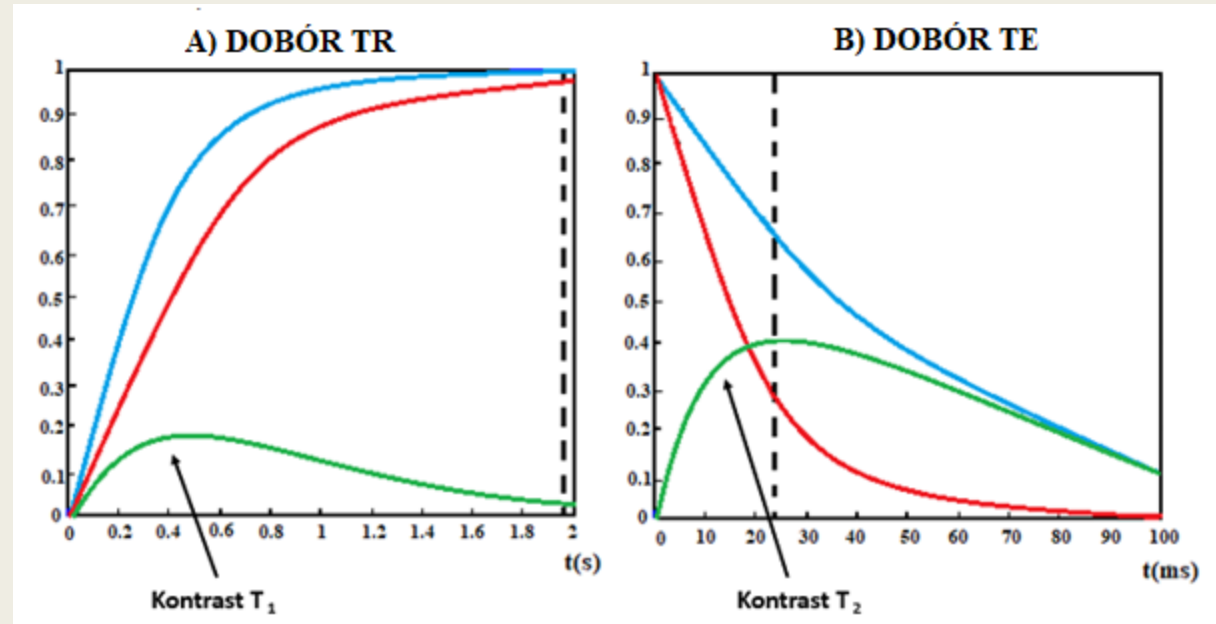
Metoda doboru optymalnych wartości TR i TE dla kontrastu opartego na gęstości protonów w tkance

Technika ta używa bardzo długiego czasu między sygnałami RF (bardzo długi czas TR) i bardzo krótkiego opóźnienia między oknem wzbudzenia a oknem odczytu (krótki czas TE). Jest przydatne do anatomicznych skanów referencyjnych.



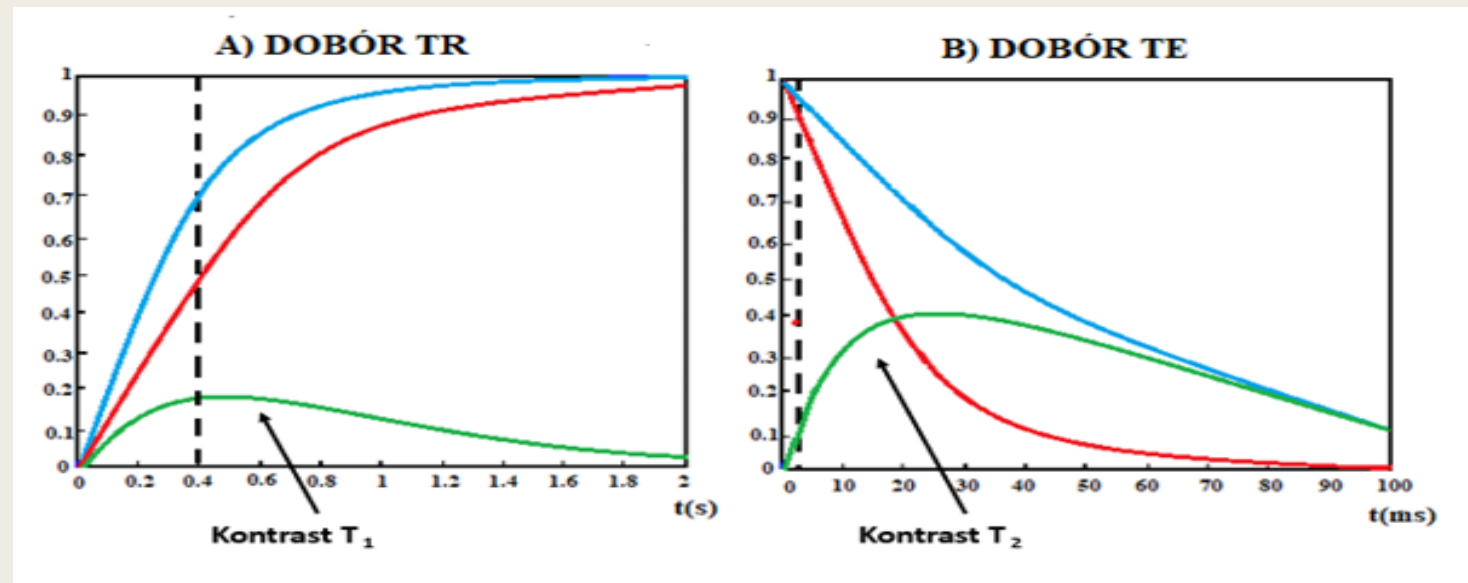
Metoda doboru optymalnych wartości TR i TE dla kontrastu T_2^* i T_2

Technika ta używa krótkiego czasu między sygnałami RF (długi czas TR) i długiego opóźnienia między oknem wzbudzenia a oknem odczytu (długi czas TE). Jest przydatne do anatomicznych skanów.



Metoda doboru optymalnych wartości dla kontrastu T_1

Technika używa pośredniego czasu pomiędzy sygnałami RF (pośredni czas TR) i bardzo krótkiego czasu TE. Badanie przydatne do tworzenia kontrastu jako odniesienie anatomiczne.



Wnioski

MRI okazał się prawidłowym narzędziem do rozróżniania tkanki nowotworowej i zdrowej, jednakże liczba studiów jest ograniczona. Zastosowano kliniczny rezonans magnetyczny do pomiaru czasów relaksacji podłużnej spin-sieć (T_1) oraz poprzecznej spin-spin (T_2) w roztworze wodnym oraz tkankach nowotworu nerki. Badania zostały przeprowadzone w celu oceny możliwości monitorowania fotokonsumpcji tlenu przy użyciu klinicznego rezonansu magnetycznego o mocy pola 1.5 Tesli, wykorzystując rozpuszczony tlen jako endogeny środek kontrastowy MRI przed i po działaniu fotodynamicznym *in vitro*.

Badanie rezonansem magnetycznym dostarcza informacji o wielkościach czasów relaksacji wody i ich różnicach w tkance zdrowej i nowotworowej. Przy użyciu tych dwóch metod obserwujemy różnicę fizykochemiczne tkanki zdrowej i nowotworowej w raku nerki.

Praca zgodna z UCHWAŁĄ Nr 8/11/2018 Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Rzeszowskim z dnia 08/11/2018, „Ocena skuteczności diagnostycznej terapii fotodynamicznej in vitro w raku nerki w korelacji z obrazem histopatologicznym i czasami reakcji MRI”.