



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA ELEKTROTECHNIKY A KOMUNIKAČNÍCH
TECHNOLOGIÍ

ÚSTAV BIOMEDICÍNSKÉHO INŽENÝRSTVÍ

FACULTY OF ELECTRICAL ENGINEERING AND COMMUNICATION
DEPARTMENT OF BIOMEDICAL ENGINEERING

OPTIMALIZACE MRI MĚŘENÍ SLEPIČÍCH EMBRYÍ

OPTIMIZATION OF THE MRI CHICKEN EMBRYOS MEASUREMENTS

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. GABRIELA SEDLÁČKOVÁ

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. LUCIE GROSSOVÁ

BRNO 2015



VYSOKÉ UČENÍ
TECHNICKÉ V BRNĚ

Fakulta elektrotechniky
a komunikačních technologií

Ústav biomedicínského inženýrství

Diplomová práce

magisterský navazující studijní obor
Biomedicínské inženýrství a bioinformatika

Studentka: Bc. Gabriela Sedláčková

ID: 133982

Ročník: 2

Akademický rok: 2014/2015

NÁZEV TÉMATU:

Optimalizace MRI měření slepičích embryí

POKYNY PRO VYPRACOVÁNÍ:

1) Provedte literární rešerši na téma MRI měření živých objektů se zaměřením na techniky měření slepičích embryí. 2) Navrhněte a zrealizujte fantom vhodný pro tato měření. 3) Prostudujte možnosti udržování a monitorování teploty v průběhu měření. 4) Vyberte vhodnou pulsní sekvenci a optimalizujte její akviziční parametry. 5) Provedte sérii měření MRI anatomických snímků slepičích embryí a popište jednotlivé anatomické struktury. 6) Výsledky vyhodnoťte a proveďte diskusi.

DOPORUČENÁ LITERATURA:

[1]BERNSTEIN, Matt A, Kevin Franklin KING a Ziaohong Joe ZHOU. Handbook of MRI pulse sequences: principles and techniques. 2nd ed. Boston: AcademicPress, 2004, 1017 p. ISBN 01-209-2861-2.

[2] HAACKE, E. Magnetic resonance imaging: physical principles and sequence design. New York: Wiley, 1999, xxvii, 914 p. ISBN 04-713-5128-8.

Termín zadání: 9.2.2015

Termín odevzdání: 22.5.2015

Vedoucí práce: Ing. Lucie Grossová

Konzultanti diplomové práce:

prof. Ing. Ivo Provazník, Ph.D.

Předseda oborové rady

UPOZORNĚNÍ:

Autor diplomové práce nesmí při vytváření diplomové práce porušit autorská práva třetích osob, zejména nesmí zasahovat nedovoleným způsobem do cizích autorských práv osobnostních a musí si být plně vědom následků porušení ustanovení § 11 a následujících autorského zákona č. 121/2000 Sb., včetně možných trestněprávních důsledků vyplývajících z ustanovení části druhé, hlavy VI. díl 4 Trestního zákoníku č.40/2009 Sb.

Abstrakt

Diplomová práce se zabývá optimalizací MRI měření fantomů obsahujících slepičí embryo. Teoretická část práce je věnována základům magnetické rezonance a popisu pulzních sekvencí. Dále jsou diskutovány možnosti, jak udržovat a monitorovat teplotu v průběhu měření. Součástí práce je návrh a realizace fantomů, které jsou využívány pro měření. V programu Matlab byl vytvořen prohlížeč obdržených snímků z MR určený pro snadnou orientaci mezi obrazy při různě zvoleném nastavení pulzní sekvence či druhu fantomu. Závěr práce je věnován popisu anatomických struktur slepičího embrya a diskusi obdržených výsledků.

Klíčová slova

Magnetická rezonance, pulzní sekvence, slepičí embryo, fantom, alginát sodný, chlorid vápenatý

Abstract

This thesis deals with optimization of MRI measuring of phantoms containing the chicken embryo. The theoretical part of thesis is dedicated to the MRI fundamentals and description of pulse sequences. In the next part the options of keeping and monitoring the temperature are being discussed. The thesis also deals with design and realization of phantoms which are used for measuring. A browser of images captured by MRI was programmed in Matlab environment. The program allows users to look through the images with different settings of pulses sequences or kind of phantom. The final part of thesis describes the anatomical structures of chicken embryo and discussion of collected results.

Keywords

Magnetic Resonance Imaging, pulse sequences, chicken embryo, phantom, sodium alginate, calcium chloride

SEDLÁČKOVÁ, G. *Optimalizace MRI měření slepičích embryí*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií, 2015. 69 s.
Vedoucí semestrální práce Ing. Lucie Grossová.

Prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci na téma Optimalizace MRI měření slepičích embryí jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucí diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou všechny citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce.

Jako autor uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že v souvislosti s vytvořením této práce jsem neporušila autorská práva třetích osob, zejména jsem nezasáhla nedovoleným způsobem do cizích autorských práv osobnostních a jsem si plně vědoma následků porušení ustanovení § 11 a následujících autorského zákona č. 121/2000 Sb., včetně možných trestněprávních důsledků vyplývajících z ustanovení části druhé, hlavy VI. díl 4 Trestního zákoníku č. 40/2009Sb.

V Brně dne 18. května 2015

podpis autora

Poděkování

Na tomto místě bych ráda poděkovala své vedoucí diplomové práce Ing. Lucii Grossové za její podporu a mnoho cenných rad při vedení práce. Dále bych ráda poděkovala svým rodičům a přátelům za morální i finanční podporu při studiu.

V Brně dne 18. května 2015

podpis autora

Obsah

Úvod	1
1. Základní principy magnetické rezonance	3
1.1 Relaxační mechanismy	5
1.2 Zisk signálu	7
1.3 Magnetický gradient, rekonstrukce obrazu	7
1.3.1 Fázi kódující gradient (phase encoding gradient)	7
1.3.2 Frekvenci kódující gradient (frequency encoding gradient)	8
1.3.3 Gradient pro určení roviny řezu (slice selecting gradient)	8
1.4 Rekonstrukce obrazu	9
2. Pulzní sekvence	10
2.1 Spin echo pulzní sekvence	10
2.1.1 Váhování obrazu	10
2.2 IR pulzní sekvence	11
2.3 SR pulzní sekvence	11
2.4 Gradientní echo (GE) pulzní sekvence	12
2.5 Další pulzní sekvence	13
2.6 Rozbor základních parametrů pulzních sekvencí	15
3. Embryonální vývoj slepičího zárodku a faktory, které jej ovlivňují	17
3.1 Embryonální vývoj	17
3.2 Faktory ovlivňující embryonální vývoj	23
4. Využití technické vybavení laboratoře NMR na ÚPT	24
4.1 Magnetická rezonance	24
4.2 Vysokofrekvenční cívky	24
5. Udržování a monitorování teploty během měření	25
5.1 Nastavení počáteční teploty	25
5.2 Snímání teploty	25
5.3 Udržování teploty v magnetické rezonanci	26
5.4 Příprava vejce pro měření teploty	27
5.5 Zpracování naměřených dat	28
5.6 Výsledky měření	30
6. Návrh testovacího fantomu a fantomu „umělé“ vejce	32
6.1 Testovací fantom – neoplozené vejce	32
6.2 „Umělé“ vejce jako fantom	33
7. Realizace fantomu – „umělé“ vejce	34
7.1 Fantom z žele a želatiny	34
7.2 Fantom z alginátu sodného a chloridu vápenatého	36
7.3 Výsledky prvního testovacího měření – neoplození vejce jako fantom	39
8. Výběr optimální pulzní sekvence a jejích parametrů	41
8.1 Konkrétní pulzní sekvence a jejich parametry volené pro zobrazování zrealizovaného fantomu	41
8.2 Postup měření fantomu	43

9.	Grafické uživatelské rozhraní	45
10.	Popis anatomických struktur	48
11.	Diskuse výsledků	53
11.1	Notochord a páteřní kanál	53
11.2	Somity a základy obratlů.....	53
11.3	Oko	54
11.4	Srdce.....	54
11.5	Multi-echo pulzní sekvence	55
11.6	Diskuse snímků z GUI	58
	Závěr.....	61
	Seznam použitých zkratk	63
	Seznam použité literatury a zdrojů	66
	Příloha.....	69

Seznam obrázků

Obr. 1: Zastoupení částic na různých energetických hladinách, převzato z [1]	3
Obr. 2: Sklápění vektoru magnetizace v závislosti na RF pulzu	4
Obr. 3: Návrat do podélné magnetizace za časovou jednotku, převzato a upraveno z [1]....	5
Obr. 4: Rozdíl relaxačních křivek v závislosti na homogenitě magnetických polí, převzato a upraveno z [3]	6
Obr. 5: Posloupnost u gradientů, převzato a upraveno z [7]	8
Obr. 6: Schématické znázornění spin echo pulzní sekvence, převzato z [4].....	10
Obr. 7: Carr-Purcell (CP) pulzní sekvence, převzato a upraveno z [6].....	13
Obr. 8: RARE s třemi 180° refokusačními pulzy, převzato a upraveno z [7].....	14
Obr. 9: Termostat ST1/A/40.....	25
Obr. 10: Rektální sonda RTP-102-B (vlevo) a ERT Modul Model 1030 (vpravo).....	26
Obr. 11: Čerpadlo pro vytápění vodní lázně.....	26
Obr. 12: Ventilátorový (bílý), ohřívací (černý) modul, převzato a upraveno z [11].....	27
Obr. 13: Zafixované slepičí embryo ve fyziologickém roztoku.....	32
Obr. 14: Odvápňená skořápka vejce (vlevo), implantované embryo uvnitř vejce (vpravo)	32
Obr. 15: Realizace fantomu želé – a) prázdná skořápka s otvorem, b) 2/3 původního žloutku nanesené na spodní vrstvě želé c) výsledný fantom s embryem uvnitř (horní vrstva želé tvořící imitaci skutečného bílku)	35
Obr. 16: a) Umělý bílek byl nejdříve formován prostřednictvím skořápky, b) tvar umělého bílku po vyjmutí ze skořápky	37
Obr. 17: a) Membrána umělého bílku dokáže odolávat vyvíjenému tlaku, b) uvnitř je však umělý bílek stále tekutý, tak jako je tomu ve skutečnosti.....	37
Obr. 18: Realizace fantomu alginát: a) prázdná skořápka s otvorem, b) vaječný žloutek se zpevněnou membránou prostřednictvím procesu reverzní sferifikace.....	38
Obr. 19: Realizace fantomu alginát: a) slepičí embryo umístěné na zpevněné membráně vaječného žloutku, b) zalité embryo na žloutku uměle vytvořeným bílkem.....	38
Obr. 20: Postup měření.....	44
Obr. 21: Ukázka přiloženého dokumentu Data.xls.....	45
Obr. 22: GUI – Prohlížeč obrázků.....	46

Obr. 23: GUI – Panel nástrojů.....	46
Obr. 24: MR snímek slepičího embrya – obecný popis (koronární řez).....	48
Obr. 25: MR snímek slepičího embrya – mozek.....	49
Obr. 26: MR snímek slepičího embrya – zrakový orgán.....	50
Obr. 27: MR snímek slepičího embrya – srdce, játra, žaludek.....	51
Obr. 28: MR snímek slepičího embrya – somity a artefakty.....	52
Obr. 29: Sled čtyř obrazů váhovaných hustotou protonových jader.....	56
Obr. 30: Sled čtyř T ₂ – vážených obrazů.....	56
Obr. 31: Nastavení průměrování: na hodnotu 1 (vlevo), na hodnotu 3 (vpravo).....	57
Obr. 32: Využití možnosti „zkosení“ na fantomu žele_2.....	59

Úvod

Diplomová práce se zprvu zabývá problematikou spojenou se zobrazovacími systémy magnetické rezonance, jejíž základní teoretické principy jsou popsány v první kapitole. V další navazující kapitole jsou popsány bazální pulzní sekvence, ale taktéž pokročilé pulzní sekvence, jejichž úkolem je hlavně zrychlení celého procesu. Teoretické znalosti týkající se pulzních sekvencí jsou poté promítnuty v praktické části diplomové práce, kde je nutné volit optimální pulzní sekvence a akviziční parametry tak, aby na výsledném snímku z MR byly co nejlépe pozorovatelné anatomické struktury zobrazovaného předmětu zájmu. Součástí druhé kapitoly je obecný rozbor základních parametrů pulzních sekvencí, z nichž většina byla v rámci měření upravována tak, aby bylo dosaženo co nejlepších výsledků.

V následující části práce je popsán embryonální vývoj slepičího embrya od vzniku zárodku až po 21. den inkubace čili líhnutí. U každého dne je možno nalézt, v jaké fázi vývoje se embryo nalézá, čím je vyživováno a jaké struktury je možno právě pozorovat. Vliv na embryonální vývoj zárodku může mít mnoho faktorů, které jsou v rámci této kapitoly taktéž uvedeny.

Pátá kapitola je věnována udržování a monitorování teploty uvnitř vejce. Ústav přístrojové techniky nabízí dva systémy pro vyhřívání prostoru uvnitř magnetické rezonance. Prvním z nich je vodní lázeň, kterou je vyhříváno lůžko, na němž je pozorovaný objekt umístěn. Jde o soustavu hadiček, v nichž proudí ohříváná voda produkovaná čerpadlem umístěným ve vedlejší místnosti než je MR. Druhým systémem je přístroj tvořený ze dvou hlavních komponent – ventilátorového a ohřevného modulu. Princip spočívá v dodání chladného vzduchu prostřednictvím ventilátorového modulu do ohřevného modulu, odkud již proudí vzduch s předem zvolenou teplotou dovnitř magnetické rezonance. V experimentu byly využity čtyři metody pro zachování ideální teploty, které spočívaly v kombinaci zmiňovaných systémů. Výsledky byly graficky zpracovány a vyhodnoceny.

Dále se práce zabývá návrhem a realizací fantomu. Součástí fantomu je již zmiňovaný předmět zájmu, kterým je slepičí embryo nacházející se uvnitř vejce. Fantom také obsahuje umělé či původní vaječné struktury, kterými disponuje klasické vejce. V rámci experimentu bylo vytvořeno několik fantomů, které sloužili pro MR měření. Uvnitř skořápky, která byla porušena chemickou reakcí uhličitanu vápenatého a kyseliny octové, se nacházel původní vaječný žloutek, slepičí embryo a umělá imitace vaječného bílku. Umělý bílek byl vytvořen třemi odlišnými způsoby využívající různé chemikálie. Podle nich byly poté příslušné fantomy pojmenovány. Veškeré postupy při tvorbě fantomu jsou popsány a graficky znázorněny v páté kapitole.

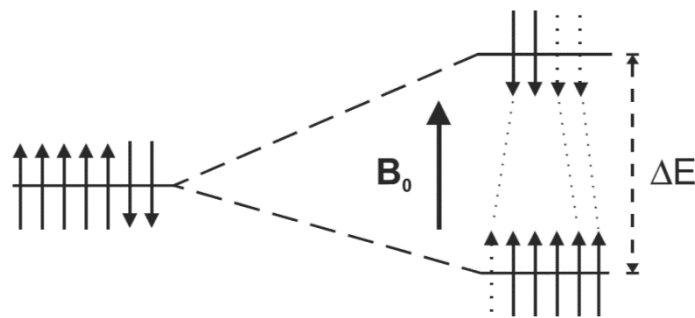
Osmá kapitola otevírá téma výběru optimální pulzní sekvence a akvizčních parametrů pro MR měření realizovaných fantomů. V této kapitole je také popsán postup, jaký byl dodržován při a před každým měřením.

V rámci diplomové práce bylo vytvořeno grafické uživatelské rozhraní (GUI), které slouží jako prohlížeč obdržených snímků z magnetické rezonance. Každý uživatel si může v rámci nabídky zvolit pulzní sekvenci a typ fantomu, načež je mu umožněno shlédnout sadu pořízených snímků z MR. U všech snímků slepičího embrya jsou uvedeny parametry, které byly při měření nastaveny.

V posledních dvou kapitolách je diplomová práce zaměřena na popis a diskusi anatomických struktur slepičího embrya. Popis anatomických struktur připomíná jednoduchý anatomický atlas, na kterém jsou vyobrazeny struktury zárodku, které je možno na pořízených MR snímcích zaznamenat. Diskuse je věnována jak vývoji a popisu anatomických struktur, tak pulzním sekvencím, které jsou charakteristické vícečetným echo signálem. Stručně jsou zde popsány výhody průměrování a nakonec jsou také diskutovány všechny snímky nacházející se v *Prohlížeči obrázků* (GUI).

1. Základní principy magnetické rezonance

Při technice zobrazování zvané magnetická rezonance (MR) jde v principu o sledování fyzikálních jevů atomových jader. Je možno využít pouze atomů, které mají lichá protonová čísla. Tyto atomy totiž disponují veličinami nazývanými magnetický moment a spin. Při znalosti hodnoty spinu lze určit tzv. multiplicita, pomocí níž je možno zjistit, v kolika orientacích se může proton určitého atomu vyskytovat. Pro rekonstrukci obrazu z MR je nejčastěji využíváno jader atomů vodíku, jejichž zastoupení je v lidském těle nejhojnější. Spin atomu vodíku nabývá hodnot $\pm 1/2$ a orientace po vložení do magnetického pole je buď paralelní, nebo antiparalelní vůči tomuto externímu magnetickému poli a to v závislosti, na jaké energetické hladině se nacházejí [1], [2].



Obr. 1: Zastoupení částic na různých energetických hladinách, převzato z [1]

Přesný počet protonů na každé energetické hladině se řídí podle Boltzmanovy distribuce [1]:

$$N_{\text{vyšší}}/N_{\text{nižší}} = e^{-\Delta E/kT}, \quad (1)$$

kde $N_{\text{vyšší}}$ a $N_{\text{nižší}}$ udává počet protonů na vyšší nebo nižší energetické hladině, ΔE vyjadřuje rozdíl energií mezi těmito hladinami (jak je zřejmé z Obr. 1), který závisí na síle magnetického pole, T je teplota těla udávaná v Kelvinech a k Boltzmanova konstanta rovna $1,381 \cdot 10^{-23} \text{JK}^{-1}$. Tato rovnice vyjadřuje, že zastoupení protonů na vyšší nebo nižší energetické hladině závisí rozdílu energií ΔE mezi hladinami a teplotě T [1].

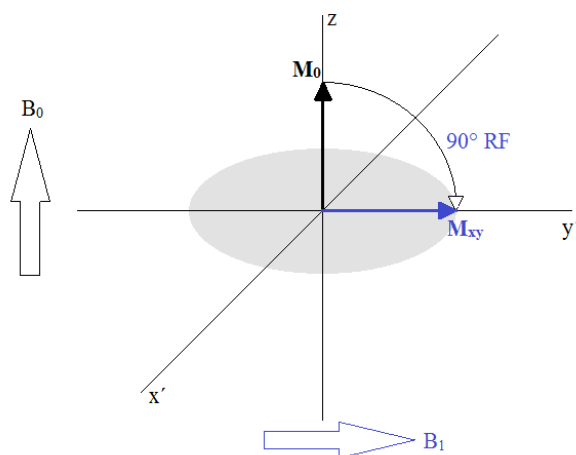
Ve skutečnosti se v silném magnetickém poli staví více protonů do paralelní polohy, rovnoběžně se siločarami magnetického pole, což je z hlediska MRI velmi významné. Tento stav je méně energeticky náročný oproti stavu antiparalelnímu, ve kterém se nachází méně částic. Při působení magnetického pole vykazují protony dva druhy pohybů – kolem své osy (spin) a precesní pohyb (opisující plášť kužele). Druhý z nich

vykonává pohyb s tzv. Larmorovou (precesní) frekvencí danou jak silou působení magnetického pole, tak gyromagnetickým poměrem. Tuto skutečnost popisuje Larmorova rovnice [2]:

$$\omega_0 = \gamma \cdot B_0, \quad (2)$$

kde γ reprezentuje gyromagnetický poměr, který je charakterizován pro každý izotop a B_0 homogenní magnetické pole. Čím větší je konstanta vyjadřující gyromagnetický poměr a síla externího magnetického pole, tím větší je citlivost MRI měření [2].

Pouhá rotace protonu a jeho precesní pohyb v magnetickém poli však nestačí k praktickému využití magnetické rezonance pro zkoumání tkání a orgánů. Aby bylo možno získat signál pro zpracování obrazu, je nutné vychýlit vektor magnetizace z podélné (longitudinální) polohy rovnoběžné s působením externího magnetického pole B_0 do příčné (transverzální) polohy B_1 . Ke změně magnetizace dojde po předání energie protonu prostřednictvím radiofrekvenčního (RF) pulzu, jehož frekvence se musí shodovat s Larmorovou frekvencí protonů, neboli musí spolu rezonovat. Graficky je tato problematika znázorněna na Obr. 2 [1], [2].



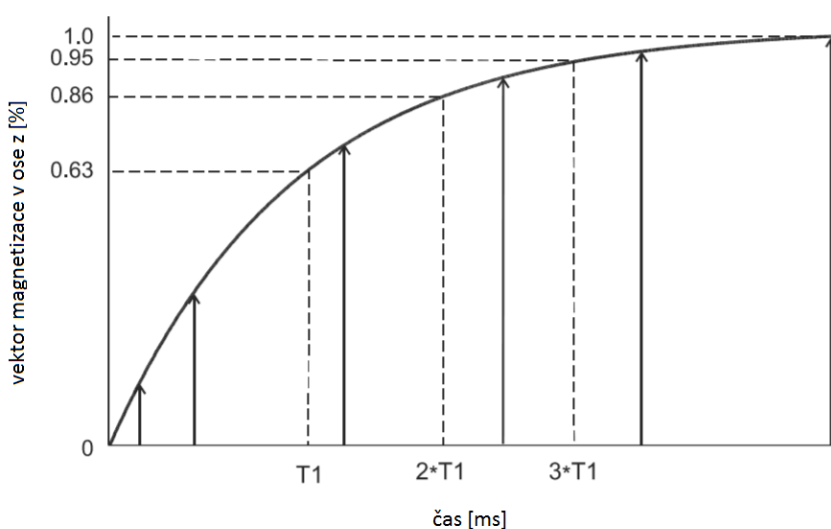
Obr. 2: Sklápění vektoru magnetizace v závislosti na RF pulzu

Aplikací RF pulzu protony absorbují část energie, čímž emitují do vyšších energetických stavů. Zároveň dochází k tzv. deexcitaci, při níž jsou protony nacházející se na vyšší energetické hladině stimulovány k uvolnění energie a klesají na nižší hladinu. Díky vyzáření nadbytečné energie lze na přijímači (cívce) zaznamenat tzv. FID – volně indukovaný signál, popř. echo signál (viz. kap. 1.2). V závislosti na těchto procesech se sníží množství podélné magnetizace. V neposlední řadě dochází k synchronizaci pohybu protonů, jež vykonávají precesní pohyb po dobu působení RF pulzu ve fázi. V případě, že je vysílán pulz dostatečně dlouhou dobu s vhodnou amplitudou, absorbovaná energie dovolí původnímu vektoru magnetizace (podélné) otočit se do příčné roviny, výsledkem je

90° RF pulz. Po vypnutí vysílače dochází k návratu protonů do rovnovážné polohy a asynchronizaci pohybu protonů (ztráta fáze), tento proces je nazýván relaxace [1], [2].

1.1 Relaxační mechanismy

V praxi jsou rozlišovány dva typy relaxačních mechanismů. Prvním z nich nazývaná T_1 relaxace (označovaná také jako spin-mřížková interakce) vystihuje fázi, kdy dochází k návratu protonů do podélné roviny po působení excitačním pulzem. Přesněji jde o čas potřebný k dosažení 63% podélné magnetizace charakterizován konstantou T_1 . Graficky je tento proces vyjádřen na Obr. 3, kde je naznačeno, že po čase T_1 je magnetizace na 63% své původní hodnoty. Dále je zde vyobrazeno, že po působení tří T_1 period je podélná magnetizace na 95% své počáteční hodnoty před působením RF pulzu [1].

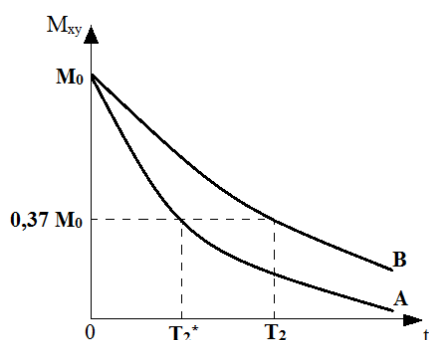


Obr. 3: Návrat do podélné magnetizace za časovou jednotku, převzato a upraveno z [1]

Pro různé tkáně se T_1 liší a to v závislosti na mnoha faktorech jako viskozita prostředí, hustota a velikost protonových jader, teplota a další. Obecně platí, že tukové tkáně mají díky jinému chemickému složení kratší relaxační čas T_1 . Naopak tomu je u tkání obsahující více vody, jelikož rezonanční frekvence pro vodu je vyšší, tudíž i precesní pohyb protonů v takové tkáni je rychlejší. Předávání energie okolí není tak efektivní a trvá déle, což se projevuje delší relaxační konstantou T_1 . S rostoucí silou vnějšího magnetického pole se T_1 zvyšuje a to právě kvůli rychlejšímu precesnímu pohybu protonů, pro které je předání energie okolí a návrat do nižších energetických hladin obtížnější.

Druhým relaxačním mechanismem je T_2 relaxace neboli spin-spinová interakce. Tento děj je projevem postupné ztráty fázové soudržnosti. Ta je dána dvěma faktory: nehomogenitou externího magnetického pole a lokálního pole částic chemického okolí. Konkrétně se jedná o pohyby protonů vlivem molekulových vibrací a rotací. Konstanta T_2 pak charakterizuje rychlost spin-spinové interakce, která odpovídá době, při které je

dosaženo 37% původní velikosti vektoru příčné magnetizace. U tkání obsahující zvýšené množství molekul vody kolísá jejich lokální magnetické pole rychle, dojde k jeho zprůměrování a výsledkem jsou pouze malé rozdíly tohoto pole. To má za následek větší homogenitu, což se projeví delší fázovou koherencí protonových jader. T_2 relaxace u takových typů tkáně poté trvá déle. Kdežto u tukových tkání (větší molekuly) jsou rozdíly v lokálních magnetických polích výraznější. Rozdíly precesních frekvencí jader jsou následně větší a protony ztrácejí fázovou soudržnost rychleji a T_2 je kratší. Vytrácející se fázová koherence je zapříčiněna nehomogenitami magnetických polí, následkem těchto jevů dochází k úplnému rozfázování a ztrátě příčné magnetizace [1], [3].



Obr. 4: Rozdíl relaxačních křivek v závislosti na homogenitě magnetických polí, převzato a upraveno z [3]

Další relaxací vysvětlující působení obou nehomogenit magnetických polí (vnějšího i lokálního) je T_2^* relaxace. Na grafickém znázornění (Obr. 4) lze křivku T_2^* pozorovat v podobě křivky A a relaxaci T_2 pak odpovídá křivka B. Křivka charakterizující T_2 relaxaci předpokládá dokonalou homogenitu, naproti tomu křivka T_2^* uvažuje nehomogenní působení magnetických polí. Pokud je při MR snímání využito tzv. gradientních polí (viz. níže) je zaváděna efektivní relaxační doba T_2^{**} . Je nutné také poznamenat, že T_1 trvá obecně déle než T_2 . Detailnějších rozdílů si lze povšimnout v Tab. 1, kde je čas T_1 měřen ve dvou různých magnetických polích o různých velikostech (0,5 T a 1,5 T), čímž je demonstrováno jak vyšší T_1 s rostoucí velikostí síly magnetického pole, tak důkaz, že je doba trvání T_1 mnohem větší než T_2 [3].

Tab. 1: T_1/T_2 relaxační doby pro různé tkáně, převzato a upraveno z [3]

TKÁŇ	T_1 při 0,5 T [ms]	T_1 při 1,5 T [ms]	T_2 [ms]
Tuk	210	260	80
Játra	350	500	40
Sval	550	870	45
Bílá hmota mozková	500	780	90
Šedá hmota mozková	650	900	100
Mozkomíšni mok	1800	2400	160

1.2 Zisk signálu

Působením RF pulzu dochází ke změnám, které lze pozorovat pouze, pokud je v blízkosti umístěn přijímač (cívka), který dokáže zaznamenat indukovaný proud s Larmorovou frekvencí ω_0 . Tento proud je převeden na signál, který odpovídá velikosti vektoru magnetizace, avšak klesá exponenciálně v důsledku transverzální magnetizace T_2^* . Takový signál nesoucí zkratku FID (z anglického Free Induction Decay) je nazýván jako volně indukovaný signál. Lze ho popsat rovnicí příčné magnetizace M_{xy} závislé na čase t (3), jejíž členy dokazují závislost FID signálu na původním vektoru magnetizace v podélném směru M_0 , na časové konstantě T_2^* , se kterou exponenciálně klesá, a na Larmorově frekvenci ω_0 , kterou disponuje harmonický signál, dokud nedojde k jeho definitivnímu útlumu [3].

$$FID \approx M_{xy}(t) = M_0 \cdot e^{-\frac{t}{T_2^*}} \cdot (\cos \omega_0 \cdot t). \quad (3)$$

1.3 Magnetický gradient, rekonstrukce obrazu

Při umístění předmětu zájmu do gantry magnetické rezonance na něj začne působit silné magnetické pole, což nutí jádra protonů realizovat precesní pohyb se stejnou – Larmorovou frekvencí. Pro rekonstrukci obrazu, jež má charakterizovat a diferencovat typy tkání, patologie, atd., je třeba pozměnit frekvence protonů v určitém řezu, které jsou následně přijímány a zpracovávány. Tímto způsobem je možno odlišit jednotlivé struktury. Prakticky je nutné aplikovat gradientové cívky, které jsou schopny působením mag. pole a vyslaného impulsu o určité frekvenci zajistit excitaci požadovaných protonů v určitém řezu. Jinými slovy se také jedná o hlasité bouchání, které je možno zaznamenat při měření MR, které je generováno gradientními pulzy. Ty jsou aplikovány z důvodu zaznamenávání prostorových frekvencí, které přispívají k rekonstrukci výsledného obrazu. Na rozdíl od stálého působení vnějšího pole hlavního magnetu, gradienty nemusí být stále přítomny. Gradienty taktéž pomáhají utvářet pulzní sekvence. Rozlišovány jsou tři hlavní gradienty [7].

1.3.1 Fázi kódující gradient (phase encoding gradient)

Fázové kódování spočívá ve změně fáze protonů konajících precesní pohyb a zachování distribuované fáze i po skončení aplikace gradientu. To znamená, že při předpokladu, že jsou všechny spiny ve fázi a je aplikován frekvenci určující gradient, tak se precesní pohyb jader zrychlí nebo zpomalí (záleží na poloze vůči směru působení gradientu, vyšší frekvenci budou mít jádra, na něž působí větší intenzita gradientního pole). Po zastavení působení gradientu se jádra opět vrací na svou původní frekvenci, avšak nekonají precesní pohyb ve fázi, neboli dojde k rozfázování a jádra nejsou nadále ve fázi, jako tomu bylo na začátku. Tyto fázové změny přetrvávají až do chvíle, kdy je

aplikován jiný gradient nebo dokud nedojde k úpadku MR signálu díky T2 relaxaci [7], [26].

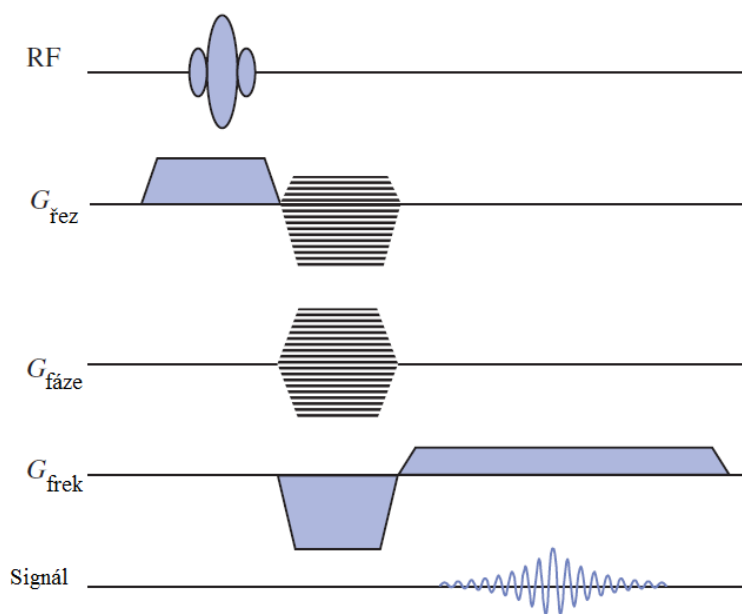
1.3.2 Frekvenci kódující gradient (frequency encoding gradient)

Dalším důležitým gradientem udávající prostorovou informaci jednotlivých struktur je frekvenci určující gradient aplikovaný kolmo na osu z (dlouhou osu předmětu zájmu). Při představě řezu tkáně způsobí, že v jednotlivých sloupcích nebudou protony konat pohyb se stejnou frekvencí. Velikost frekvence závisí na intenzitě působení gradientu. Gradient, jež určuje frekvenci, je přítomen ve stejné době jako je měřen MR signál [7], [26].

1.3.3 Gradient pro určení roviny řezu (slice selecting gradient)

V neposlední řadě je zapotřebí zmínit gradient, který je zodpovědný za výběr roviny řezu. Je aplikován během působení RF pulzu podél osy z , tudíž jako první ze všech gradientů. Rezonanční frekvence jednotlivých protonů je dána intenzitou tohoto gradientu, jež na protony působí. Regulovat lze též pomocí tohoto gradientu tloušťku řezu [7], [26].

Důležité je spojit dohromady první dva způsoby kódování, neboť jejich kombinací vznikají dva na sebe kolmé směry, pomocí nichž lze získat povědomí o prostorových frekvencích, z nichž je možné tvořit obraz. Výsledkem kombinace frekvenčního a fázového kódování vzniká matice, kde vodorovná osa reprezentuje frekvenční kódování a svislá fázové kódování. Na Obr. 5 je vyobrazena časová souslednost jednotlivých gradientů [7].



Obr. 5: Posloupnost u gradientů, převzato a upraveno z [7]

1.4 Rekonstrukce obrazu

Nezbytnými komponenty pro rekonstrukci obrazu jsou gradienty, prostřednictvím kterých jsou získávána data. Jak již bylo zmíněno v předchozí kapitole, frekvenční a fázové kódování tvoří matici neboli k -prostor. To znamená, že každý voxel matice bude určen pomocí fázového kódování (řádky) a frekvenčního kódování (sloupce).

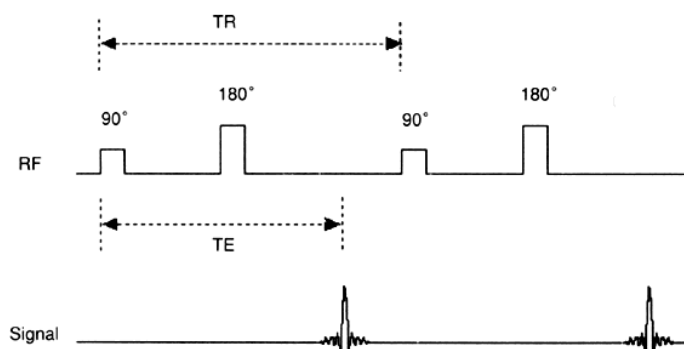
Ačkoliv k -prostor i výsledný obraz mají stejnou maticovou velikost, pixely si vzájemně přesně neodpovídají. To je dáno inverzní 2D Fourierovou transformací, kterou je zprostředkována rekonstrukce obrazu. Každý bod z k -prostoru vyjadřuje určitou složku prostorové frekvence. Středovou oblast tohoto prostoru tvoří nízké prostorové frekvence, které jsou pro výslednou scénu nejpodstatnější, jelikož nesou informace o SNR a kontrastu. Okrajové oblasti k -prostoru, jež tvoří vysoké prostorové frekvence, jsou také důležité, neboť obsahují informace o rozlišení, tzn. detailech a hranách. Pokud by byla data rekonstruována pouze ze středu k -prostoru, byl by obraz velmi rozmazaný. Na druhou stranu, pokud by se zrekonstruovala data ze zbytku k -prostoru (bez středu), obraz by měl velmi nízký SNR a neobsahoval by informaci o kontrastu. Proto se nedá říci, že pro rekonstrukci kvalitního MRI obrazu postačí pouze jedna z těchto částí k -prostoru [7].

2. Pulzní sekvence

Finální verzi obrazu z magnetické rezonance lze velmi jednoduše ovlivnit prostřednictvím vhodně volených excitačních a refokusačních pulzů. Pokud se tyto budící pulzy periodicky opakují, hovoří se o pulzních sekvencích. V následující kapitole budou některé z nich detailněji popsány.

2.1 Spin echo pulzní sekvence

Pro názornost jsou na Obr. 6 vystihnuty dvě periody spin echo (SE) pulzní sekvence, kde parametr TR vyjadřuje repetiční čas, který vystihuje dobu mezi dvěma po sobě jdoucími excitačními pulzy. Parametr TE (neboli zpoždění signálu) vystihuje dobu od 90° RF pulzu, po které je možno detekovat výsledný signál s ohledem na zpoždění.



Obr. 6: Schématické znázornění spin echo pulzní sekvence, převzato z [4]

Tato sekvence je charakteristická počátečním 90° RF pulzem, prostřednictvím kterého dojde k transversální magnetizaci a fázové koherenci protonů. Aby nedocházelo k návratu do původní polohy, je po uplynutí $TE/2$ aplikován jeden nebo více refokusačních 180° RF pulzů, což má za výsledek opačný precesní pohyb protonů. Vzniká tzv. echo, které je detekováno a převáděno na výsledný signál [1], [3], [5].

2.1.1 Váhování obrazu

Při správné aplikaci RF pulzů je detekován signál, který je navíc možno váhovat. Ve většině případů se využívá váhování parametry T_1, T_2 a hustotou protonových jader.

Z Tab. 2 lze vypožorovat následující:

1. Při krátkém TR a TE je výsledný obraz nazýván T_1 – vážený
2. Při dlouhém TR a TE je výsledný obraz nazýván T_2 – vážený
3. Při dlouhém TR a krátkém TE je výsledný obraz bude váhován hustotou protonových jader $N(H)$

Tab. 2: Tabulka vážených obrazů v závislosti na velikosti parametrů TR a TE, převzato a upraveno z [3]

Vážený obraz	TR [ms]	TE [ms]
T_1	krátké	krátké
T_2	dlouhé	dlouhé
$N(H)$	dlouhé	krátké

Ze znalostí vyplývajících tentokrát z Tab. 1 je známo, že tkáně vykazující zvýšené množství vody (např. šedá hmota mozková) mají delší T_1 i T_2 oproti ostatním tkáním. Ve výsledku to znamená, že na T_1 – váženém obraze se bude jevit tato tkáň jako tmavá a naopak světlá na T_2 – váženém obraze. Pro tuk je situace opačná. Hodnota T_1 i T_2 je u struktur obsahujících tuk kratší oproti ostatním tkáním, tudíž se v T_1 – váženém obraze zdá světlý a v T_2 – váženém obraze spíše šedý [1], [3], [5].

Vliv na zobrazovanou scénu mají také kontrastní látky (KL) používané během MRI vyšetření. Využívány jsou paramagnetické látky, které ovlivňují jádra vodíku, čímž snižují jejich relaxační časy. Konkrétně nejvíce užívanou KL při zobrazování struktur mozku je gadolinium, které snižuje relaxační časy T_1 a T_2 protonů. Paramagnetické látky urychlují relaxaci longitudinální složky magnetizace, což se projeví zvýšením signálu na T_1 – vážených obrazech v oblastech distribuované KL [1].

2.2 IR pulzní sekvence

Pod touto zkratkou IR (z anglického Inversion Recovery) se skrývá opačný sled pulzů než v předchozím případě. Jde o excitační 180° RF pulz vyvolávající inverzi do longitudinální magnetizace v opačném směru než je směr působícího vnějšího magnetického pole. Po čase TI (inverzní čas), který představuje dobu od začátku budícího pulzu po další pulz, následuje 90° RF pulz, jež způsobí transverzální magnetizaci, která je snímána přijímací cívkou. Pokud dochází k rychlejšímu návratu do podélné magnetizace, znamená to kratší relaxační čas T_1 , který je typický pro tkáně obsahující tuk. Velikost výsledného FID signálu bude tedy závislá na vzájemné velikosti TI a T_1 [3], [5].

2.3 SR pulzní sekvence

Pulzní sekvence SR (z anglického Saturation Recovery) je dána opakovanou aplikací 90° RF pulzů. Výsledný obraz získaný pomocí této pulzní sekvence závisí na vhodné volbě parametru TR a TE. Po aplikaci prvního excitačního pulzu dojde ke klasickému sklopení magnetizace do příčné polohy, po dobu TR dochází k návratu do podélné magnetizace. Pokud je tato doba dostatečně dlouhá ($TR \gg T_1$) a dojde k návratu do rovnovážného stavu, relaxované protony jsou tzv. saturovány. Nyní je nasnadě získat

FID signál, ten je však možno obdržet až po časovém intervalu zpoždění echa TE a to na základě následující rovnice [3]:

$$S \approx N(H) \cdot \left(e^{-\frac{TE}{T_2^*}} \right) \cdot \left(1 - \frac{TR}{T_1} \right), \quad (4)$$

kde S značí velikost signálu a $N(H)$ hustotu protonových jader.

Faktem tedy je, že pokud je zvoleno dlouhé TR a co možná nejkratší TE, je FID signál úměrný hustotě protonových jader a jen málo závislý na T_1 . Příhodnou volbou TE je možno obdržet obraz závislý jak na T_1 tak na T_2^* . Jestliže dojde k rozdílné situaci, kdy TR i TE budou krátké, čímž dojde k pouze částečné saturaci protonů, bude výsledný obraz tzv. T_1 – vážený [3], [5].

2.4 Gradientní echo (GE) pulzní sekvence

Technika GE se v zásadě liší od metody využívající spin echo ve dvou základních věcech: působení gradientního pole pro získání echo signálu a úhel excitačního RF pulzu menší než 90° . Užití gradientních polí má za následek rozfázování a následné sfázování FID signálu. Aplikace takových gradientů přináší mnoho výhod i nevýhod. Mezi největší výhodou se řadí úspora času a to díky ideálně zvolenému úhlu, pod kterým se aplikuje excitační RF pulz, respektive kratší doba TR. Ještě k větší úspoře času dochází při využití tzv. Multislice loop, kde je za jednu dobu TR pořízeno více řezů než jeden. Navíc je pacient vystaven menší radiofrekvenční zátěži. U této techniky lze využívat také kontrastních látek pro vylepšení kvality snímku.

Mezi nevýhody se řadí výskyt nepříznivých jevů, jež jsou způsobeny nehomogenitou vnějšího magnetického pole B_0 a rozdíly magnetické susceptibility, vedoucí ke zhoršení výsledného signálu.

Základní princip tedy nejprve spočívá v aplikaci budícího pulzu pod určitým úhlem (excitační úhel), následně v aplikaci prvního gradientu nutného k rozfázování signálu a finálně druhého gradientu o stejné velikosti avšak opačné polaritě pro opětovné sfázování. Tímto mechanismem je docíleno vzniku echo signálu, který je na výstupu snímán [3], [5].

Výsledný signál může být různě váhován v závislosti na zvolených parametrech. Definovat to lze podle následující rovnice [3]:

$$S \approx N(H) \cdot \left(e^{-\frac{TE}{T_2^*}} \right) \cdot \left(1 - e^{-\frac{TR}{T_1}} \right) \cdot \left[\frac{\sin \theta}{1 - \cos \theta \cdot e^{-\frac{TR}{T_1}}} \right], \quad (5)$$

jak vyplývá z rovnice, u techniky GE má T_2^* vliv na váhování obrazu, který definuje postupné potlačení příčné magnetizace, nicméně T_2^* je ovlivněno změnami v T_2 ,

tudíž se T_2 také podílí na výsledném obrazu, i když tak z rovnice nevyplývá. V Tab. 3 jsou uvedeny dva parametry (θ , TR, TE), které ovlivňují výslednou váhu obrazu následovně [1].

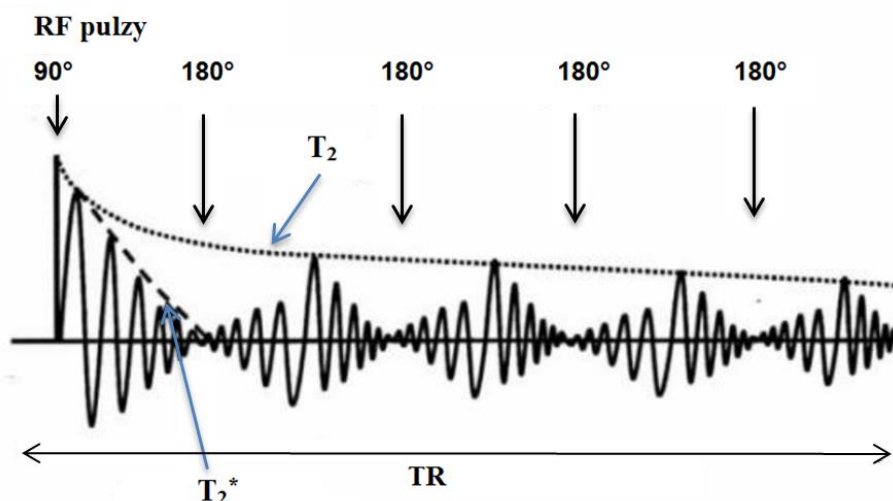
Tab. 3: Závislost akvizčních parametrů na váhování signálu [1]

Váhování signálu	Excitační úhel θ [°]	TR [ms]	TE [ms]
N(H)	Malý (15 - 20)	Dlouhý (500)	Krátký (<10)
T₁	Větší (>80)	Krátký (100 - 150)	Krátký (15 - 20)
T₂*	Malý (15 - 20)	Krátký (500)	Dlouhý (25 - 30)

2.5 Další pulzní sekvence

- **Carr-Purcellova (CP) pulzní sekvence**

Jednou z odnoží spin echo pulzních sekvencí je CP pulzní sekvence, prostřednictvím které je aplikován počáteční 90° a několik dalších 180° RF pulzů. To má za následek vznik echo signálů, pomocí nichž je vytvářen výsledný obraz. Faktem je, že postačující je pouze aplikace jedné takové sekvence k vytvoření několika obrazů. Z Obr. 7 lze upozornit, že výsledný echo signál je závislý na hodnotě T_2 [7].



Obr. 7: Carr-Purcell (CP) pulzní sekvence, převzato a upraveno z [6]

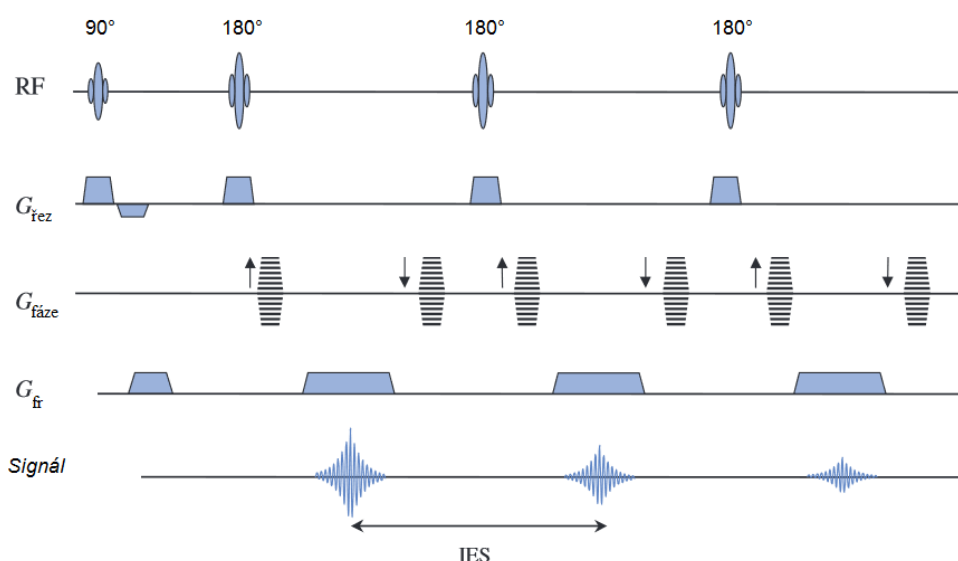
- **Carr-Purcell a Meiboom-Gill (CPMG) pulzní sekvence**

Modifikace předchozí sekvence dala za vznik CPMG pulsní sekvenci, která řeší problém spojený s obtížným dosažením 180° RF pulzu. Zprvu je obdobně aplikován 90° RF pulz ve směru osy x, následně je však užit 180° RF pulz v rovině y. Poté jsou aplikovány další refokusační 180° RF pulzy, které dají za vznik odpovídajícím echo

signálům. Přijímaný echo signál je však opět zaznamenáván ve stejném směru působení jako u klasické SE sekvence [3], [7].

- **RARE (Rapid Acquisition with Relaxation Enhancement)**

Tento druh pulsní sekvence se řadí do skupiny spin echo sekvencí. Existuje další varianty (FSE, TSE) vyjadřující stejný druh sekvence lišící se pouze v názvu uváděným určitou společností. Úkolem těchto sekvencí označovaných taktéž jako Turbo spin echo je pochopitelně zrychlit celý proces, a to s využitím jednoho klasického 90° RF pulzu a více po sobě jdoucích refokusačních pulzů zpravidla o velikosti 180° . Po aplikaci těchto pulzů jsou obdrženy echo signály, které jsou využity k získání více řádků dat z celé k -rovinu. Každý z těchto echo signálů má jiné fázové kódování, jak je zřejmé z Obr. 8 [7].



Obr. 8: RARE s třemi 180° refokusačními pulzy, převzato a upraveno z [7]

Na vertikální ose obrázku je vyjádřena amplituda, na horizontální čas. G_{rez} charakterizuje gradient pro výběr řezu, G_{faze} fázově kódující gradient a G_{fr} frekvenčně kódující gradient. IES vychází z anglického Inter Echo Spacing, jež vyjadřuje dobu mezi jednotlivými echo signály (většinou stálá hodnota) [7].

Obdobně jako u SE sekvencí mohou vznikat T_1 , T_2 vážené obrazy či obrazy váhované hustotou protonových jader $N(H)$. K získání T_1 váženého obrazu je třeba nastavit parametr TR relativně krátký a malý počet použitých echo signálů [5].

- **FLASH a TurboFLASH**

Zkratka FLASH, pocházející z anglického Fast Low Angle Shot, vyjadřuje aplikaci rychlých sekvencí s nízkými sklápěcími úhly. Patří do skupiny GE pulsních sekvencí, tudíž je na výstupu očekáván echo signál. Tuto zkratku využívá u svých přístrojů firma Siemens, dále se lze setkat se zkratkou SPGR (od firmy General Electric), jejíž účel je stejný. FLASH sekvence jsou modifikovány tak, aby potlačily příčnou složku magnetizace

v rovnovážném stavu. Toho lze docílit několika způsoby. Jedním z nich je tzv. gradientní spoiler, díky němuž je dosaženo ztráty příčné magnetizace prostřednictvím prostorově závislého fázového posunu. Další možností, jak docílit fázového posunu, je využití RF spoiling, jež má za následek obdobný efekt jako gradientní spoiler. Třetí variantou je vhodná volba TR. Tyto sekvence mohou vytvářet obraz váhován hustotou protonových jader N(H) nebo T_1 nebo T_2^* vážený obraz, a to mnohem rychleji v porovnání se spin echo sekvencemi, nicméně se tento charakter sekvence může projevit na kvalitě obrazu, která je následně snížena [8].

Modifikací této gradientní sekvence na TurboFLASH jsou vytvářeny výsledné obrazy velmi rychle, načež je možno také získat trojrozměrný obraz, který lze využít například pro tvorbu ozařovacího plánu v radioterapii. TurboFLASH je opět specifický název pulsní sekvence pouze pro MR od firmy Siemens. Tato ultrarychlá gradientní echo sekvence využívá velmi krátkých časů TR a nízký sklápěcí úhel. Takto zvolené parametry mají však nepříznivý vliv na výsledný kontrast obrazu, proto je nejprve aplikován tzv. přípravný 180° RF pulz pro vylepšení kvality obrazu a získání T_1 váženého obrazu. Pro obdržení T_2 váženého obrazu je třeba změnit přípravné pulzy na 90° - 180° - 90° , kde první dvojice pulzů zajistí vznik T_2 váženého spin echa a druhý 90° RF pulz se postará převrácení signálu do osy z. Váhování obrazu je ovlivněno dobou TI, která charakterizuje uplynulou dobu mezi přípravným pulzem a aplikací vlastní zvolené sekvence. Užití těchto sekvencí je vhodné zejména při zobrazování srdce, kde lze vzhledem k srdečnímu cyklu získat adekvátní časové rozlišení [8].

2.6 Rozbor základních parametrů pulzních sekvencí

Ekvivalentem pro stanovení kvality obrazu je brán poměr mezi signálem šumem (SNR). Ke změně tohoto poměru dochází při detailnější úpravě nastavení. Konkrétně se jedná o nastavení [20]:

- **Velikosti pixelu** (dané velikostí zobrazovacího pole (FOV) a rozměrem akviziční matice), při změně FOV a zachování rozměru matice se SNR mění kvadraticky, stejně to platí i pro nezměněné FOV a nárůst/pokles rozměru matice. Například 2-krát zvětšené FOV znamená čtyřnásobný SNR oproti původnímu a zmenšení plochy matice na $\frac{1}{4}$ (stran pixelu na $\frac{1}{2}$) vede k poklesu na 25 % SNR [20].
- **Tloušťky vrstvy** – s jejím nárůstem souvisejícím s větším výskytem spinů, se SNR přímo úměrně zvyšuje. Avšak při nadsazení tohoto parametru může dojít k rozmazání obrazu z důvodu působení efektu částečného objemu [20].
- **Voxelu** (dán součinem velikosti pixelu a tloušťky vrstvy), platí zde lineární závislost, tzn. větší objem voxelu (4-krát) = vyšší SNR (4-krát). Omezení velikosti voxelu jsou dány vyšetřovanou oblastí a velikostí RF cívky. Obecně

platí, že čím menší cívka nacházející se okolo vyšetřované oblasti, tím vyšší SNR. Taktéž se uvádí, že příznivý vliv na SNR má menší vzdálenost mezi cívkou a vyšetřovanou oblastí. Proto existuje řada cívek určených například pro vyšetření hlavy, kolene, ramene, atd. [20].

- **Šířky pásma (BW)** – SNR je nepřímo úměrný druhé odmocnině BW. Šířka pásma je spojena s dobou snímání echo signálu, kde taktéž platí nepřímá úměra. U běžných sekvencí (např. TSE) je doporučený parametr BW 130 Hz/pixel, u ještě rychlejších sekvencích (např. SE EPI) se BW pohybuje okolo 1200 Hz/pixel. Bylo by tedy nasnadě volit BW co možná nejmenší na úkor času. Nicméně může v takových situacích dojít k tzv. chemical shift artefact (posunu signálu tuku vůči vodě a to i o několik pixelů) [20].
- **Časových parametrů** (jako jsou TR, TE, TI) – mají vliv nejen na kvalitu obrazu (tedy SNR), ale i na kontrast. U základní SE sekvence se pro vytvoření T_1 váženého obrazu doporučuje volit TR v rozptylu od 400 do 700 ms (při $TR < 400$ dochází k poklesu signálu z důvodu krátkého času pro T_1 relaxaci tkání). Parametr TE je závislý na BW a volí se 10 – 20 ms [20].
- **Průměrování** – slouží k potlačení náhodného šumu, avšak na úkor doby měření. SNR pak roste s odmocninou tohoto průměrování. Tzn., že při průměrování nastaveném na hodnotu 16 se SNR zvýší 4-krát, nicméně doba měření se 16-krát prodlouží [20].
- **Počtu řádků k-prostoru** – logicky lze usoudit, že čím více je naměřeno signálů, tím lepší bude SNR (přesněji roste s odmocninou řádků k-prostoru). Z důvodu časové úspory je v praxi potřeba tyto řádky snižovat prostřednictvím několika technik: **redukce rozlišení, redukce FOV, částečný Fourier, PAT**. Všechny tyto metody jsou ovšem spojeny se snižováním SNR [20].

Nicméně i při vysokém SNR je nutné, aby měl obraz dostatečný kontrast pro rozlišení zdravých tkání či patologií.

3. Embryonální vývoj slepičího zárodku a faktory, které jej ovlivňují

3.1 Embryonální vývoj

Počáteční vývoj slepičího embrya začíná ještě před snesením vejce ve vejcovodu slepice. Během prvního stádia vývoje nazývaného *embryogeneze*, dochází k přeměně prvotní zygoty na morulu až po závěrečnou formu – gastrulu, kterou je ukončeno první stádium embryonálního vývoje. Tato etapa trvá přibližně 6 dní. Následuje druhé stádium – *organogeneze*, které trvá přibližně 11 dní, během něhož dochází k vývinu všech orgánů a dalších struktur. V této fázi je nejdůležitější udržovat vnější podmínky, které ovlivňují další vývoj embrya. Proces tvorby nového jedince je ukončen třetím stádiem – *líhnutím* trvajícím 3 – 4 dny. Celý vývoj zárodka až po vylíhnutí kuřete trvá 20 – 21 dní. [21], [22].

Popis embryonálního vývoje slepičího zárodka je přehledně znázorněn v Tab. 4 – Tab. 14.

Tab. 4: Tvorba vejce [23]

0.DEN					
0	0,3	3	5	23	24
Časová osa [hod]					
Ovulace oocytu →Oplození Žloutek je obalen hustým chalázovým bílkem	Obalování žloutku 4 vrstvami bílku	Tvorba podskořápečných membrán	Tvorba skořápky	Snesení vejce	
Oplození vajíčka		Zygota	Morula → Blastula → Gastrula (ektoderm + endoderm)		
L a t e b r á l n í v ý ž i v a					
EMBRYOGENEZE					

Tab. 5: První den inkubace [21], [22]

		1.DEN (hmotnost embrya 0,2 mg)				
		Časová osa [hod]				
		4	6	18	21	24
Latentní fáze zárodek se nevyvíjí nebo umírá (může trvat i několik dní při nízké teplotě)	Primitivní proužek	Hensenův uzel (pro vývin těla a hlavy)		↑ mezoderm	Chorda dorsalis – struna hřbetní Párové segmenty = somity (po 24 hod. 1 – 2 somity)	
	INKUBACE					
Latebrální výživa						
EMBRYOGENEZE						

Somity neboli prvosegmenty se vyvíjí z mezodermy a postupnou přeměnou dávají za vznik svalstvu a pojivové tkáni [21].

Tab. 6: Druhý den inkubace [21], [22]

		2.DEN (velikost embrya 4 – 5 mm, hmotnost 3 mg)			
		Časová osa [hod]			
		0	6	12	24
Činnost srdce zahájena První extraembryonální krevní oběh	Vyvinut cévní systém (průměr krev. systému 6 – 8 mm) 7 – 8 párů somitů	25 – 30 párů somitů Mozkové a oční váčky		Hlava se pokládá levou stranou na žloutek Vytváření alantois	
INKUBACE					
Latebrální výživa			Žloutková výživa		
EMBRYOGENEZE					

Embryo má v prvních dnech vývoje srdce a krevní oběh mimo tělo. Fungování tohoto mimotělního oběhu je zajištěno prostřednictvím *žloutkového vaku* (zárodečný obal), který taktéž slouží k příjmu živin ze žloutku. Dalším zárodečným obalem je *alantois*, ve kterém se uchovávají výměšky. Prostřednictvím alantois je také zajištěna respirace a trávení [21].

Tab. 7: Třetí a čtvrtý den inkubace [21], [22]

3.DEN (velikost embrya 9 – 12 mm, hmotnost 21 mg)		4.DEN (hmotnost 52 mg)	
Rozlišitelný oblouk hlavy, trup, mozek	Amnion pokrývá embryo	Vznik chorioalantois → resorpce Ca, respirace	Hlava se stáčí k dutině břišní
Dutina břišní otevřena (srdce mimo)	Počátek pigmentace očí	Jednokomorové srdce se mění ve dvoukomorové	Viditelná ústní prohlubenina a čočka
Základy končetin	Končetiny ve tvaru ploutví	Základ končetin větší než křídel	Rozšiřování končetin na konci
INKUBACE			
Ž l o u t k o v á v ý ž i v a			
EMBRYOGENEZE			

Dalším zárodečným obalem je *amnion*, který zabraňuje poškození embrya při otřesech. Uvnitř se nachází amniotická tekutina, která dává embryu možnost pohybu. Čtvrtým zárodečným obalem je chorion, který všechny obaly obklopuje a postupně srůstá s alantois, čímž se vytváří chorioalantois (nadále umožňuje funkce, které plnil alantois) [21].

Tab. 8: Pátý a šestý den inkubace [21], [22]

5.DEN (hmotnost 130 g)		6.DEN (hmotnost 260 mg)
Tvorba střev, žaludku, ledvin, jater	50 % hlavy tvoří oči	Pozorovatelné pohyby embrya
Diferenciace pohl. orgánů	Rozrůstání alantois ke skořápce	Tvorba zobáku a prstů
Prodłużování krku	Vznik čelistí	Dochází ke zmenšení středního mozkového váčku → změna tvaru hlavy
Diferenciace prstů, konce končetin se zužují	Zárodek se ponořuje do žloutku	
Lze pozorovat mozek umístěný na hlavě		
INKUBACE		
Ž l o u t k o v á v ý ž i v a		
EMBRYOGENEZE		

Tab. 9: Sedmý a osmý den inkubace [21], [22]

7.DEN (hmotnost 500 mg)		8.DEN (hmotnost 1000 mg)	
Hlava má v poměru k tělu maximální velikost Prodlužování zobáku Objevují se nosní dírký	Krk je dlouhý, oči vypouklé Formuje se loketní záhyb Prodlužování prostředního prstu křídla	Začíná se tvořit peří Zobák delší a zlehka ohnutý (bílá tečka na konci) Mozek se nachází v hlavové oblasti	Dýchání atmosférického kyslíku (pomocí alantoidních cév)
INKUBACE			
Ž l o u t k o v á v ý ž i v a		B í l k o v á v ý ž i v a	
ORGANOGENEZE			

Tab. 10: Devátý až jedenáctý den inkubace [21], [22]

9.DEN (hmotnost 1,6 g)	10.DEN (hmotnost 2,4 g)	11.DEN (hmotnost 3,5 g)
Vývin ledvin, plic, jater. Vznik chrupavčitých kostí		
Oční víčka dosahují okraje duhovky Alantois obklopuje téměř celý vnitřní povrch skořápky Horní končetiny se formují do tvaru křídel	Oční víčka dosahují zorniček Rozlišitelné prsty, vyvíjí se drápy a nozdry	Víčko tvoří úzkou štěrbinu nad zorničkou (ztenčuje se) Na hřebínku se začínají objevovat vroubky Drápy viditelné Úbytek žloutku
INKUBACE		
B í l k o v á v ý ž i v a		
ORGANOGENEZE		

Tab. 11: Dvanáctý až čtrnáctý den inkubace [21], [22]

12. DEN (hmotnost 5,6 g)	13.DEN (hmotnost 7 g)	14.DEN (hmotnost 9 g)
Oči zahaleny víčky Celé tělo pokryto chmýřím (kromě hlavy) Špička zobáku začíná rohovatět	Začíná kalcifikace kostí Chmýří i na hlavě Růst hrbolku nad zobákem	Pozorovatelné záhyby kůže na chodidlech a šupiny na přední části běháků
Embryo se natáčí k tupému konci vejce (hlava směřuje pod pravé křídlo)		
INKUBACE		
B í l k o v á v ý ž i v a		
ORGANOGENEZE		

Tab. 12: Patnáctý a šestnáctý den inkubace [21], [22]

15.DEN (hmotnost 12 g)	16.DEN (hmotnost 15 g)
Konec funkce původních ledvin Tenké střevo vtaženo do dutiny břišní Žloutku i bílku ubývá Záhyby kůže na zadní části běháků	Pravé ledviny jsou plně funkční Bílek vstřebán , začíná se vtahovat žloutkový vak do dutiny břišní Specializace orgánů a postupné zahajování jejich činnosti Nohy se prodlužují
INKUBACE	
B í l k o v á v ý ž i v a	
ORGANOGENEZE	

Tab. 13: Sedmnáctý až devatenáctý den inkubace [21], [22]

17.DEN (hmotnost 18 g)	18.DEN (hmotnost 22 g)	19.DEN (hmotnost 26 g)
Ukončování vývinu všech orgánů, embryo začíná dýchat plicemi, pokračuje vtahování žloutkového vaku		
Běháky a prsty jsou pokryty šupinami Bílá skvrna nyní obklopuje horní část zobáku Ledvinový systém plní svou funkci naplno Bílek je zcela resorbován	Otevírání očí Ubývá množství amniotické tekutiny	Oči otevřeny Žloutek vtažen Chorioalantois atrofuje, amniová tekutina mizí
	Zánik alantoidního krevního oběhu (sloužil jako dýchací a vyživovací systém)	
INKUBACE		
B í l k o v á v ý ž i v a	Využití kyslíku ze vzduchové komory	
ORGANOGENEZE	LÍHNUTÍ	

Tab. 14: Dvacátý a jednadvacátý den inkubace a vylíhnutí [21], [22]

20.DEN (hmotnost 32 g)	21.DEN
Protrhnutí podskořápečných blan Naklovávání skořápky v místě vzduchové komory na tupém konci vejce Samovolné dýchání plicemi – je slyšitelné pípání	Posun je zajištěn torzním pohybem trupu pomocí končetin, zubem proklouvává skořápku Po několika hodinách dochází k vylíhnutí
INKUBACE	
Využití kyslíku ze vzduchové komory	
LÍHNUTÍ	

3.2 Faktory ovlivňující embryonální vývoj

Inkubační faktory, které mají největší vliv na vývoj, jsou: teplota, vlhkost vzduchu, větrání, ochlazování a otáčení vejce. Další důležité prvky ovlivňující vývoj a existenci jsou samotná manipulace s vejcem, skladování, počáteční uložení vejce, atd. [21], [22].

- **Teplota** – ideální teplota, při které by měla být vejce s embryi udržována, je 37,8 °C. Pokud je vejce po snesení přenášeno do inkubačního zařízení, dochází k ochlazení a embryo se dostává do tzv. latenentní fáze, kdy je vývoj pozastaven. Vývojový proces je opět aktivován při teplotě dosahující téměř 38 °C. Při teplotách vyšších dochází k odumírání zárodků (deformace srdce, jater, žaludku). Od 14. dne vývoje embrya nemá vnější teplota téměř žádný vliv, neboť se začíná vyvíjet vlastní termoregulační systém. I přesto může vlivem nevhodné extrémní teploty docházet k špatnému vtažení žloutkového vaku při líhnutí a celkově zrození slabých jedinců [21], [22].
- **Vlhkost vzduchu** – je neméně důležitým faktorem, který ovlivňuje jak látkovou výměnu či regulaci dodávání živin, tak výměnu plynů a tepla skrz skořápku. V tzv. předlíhni, kde je vejce s embryem uloženo prvních 18 dnů, se vlhkost udržuje na 60 – 64 % a v posledních třech dnech (tzv. dolíheň) je vzdušná vlhkost nastavena na 90 % a více. Při překročení těchto prahů (zvláště v předlíhni) je výsledkem zmenšení vzduchové komory a zpožděný proces líhnutí, naopak při nedodržení minimálních limitů se vzduchová komora zvětšuje a může docházet k úhynu embryí [21], [22].
- **Přísun vzduchu** – zvláště pak kyslíku, který by měl být zastoupen minimálně z 20 %. Z důvodu nedodržení dostatečného přísunu kyslíku dochází k odumírání zárodku. S tím souvisí také cirkulace vzduchu, která musí být zajištěna. Ta je doprovázena ochlazováním vejce, které však v únosnou dobu nemá vliv na vývoj embrya v žádné fázi vývoje [21], [22].
- **Otáčení vejce** – v dnešní době je tento proces plně mechanizován prostřednictvím počítače, který přesně vyhodnocuje proudění vzduchu a další aspekty, pomocí nichž volí stupeň naklonění, ten by neměl být méně než 45°. Při nedodržení správného rytmu a sklonu dochází k úhynu embrya, neboť žloutek má tendenci stále stoupat ve vejci nahoru (vysoký obsah lipidů). Z toho důvodu pak může docházet k adhezi zárodku ke skořápce a následnému odumření zárodku [21], [22].

4. Využití technické vybavení laboratoře NMR na ÚPT

4.1 Magnetická rezonance

Pro realizaci experimentu byl využit 9.4T MR systém Bruker Biospec 94/30. Jedná se o víceúčelovou magnetickou rezonanci s vysokým rozlišením pro 2- nebo 3-dimenzionální rekonstrukci obrazu. Síla magnetického pole je 9,4 T, protonová rezonanční frekvence 400 MHz a vnitřní průměr pracovního tunelu může být až 300 mm. Ovládání MR se děje prostřednictvím konzole programu ParaVision 5.1.

4.2 Vysokofrekvenční cívky

Při měření byla využita povrchová cívka od firmy Bruker s označením RF SUC 400 1H ID=10 LIN RO. Jak název napovídá, jedná se o povrchovou (SUC) vysokofrekvenční (RF) cívku, která slouží pouze jako přijímač (RO) pro detekci vodíkových jader. Jako vysílač slouží při tomto zapojení cívka objemová. Vnitřní průměr prstencové cívky je 10 mm, její polarizace je lineární a další vlastností je integrovaný předzesilovač. Využití povrchových cívek přináší lepší citlivost a výsledný signál [17], [18].

První testovací měření však byla také prováděna se standardními objemovými RF cívkami (o vnitřním průměru 60 mm), které mohou být součástí MR. Tyto cívky můžou fungovat jako přijímače i vysílače.

5. Udržování a monitorování teploty během měření

Tato část práce je zaměřena více prakticky a to na způsoby, jakými lze na Ústavu přístrojové techniky (ÚPT) v Brně vytvořit, zachovat a sledovat ideální teplotu při měření slepičích vajec v magnetické rezonanci.

5.1 Nastavení počáteční teploty

Prvním krokem je nastavení iniciační teploty, na kterou budou vejce zahřáta. To se uskutečňuje v přístroji od firmy POL-ECO APARATURA[®]. Jedná se o Termostat ST1/A/40, jehož objem je 67 l a rozsah teplot dovoluje od 3 do 40 °C (viz. Obr. 9). Součástí je externí displej, jenž ukazuje teplotu uvnitř termostatu a čas. Je důležité, aby vejce měla opravdu požadovanou teplotu, což může být poměrně časově náročné (4 – 5 hodin).



Obr. 9: Termostat ST1/A/40

5.2 Snímání teploty

K určení teploty v tomto případě slouží monitorovací systém ERT Modul Model 1030 od firmy SA Instruments, Inc. s rektální sondou typu RTP-102-B (Obr. 10). Jedná se o termistor, jež dokáže monitorovat teplotu v rozsahu 10 – 70 °C s přesností $\pm 0,2$ °C. Tato sonda je umístěna přímo dovnitř vejce při minimálním poškození skořápky. Výsledky jsou přenášeny do počítače a zobrazeny pomocí PC-SAM softwaru, který nabízí kromě monitorování teploty i další biologické signály (např. respirace, EKG průběh) při zapojení příslušných sond.



Obr. 10: Rektální sonda RTP-102-B (vlevo) a ERT Modul Model 1030 (vpravo)

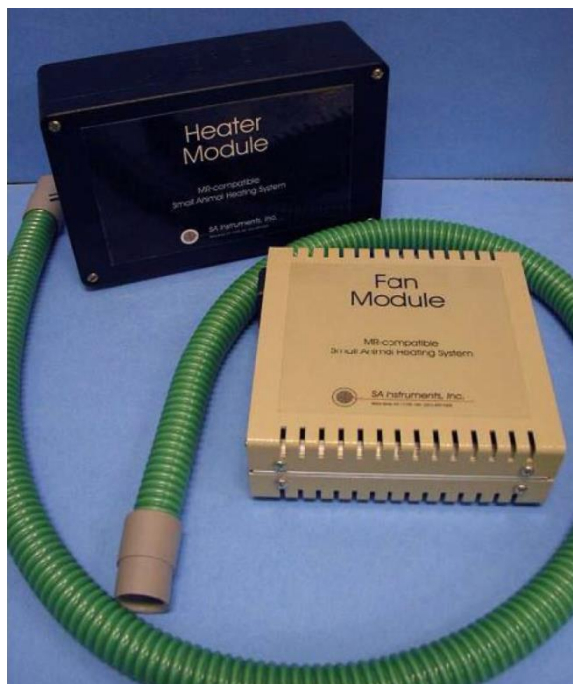
5.3 Udržování teploty v magnetické rezonanci

ÚPT nabízí dvě možnosti, jak udržovat požadovanou teplotu uvnitř objektu magnetické rezonance. První z nich je čerpadlo, jež vytápí vodní lázeň – Thermo Scientific Haake DC10-P5/U (viz Obr. 11). Součástí čerpadla jsou 2 hadičky s různým průměrem (8 a 12 mm), které jsou přivedeny na lůžko, kde je umístěn sledovaný objekt. Teplota je kontrolována bezrtuťovým teploměrem s rozsahem 0 – 100 °C s odchylkou 0,5 °C. Voda cirkulující okolo lůžka je však neustále ochlazována vnějším prostředím, tudíž hodnota uvedená na displeji neodpovídá požadované teplotě sledovaného objektu [10].



Obr. 11: Čerpadlo pro vytápění vodní lázně

Druhou možností, jak udržovat teplotu na hodnotě, která je vyžadována, je pomocí systému pro ohřev vzduchu od firmy SA Instruments, Inc. znázorněného na Obr. 12. Ventilátorový modul dodává chladný vzduch z místnosti do ohřívacího modulu nacházející se v blízkosti gantry MR [11].



Obr. 12: Ventilátorový (bílý), ohřívací (černý) modul, převzato a upraveno z [11]

Tato metoda udržování požadované teploty má nevýhodu v možném vysoušení zkoumaných objektů (tomu lze v tomto případě předejít pokrytím vejce ubrouskem). Další nevýhodou je prakticky nemožné současné vložení vzduchové trubice a zkoumaného objektu dovnitř MR. Proto je v takovém případě vzduchová hadice umístěna v nejtěsnější blízkosti (cca 10 cm od vejce).

5.4 Příprava vejce pro měření teploty

Šetrnou destrukcí skořápky pro snazší zavádění snímače teploty byla zvolena chemická reakce uhličitanu vápenatého (jež tvoří 89 – 97% složení skořápky vejce) a kyseliny octové, která je nejdůležitější složkou octu. Chemickým výsledkem rovnice je octan vápenatý, oxid uhličitý a voda.



Prakticky byla ponořena špička vejce v octu po dobu přibližně 24 hodin. Přínosným efektem pro tento experiment je tedy odvápnění skořápky a zviditelnění podskořápečné blány, kterou lze jednoduše porušit ostrým předmětem a aplikovat sondu pro měření teploty uvnitř vejce [12].

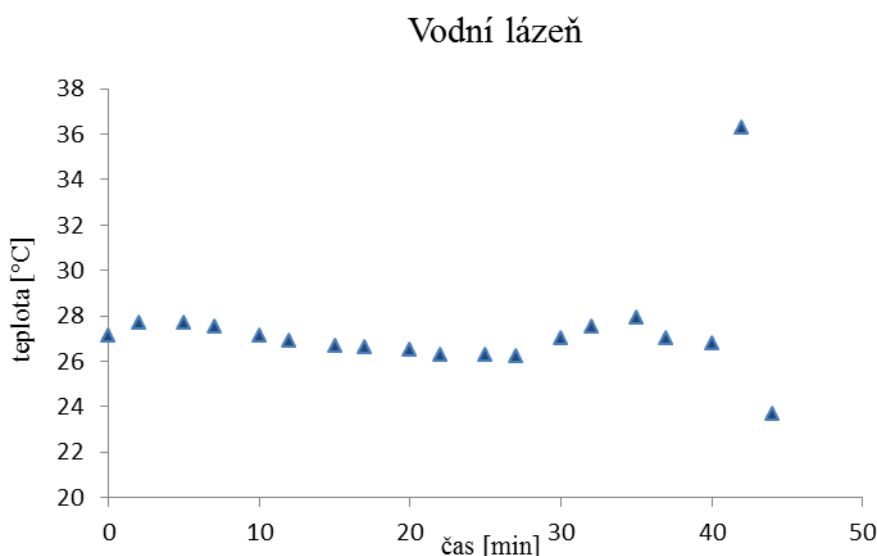
5.5 Zpracování naměřených dat

Pro zjištění optimálních podmínek pro udržení teploty byly vyzkoušeny čtyři varianty:

I. Udržování teploty pomocí vodní lázně

Princip této metody byl zmíněn již výše. Lůžko, na kterém je umístěn pozorovaný předmět, bylo předem vyhřáto pomocí systému cirkulující kapaliny. Ohřev vody, která posléze proudí dále k lůžku, byl nastaven na 60°C. Tato teplota není nijak extrémní, jelikož voda uvnitř systému je neustále ochlazována okolím. Po dosažení této teploty je vejce připraveno ke snímání teploty uvnitř magnetické rezonance.

Při těchto podmínkách byla teplota snímána po dobu 45 minut. Výsledky jsou zaznamenány v Graf 1.

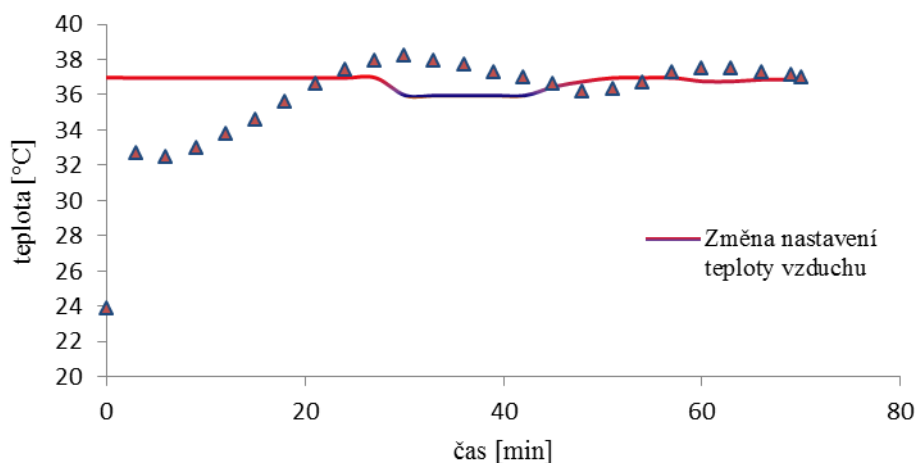


Graf 1: Závislosti teploty v čase při zahřívání pomocí vodní lázně

II. Udržování požadované teploty pomocí vodní lázně a cirkulace vzduchu

Při tomto experimentu bylo využito obou systémů pro udržování teploty. Lůžko, na kterém se nachází zkoumaný předmět, bylo předem vyhřáto prostřednictvím vodní lázně. Po celou dobu měření, tzn. 70 minut, byl systém pro ohřev vody nastaven stejně jako v předchozím případě na 60°C. Vyhřívání pomocí cirkulace vzduchu však byla v průběhu experimentu účelně měněna v závislosti na aktuální teplotě vejce. V Graf 2 je tento průběh naznačen červeno-modrou spojnicí. Pokud tedy teplota uvnitř vejce stoupla na příliš vysokou teplotu (např. v 30. minutě na 38,2°C), byla teplota pomocí ovládacího panelu v počítači snížena na 36°C, naopak jestliže teplota vejce začala klesat, nastavení vyhřívání pomocí vzduchu bylo zvýšeno o určitou hodnotu.

Vodní lázeň a vzduch

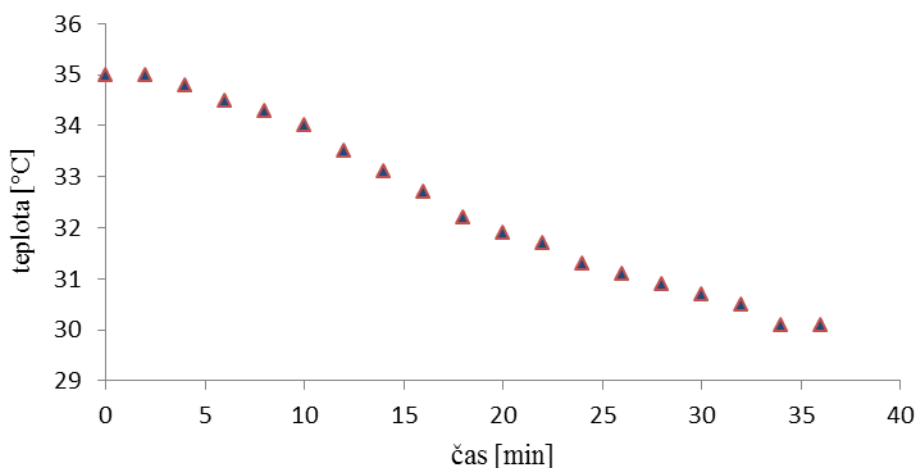


Graf 2: Závislosti teploty v čase při zahřívání pomocí vodní lázně a cirkulace vzduchu

III. Udržování teploty pomocí vodní lázně při počátečním vyhřátí pomocí cirkulace vzduchu

Třetí variantou, jak udržet optimální teplotu předmětu zájmu, je před samotným umístěním vejce do magnetické rezonance předehřát prostor uvnitř MR pomocí teplého proudícího vzduchu. Trubice byla v tomto případě lépe umístěna a vzduch tak mohl proudit rovnoměrně. Teplota vzduchu byla nastavena na 37°C po dobu 15 minut. Zároveň bylo nahříváno i lůžko standardně jako v předchozích dvou případech. Před vložením vejce do MR byla vzduchová trubice vyjmuta a dále již byla teplota vejce udržována pouze prostřednictvím vodní lázně.

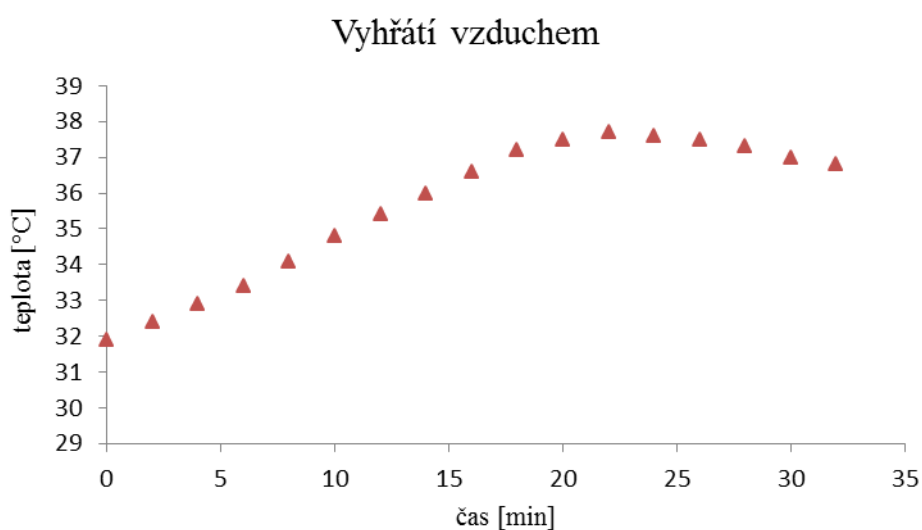
Vyhřátí vzduchem a vodní lázeň



Graf 3: Závislost teploty v čase při zahřívání pomocí vodní lázně (při předehřátí pomocí cirkulace vzduchu)

IV. Udržování teploty pomocí cirkulace vzduchu

V posledním případě bylo zvoleno k udržení teploty pouze proudícího vzduchu. Při tomto experimentu byl prostor magnetické rezonance předehřát pomocí obou systémů, nicméně došlo k jeho ochlazení při výměně lůžka (dále vyhříváno není). Taktéž došlo ke snížení teploty uvnitř vejce (cca o $0,4^{\circ}\text{C}$). Teplota cirkulujícího vzduchu byla na počátku nastavena na 37°C . V průběhu experimentu (v 31. minutě) došlo k výraznému zvýšení teploty na $37,6^{\circ}\text{C}$, to asociovalo snížení teploty proudícího vzduchu na $36,8^{\circ}\text{C}$, která byla ponechána až do konce měření.



Graf 4: Závislosti teploty v čase při zahřívání pomocí cirkulace vzduchu (předehřátí pomocí vodní lázně)

5.6 Výsledky měření

Na začátku experimentu byla vejce zahřáta v termostatu na teplotu 37°C . Důvodem zkoumání optimální metody, je nalézt nejlepší možnou metodu, která je schopná udržet teplotu vejce na požadované hodnotě 37°C .

Při použití první metody udržování teploty pomocí cirkulující teplé vody se teplota uvnitř vejce pohybuje v rozmezí mezi $18,3 - 37,3^{\circ}\text{C}$, průměrná teplota je $27,1^{\circ}\text{C}$. K prudkému zvýšení teplot ve 42. minutě docházelo kvůli zahájení zkušební snímkování a aplikaci pulzních sekvencí. Teplota dosahovala hodnot v blízkosti požadované (37°C), avšak pouze po dobu, kdy byla MR v aktivním provozu. Ve výsledku se první metoda udržování teploty pomocí cirkulující teplé vody jeví jako nedostačující, jelikož se nepodařilo udržet teplotu uvnitř vejce na požadované hodnotě.

Výsledky teplot obdržené pomocí druhé metody, jež spojuje kombinaci obou systémů pro udržování teploty, se pohybují v rozmezí $23,6 - 38,2^{\circ}\text{C}$ a průměrná teplota je 36°C . Je zřejmé, že využití ohřívání teplým vzduchem přispělo ke zvýšení teploty uvnitř

vejce. Avšak i při nastavení teploty vzduchu na 37 °C a aktivního vyhřívání lůžka pomocí cirkulace vody teplota uvnitř vejce stoupla ve 30. minutě na 38,2°C. Jakmile teplota dosáhla hodnoty vyšší než 38 °C, bylo zapotřebí ji snížit prostřednictvím snížení teploty přiváděného vzduchu do MR. Takto byla teplota regulována ještě pětkrát. Metoda spojení obou systémů se potvrdila jako velmi dobrá, jelikož teplotu lze operativně měnit podle potřeby a to s poměrně malým zpožděním. Nicméně nelze z této metody posoudit, do jaké míry teplotu ovlivňuje zahřívání pomocí vodní lázně.

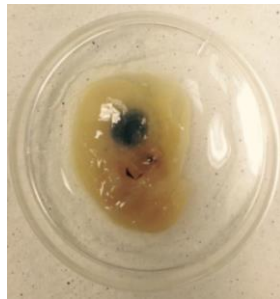
Díky třetí variantě se opět potvrdila nedostatečnost při udržování teploty pouze prostřednictvím lůžka vyhřívávaného cirkulující teplou vodou. Téměř lineární pokles teploty vejce poukazuje na klesající teplotu uvnitř MR po vyjmutí ohřívání teplým vzduchem. Hodnoty teplot se během třetího experimentu se pohybují v rozmezí 20,3 – 35,1 °C, průměrná teplota je 30 °C.

Poslední metoda vylučuje vyhřívání pomocí vodní lázně. To má nepříznivý vliv na ochlazení celého prostoru kolem vejce i jeho samotného. Za necelou půl hodinu se teplota vejce dostala na požadovanou hodnotu a nadále s jemnými změnami nastavení teploty vzduchu byla na této hodnotě udržována. Po dobu čtvrtého experimentu se teplota pohybovala v rozmezí 31,9 – 37,7 °C s průměrnou teplotou 36 °C.

Jako ideální se jeví druhá metoda, která využívá oba systémy pro ohřívání zkoumaného objektu, díky níž se poměrně rychle dostane teplota uvnitř vejce na požadovanou hodnotu. Celý experiment je však provázen detaily, které mohou vézt k ovlivnění výsledných hodnot. Jedná se hlavně o zajištění počáteční teploty uvnitř vejce v termostatu. Teplotu uvnitř vejce lze totiž sledovat až na lůžko magnetické rezonance. K drobným změnám teploty může docházet i při přesunu vejce z termostatu na lůžko či při aplikaci teploměru dovnitř vejce. Další chybou při porovnávání jednotlivých metod je rozdíl v době snímání teploty při jednotlivých měření.

6. Návrh testovacího fantomu a fantomu „umělé“ vejce

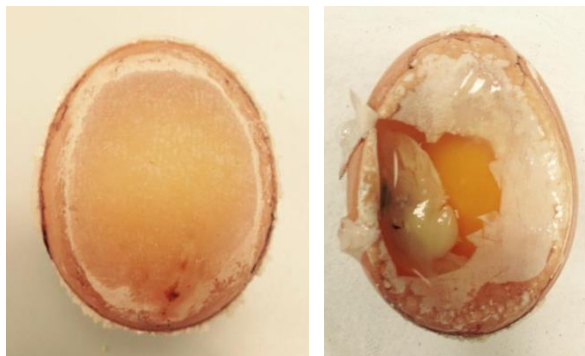
Tato kapitola se zabývá návrhem a realizací testovacího fantomu, na kterém budou prováděna měření. Základem všech fantomů popsaných v této práci je slepičí embryo, které bylo poskytnuto ÚPT (Obr. 13). Embryo bylo zafixované (tudíž neživé) a jeho stáří nebylo předem známo. Práce s embryem vyžaduje velmi jemnou manipulaci, aby nedošlo k poškození zárodečných obalů, kterými je zárodek obklopen. Snahou je udržet embryo a žloutek uprostřed vejce, aby nedocházelo k adhezi zárodka ke skořápce. To v přirozeném stavu vykonávají tzv. chalázy neboli proteinová poutka [13].



Obr. 13: Zafixované slepičí embryo ve fyziologickém roztoku

6.1 Testovací fantom – neoplozené vejce

Nezákladnějším a nejjednodušším způsobem je využití klasického vejce, které neobsahuje embryo, neboť nebylo oplozeno, a do takového vejce embryo implantovat. Nejdříve je nutné porušit skořápku tak, aby nedošlo k vylití struktur, jež tvoří vejce. K tomu je opět vhodná metoda, která využívá reakce kyseliny octové s vápenatou skořápkou vejce (Obr. 14).



Obr. 14: Odvápněná skořápka vejce (vlevo), implantované embryo uvnitř vejce (vpravo)

Pro přesné vložení embrya na žloutek vejce bylo třeba část bílku odsát. Poté již bylo možné připravené vejce vložit do magnetické rezonance a začít měřit.

6.2 „Umělé“ vejce jako fantom

Z důvodu lepší manipulace a přesnějšího umístění embrya na vaječný žloutek byl vytvořen návrh, jak vyrobit téměř „umělé“ vejce. Prakticky se jedná o využití chemických znalostí týkajících se vaječných struktur a jejich realizaci. Inspirace pro tento pokus byla brána v Číně, kde lidé vytvářeli tyto falešné produkty za záminkou většího zisku bez využití přirozených podmínek, které jsou pro vznik vejce nutné. Pro větší autentičnost byly do směsi pro výrobu vajec přidávány chemikálie, díky kterým umělá vejce chutnala jako vejce pravá. To však není pro tento experiment nutné, proto jsou využity pouze základní doporučené postupy z nalezených článků [14], [15], [16].

Postup výroby umělého vejce:

1. **Žloutek** – ze dvou variant byla zvolena méně náročná, tzn. separace obyčejného vaječného žloutku od bílku. Pro zpevnění žloutkové membrány byl žloutek umístěn do roztoku chloridu vápenatého a vody. Poté byl vaječný žloutek přenesen do roztoku alginátu sodného a vody. Krouživými pohyby vznikla po několika sekundách pevnější vrstva chránící žloutek.
2. **Bílek** – pro výrobu bílku byla využita želatina (popř. alginát sodný), která obsahuje velké množství aminokyselin (stejně jako skutečný vaječný bílek), navíc při správném zvolení poměru želatiny a teplé vody lze dosáhnout podobných vlastností hmoty, jakou má bílek.
3. Jakmile je na žloutku vytvořena jemná membrána, je žloutek obalen vytvořeným umělým bílkem. Dále je třeba prostřednictvím chloridu vápenatého zpevnit a vytvořit membránu okolo bílku. Před zahájením procesu zpevňování membrány je také množné přesně aplikovat embrya na žloutek a poté vytvořit kolem umělý bílek a nechat ztuhnout.
4. **Skořápka** – existují opět dvě varianty přístupu, buď využít obyčejnou pravou skořápku od slepičího vejce a vložit do ní vytvořené vejce. Nebo zvolit komplikovanější avšak přesnou metodu, kdy nebudou mezi membránou bílku vznikat vzduchové komůrky. Jedná se o výrobu vodní lázně s včelím voskem a uhličitanem vápenatým, ve které se vzniklé vejce smáčí.

7. Realizace fantomu – „umělé“ vejce

Při realizace fantomu bylo nejvíce dbáno na to, aby nedošlo k jakémukoliv poškození embrya. Tomu musely být přizpůsobeny veškeré zásahy při výrobě fantomu.

Na začátku realizace všech fantomů bylo využíváno poznatků o chemické reakci vápenaté skořápky a kyseliny octové. Tímto způsobem bylo zajištěno šetrné vniknutí dovnitř vejce a následná manipulace se strukturami, které se nacházejí pod skořápkou. Experimentálně bylo zjištěno, že pro snadnou a účelnou manipulaci s nově vzniklou odvápněnou skořápkou je optimální doba působení této reakce v rozmezí 30 – 40 hodin. Jako zdroj kyseliny octové byl pro všechny experimenty využíván Bzenecký ocet, kde je kyselina octová zastoupena v koncentraci 8 %. Vejce byla využita domácí i zakoupená v obchodních řetězcích. U kupovaných vajec byla zaručena nejvyšší jakost (tzv. vejce třídy A). Tato vejce musí podle Státní veterinární správy splňovat specifické jakostní znaky.

Druhým krokem pro tvorbu fantomu bylo vytvoření umělého bílku. Pro realizaci bílku byly využity tyto sloučeniny:

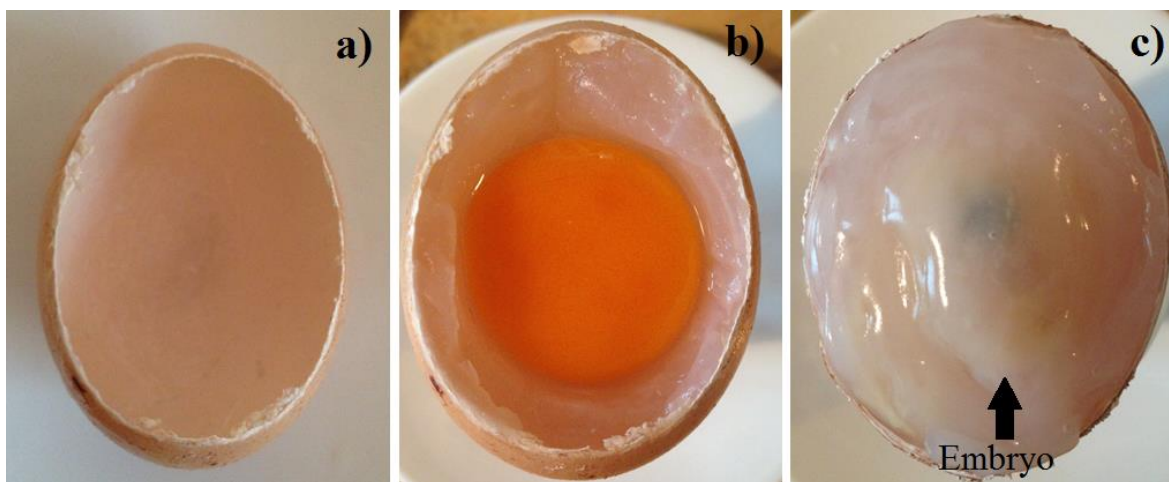
- I. Želé – od firmy RUF, E 407 a E 336
- II. Želatina – od firmy PENTA
- III. Alginát sodný – ve formě potravinářského prášku, E 401
a chlorid vápenatý – 36 % roztok

7.1 Fantom z želé a želatiny

Podobné experimenty nelze provádět s dalšíma dvěma sloučeninami. Při přípravě roztoků z želé či želatiny je nutné směs vody a těchto sloučenin ve formě prášku přivést k varu. A jak je známo, při kontaktu se vzduchem tyto směsi rychle chladnou a tuhnou. Aby ovšem došlo k vytvoření správného tvaru fantomu a zároveň nedošlo k poškození embrya horkou směsí, je nutné jednat rychle, přesně a připouštět značné množství kompromisů. Ty vedou například k tvorbě nežádoucích vzduchových bublin uvnitř embrya, které jsou ve výsledném MRI obraze nežádoucí. Zde se tedy projevuje výhoda, kterou disponuje roztok z alginátu sodného popsany níže.

Při přípravě prvního fantomu bylo *želé* hlavní složkou, neboť reprezentovalo uměle vytvořený bílek. Vaječný žloutek nebyl ničím nahrazován ani zpevňován, naopak bylo třeba z důvodu zvětšení prostoru pro embryo část odsát (asi 1/3 svého původního objemu). Aby se předešlo možnému poškození embrya při přímém a dlouhodobém kontaktu se žloutkem, bylo třeba aplikovat tenkou vrstvu želé mezi embryo a vaječný žloutek. Celkový postup při tvorbě tohoto fantomu z želé musel být rychlý, nepoškozující embryo a co nejvíce přesný. Na začátku byla k dispozici prázdná skořápka s otvorem umožňujícím

aplikaci struktur a embrya (Obr. 15 a)). Po uvaření byly 2/3 celkového množství želé vpraveny dovnitř skořápky, po chvíli byl nanesen dovnitř také žloutek, ze kterého byla následně odsáta přibližně třetina obsahu (Obr. 15 b)). Poté byla aplikována na žloutek tenká vrstva želé pomocí stříkačky (tedy umělého bílku). Po několika vteřinách, kdy došlo ke zchládnutí želé uvnitř vejce, bylo vloženo embryo, které bylo finálně pokryto vrstvou želé (Obr. 15 c)). Teplota želé se pohybovala okolo 40 °C, aby nedošlo k nežádoucímu poškození embrya. Takto připravený fantom byl uchováván v lednici při teplotě 4 – 5 °C.



Obr. 15: Realizace fantomu želé – a) prázdná skořápka s otvorem, b) 2/3 původního žloutku nanesené na spodní vrstvu želé c) výsledný fantom s embryem uvnitř (horní vrstva želé tvořící imitaci skutečného bílku)

Další fantom, jehož umělý bílek je vyráběn z želatiny, se osvědčil nejméně. Příprava tohoto fantomu byla podobná jako v předchozím případě. Největší problém avšak působily vzduchové bubliny, které se tvořily v průběhu vaření želatiny. Jejich eliminace nebyla téměř možná, z důvodu rychlého tuhnutí směsi. Jelikož nebylo možné docílit snížení teploty směsi tak, aby nezačala tuhnout, nebylo vhodné horkou směsí pokrývat embryo. Finální fantom se tedy skládal z prázdné skořápky, vaječného žloutku a embrya, které bylo nejprve pokryto vrstvou standardního vaječného bílku, aby nedošlo k jeho poškození. Následně tyto struktury obaloval uměle vytvořený bílek z želatiny. Výsledné snímky tohoto fantomu byly velmi nekvalitní a to zvláště z důvodu výskytu velkého množství vzduchových bublin, které se v jednotlivých řezech jevily jako tmavé skvrny. Proto obdržené snímky z MR nebyly zařazeny do *Prohlížeče obrázků* (GUI) a nejsou diskutovány v závěru diplomové práce.

7.2 Fantom z alginátu sodného a chloridu vápenatého

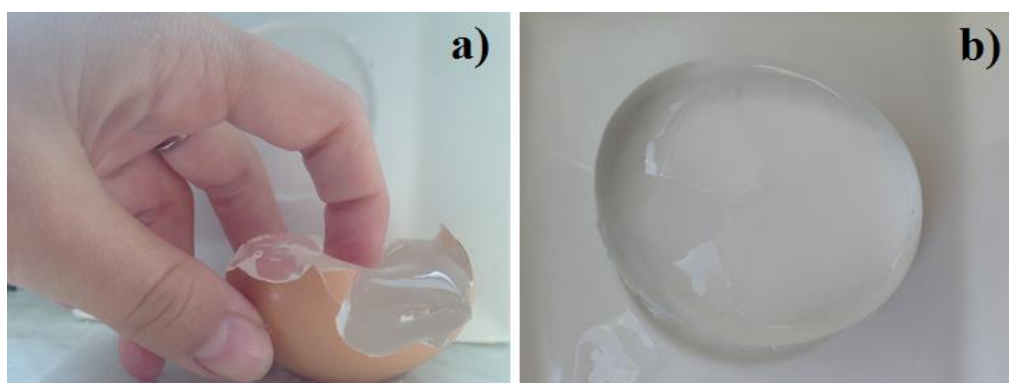
Kyselina alginová, jejíž extrakcí vzniká alginát sodný, patří do skupiny polysacharidů. Tato kyselina je obsažena v hnědých řasách. Alginát je hojně využíván v potravinářském průmyslu, neboť slouží jako účinné zahušťovadlo, stabilizátor a taktéž z něj lze tvořit gelové struktury [24].

Při zvolení správného poměru alginátu sodného a destilované vody je docíleno vzniku viskózního roztoku, který samovolně na vzduchu netuhne. I když se tato vlastnost může jevit jako triviální, pro vytvoření fantomu je velmi důležitá. A to hlavně z důvodu, jež je uvedený na začátku této kapitoly. Na embryo – ač mrtvé – není vhodné působit jakýmkoliv extrémními teplotami nebo silami, aby nedocházelo k chemickým či mechanickým destrukcím (např. denuraci). Další velkou výhodou je možnost úplného zbavení vzduchových bublin vznikajících při tvorbě roztoku a to umístěním roztoku na určitou dobu do lednice. Je známo, že vzduch se v magnetické rezonanci vyznačuje tmavou či černou barvou, tudíž je pozorování zkoumaných struktur značně ztíženo. Vlastnosti roztoku alginátu sodného dovolují, aby mohl být vzniklý roztok umístěn do lednice (v nádobě pokryté potravinářskou fólií), a to bez jakékoliv změny struktury. V lednici ho lze zanechat po delší dobu (v rámci tohoto experimentu byl připravený roztok ponechán v lednici 14 dní beze změny). Pro vytvoření ideální konzistence roztoku je poměrně náročným úkolem zajistit úplné rozpuštění alginátu sodného ve formě prášku v destilované vodě. Dokonalé spojení obou látek je možno zajistit prostřednictvím mixéru. Tato možnost však skýtá nežádoucí účinky ve formě nadměrné tvorby vzduchových bublin. Experimentálně bylo zjištěno, že šetrnější manipulace při spojování těchto sloučenin přináší velké výhody. Ačkoliv jsou i při jemném zacházení vytvářeny nežádoucí vzduchové bubliny, umístěním výsledného roztoku alginátu sodného do lednice se zajistí jejich eliminace. Bylo tedy zjištěno, že při hrubé manipulaci při slučování látek pomocí mixéru bylo eliminováno přibližně 90 % vzduchových bublin po 14 dnech zanechání vzniklého roztoku v lednici. Kdežto při šetrnějším zacházení při realizaci roztoku bylo taktéž eliminováno přibližně 90 % vzduchových bublin po 2 dnech zanechání vzniklého roztoku v lednici.

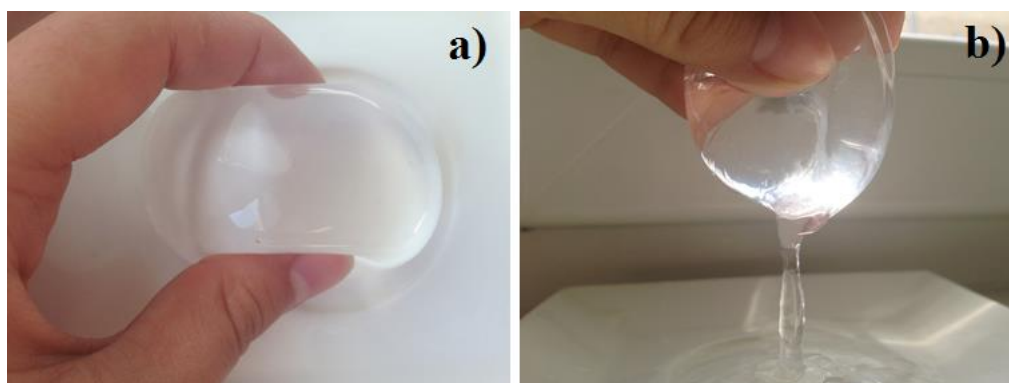
Nyní však vyvstává otázka, jak je docíleno potřebného ztuhnutí pro výrobu umělého bílku či žloutku. Ztuhnutí je důležité zejména pro ochranu embrya při měření, kdy se povrchová cívka přímo dotýká vzniklé membrány na povrchu umělého bílku. Za pomoci chloridu vápenatého dochází k síťování polymerů. To znamená, že dochází k vytváření dvojných vazeb, což prakticky vede k vytváření více rigidního gelu neboli k tuhnutí. Platí také, že čím více vzniká vazeb, tím je výsledný produkt tužší. Existují dvě varianty, jak takového jevu docílit a to tzv. procesem *sferifikace*. Tato technika využívá dvou směsí [19], [24]:

- A) roztok alginátu sodného v určitém poměru destilované vody
- B) roztok chloridu vápenatého v určitém poměru destilované vody

První metoda je nazývána *přímá sferifikace*, při této technice se využívá jako vodní lázeň směs chloridu vápenatého (B). Postup je následující: v prvním kroku je vytvořen roztok alginátu sodného smícháním 0,5 g alginátu a 100 g vody. Následně jsou tyto dvě látky důkladně promíchány, přičemž vznikají nežádoucí vzduchové bubliny. Ty lze eliminovat vložением roztoku na požadovanou dobu do lednice, jak je zmíněno výše v textu. V další fázi přípravy je vytvořena tzv. vodní lázeň, která obsahuje roztok chloridu vápenatého získaného smícháním 5 g chloridu vápenatého a 1000 g destilované vody. Tato vodní lázeň slouží ke ztužení roztoku připraveného z alginátu sodného. Jakmile jsou odstraněny vzduchové bubliny je možno odejmout z alginátového roztoku požadovaný tvar a množství a následně jej vložit do druhé směsi obsahující roztok chloridu vápenatého (do vodní lázně). Po 1 – 2 minutách je požadovaný tvar kompaktní a pro zastavení procesu tuhnutí je vzniklý útvar přenesen do vlažné vody. Logicky při delším působení roztoku chloridu vápenatého na roztok alginátu vzniká více dvojných vazeb a výsledný produkt je více rigidní. Tato metoda slouží k přípravě umělého bílku. Pro představu, jak umělý bílek vypadá bez ostatních komponent (žloutek, embryo či skořápka) jsou k dispozici Obr. 16 a Obr. 17.



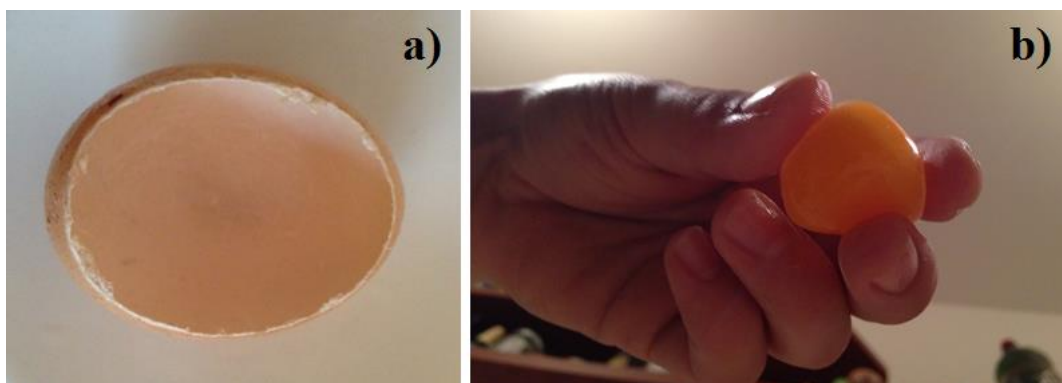
Obr. 16: a) Umělý bílek byl nejdříve formován prostřednictvím skořápky, b) tvar umělého bílku po vyjmutí ze skořápky



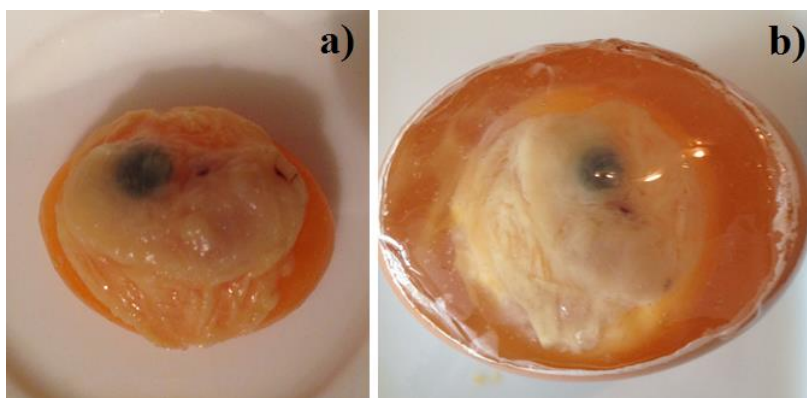
Obr. 17: a) Membrána umělého bílku dokáže odolávat vyvíjenému tlaku, b) uvnitř je však umělý bílek stále tekutý, tak jako je tomu ve skutečnosti

Druhá metoda nazývaná *reverzní sferifikace* byla využita pro výrobu částečně umělého žloutku. Při manipulaci se žloutkem totiž mohou vznikat nežádoucí komplikace. Membrána chránící tekutinu uvnitř žloutku není příliš odolná a snadno může dojít k jejímu protržení. Taktéž embryo, které je reálně umístěno přímo na žloutku, nemůže být vystaveno riziku, že dojde k protržení membrány a následnému poškození embrya. Tento problém avšak řeší technika reverzní sferifikace, pomocí které dojde ke zpevnění membrány chránící tekutinu uvnitř žloutku. Tato metoda využívá naopak jako vodní lázeň roztok alginátu sodného (A). Na přípravu vodní lázně je nutné důkladně spojit 5 g alginátu sodného a 1000 g destilované vody. Vaječný žloutek je nejprve ponořen do roztoku chloridu vápenatého a vody v poměru 1:4 po dobu 30 minut. Načež je žloutek obohacený chloridem vápenatým přenesen do vodní lázně alginátu sodného, kde po několika vteřinách vznikne tužší ochranná membrána pro vaječný žloutek. Pro zastavení procesu tuhnutí je žloutek vložen do vlažné vody.

Na zpevněný žloutek je možno správně uložit embryo (tzn. jeho levou stranou těla na žloutek, jak je tomu ve skutečnosti). Tento základ je následně zalit uměle vytvořeným bílkem (vytvořeným procesem přímé sferifikace). Zalití embrya na žloutku je prováděno přímo do původní vaječné skořápky, ve které je vytvořen potřebný otvor pomocí již známé chemické reakce kyseliny octové a uhličitanu vápenatého.



Obr. 18: Realizace fantomu alginát: a) prázdná skořápka s otvorem, b) vaječný žloutek se zpevněnou membránou prostřednictvím procesu reverzní sferifikace


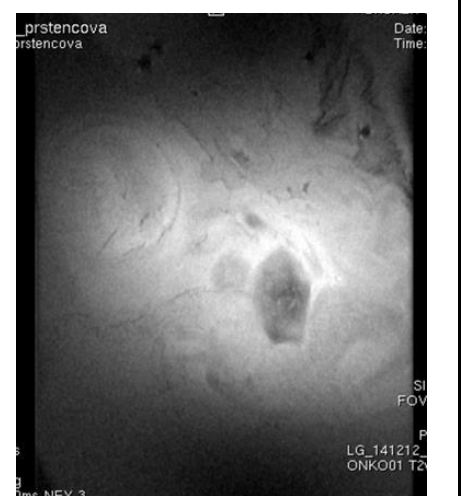


Obr. 19: Realizace fantomu alginát: a) slepičí embryo umístěné na zpevněné membráně vaječného žloutku, b) zalité embryo na žloutku uměle vytvořeným bílkem

7.3 Výsledky prvního testovacího měření – neoplození vejce jako fantom

Vizualizace slepičích embryí se jevila lépe u T_2 než u T_1 – vážených obrazů, neboť takové snímky vykazují lepší tkáňový kontrast, který nejlépe připodobňuje struktury slepičího embrya a jeho okolí. Na druhou stranu je hůře pozorovatelná skořápka, která je obdobně jako kosti lidského těla složena převážně z anorganických látek, tzn. uhličitanu vápenatého a fosforečnanu vápenatého. Jako fantom bylo využito vejce připravené podle kapitoly 6.1.

Tab. 15: Nastavené parametry a snímky testovacího měření

	T_2 – vážený obraz – objemové cívky	T_2 – vážený obraz – povrchová cívka
Pulzní sekvence	RARE	RARE
TR [ms]	3500	3500
TE [ms]	36	36
FA [°]	180	180
FOV [cm]	5.10/4.32	1.50/2.12
Řez	5/10	7/10
ST/InD [mm]	0.75/0.75	0.70/0.70
Průměrování	3	3
Echo - počet	1/1	1/1
Snímek		

Z pořízených snímků lze jen obtížně určit anatomické struktury slepičího embrya. Na levém obrazu z Tab. 15 je možno pozorovat žloutek, který se jeví jako tmavá skvrna uprostřed vejce. Tmavá barva je zapříčiněná množstvím tuku, který je ve vaječném žloutku obsažen, v T_2 vážených obrazech se takové struktury zobrazují v tmavších barvách stupně šedi. Další části slepičího embrya lze pouze odhadovat. Je známo, že nejdříve dochází k vývinu hřbetní struny, během druhého až třetího dne začíná tlouct srdce a vyvíjet se zrakový orgán. Dále se vyvíjí základy končetin a dochází k pigmentaci oka. Zrakový orgán embrya je také možno rozpoznat na snímcích (tentokrát spíše na snímku vpravo pořízeném pomocí povrchové cívky). V dalším stádiu dochází k vývoji orgánů, diferenciaci prstů. Bohužel není známo, kolikátý den vývoje mělo zkoumané embryo za sebou, tudíž i anatomickou a fyziologickou strukturu lze určovat jen na základě snímků pořízených z magnetické rezonance a podložené literatury [21], [22].

Tato první měření posloužila pouze jako testovací a obdržené snímky z tohoto měření neslouží pro anatomický popis zárodka a nejsou součástí *Prohlížeče obrázků* (GUI). Aby bylo možno lépe pozorovat anatomické struktury slepičího embrya, je nutné najít vhodnou pulzní sekvenci a optimálně nastavit její akviziční parametry. Další kapitola diplomové práce je proto zaměřena na konkrétní nastavení parametrů zvolených sekvencí a aplikaci tohoto nastavení pulzních sekvencí na zrealizovaných fantomech popsaných v kapitole 7.

8. Výběr optimální pulzní sekvence a jejích parametrů

Volba vhodné pulzní sekvence je základem pro zobrazení požadovaných struktur. S optimálním výběrem sekvence a nastavením jejích parametrů souvisí dobrá kvalita a kontrast obrazu. Další důležitou vlastností je doba měření, která je zvláště při experimentech, ale i při vyšetření pacienta, požadována v rozumné míře.

8.1 Konkrétní pulzní sekvence a jejich parametry volené pro zobrazování zrealizovaného fantomu

Základní teoretický popis a charakteristika pulzních sekvencí, které byly při experimentu využívány, je uveden v kapitole 2. Tato část práce je určena ke konkrétnímu popisu parametrů, které byly nastaveny pro dané sekvence. Během experimentu bylo testováno mnoho pulzních sekvencí. Výsledné obrazy ovlivněné některými pulzními sekvencemi (UTE, EPI) však neodpovídaly očekávání, proto výsledné snímky nebyly zařazeny do *Prohlížeče obrázků* (GUI). Jednalo se například o pulzní sekvenci UTE (Ultra Short Echo Times), tzn. sekvenci využívající ultrakrátké TE, která slouží hlavně k zobrazování tkání s krátkými časy T_2 . Další nevhodná pulzní sekvence nese název EPI (Echo Planar Imaging), která je velmi citlivá na změny magnetické susceptibility.

V následujících tabulkách (Tab. 16, Tab. 17, Tab. 18) jsou uvedeny využití pulzní sekvence a akviziční parametry, které byly při zvolené sekvenci nastaveny. Barvy označují parametry (TR, TE, FA), které ovlivňují druh výsledného obrazu, tzn., čím bude výsledný obraz váhován. Dále jsou také barevně označeny parametry (ST, FOV, echo – počet, průměrování), které tento vliv nemají, ale vztahují se k určitému druhu obrazu. V příloženém *Prohlížeči obrázků* (GUI) je možno pozorovat výsledné snímky, jejichž parametry jsou uvedeny vždy ve spodní části pod zvoleným snímkem.

Tab. 16: Pulzní sekvence RARE s volenými parametry

Pulzní sekvence RARE	
TR [ms]	250, 666, 750, 800, 850, 3500, 4000
TE [ms]	10.4, 36
FA [°]	180
ST [mm]	0.50, 0.60, 0.70, 0.80, 0.85, 1.00, 1.50
FOV [cm]	2.32/3.50, 2.90/3.50, 4.10/3.92, 5.00/3.72, 5.00/5.00
Echo – počet	1/1
Průměrování	2, 3, 4

- Parametry pro T_1 – vážený obraz
- Parametry pro T_2 – vážený obraz
- Parametry pro T_1 i T_2 – vážený obraz

Tab. 17: Pulzní sekvence MSME s volenými parametry

Pulzní sekvence MSME	
TR [ms]	1445, 1807, 2000
TE [ms]	14, 28, 42, 56, 65, 70, 84, 98, 112
FA [°]	180
ST [mm]	0.70, 1.00
FOV [cm]	5.00/5.00, 5.25/5.00
Echo – počet	1/8, 2/8, 3/8, 4/8, 5/8, 6/8, 7/8, 8/8, 2/2
Průměrování	1, 2, 3

- Parametry pro obraz, který je váhován hustotou protonových jader N(H)
- Parametry pro T_2 – vážený obraz
- Parametry pro T_2 – vážený obraz i obraz váhován hustotou protonových jader N(H)

Tab. 18: Pulzní sekvence FLASH s volenými parametry

Pulzní sekvence FLASH	
TR [ms]	100, 250
TE [ms]	3.1
FA [°]	25
ST [mm]	1.00
FOV [cm]	4.61/4.25
Echo – počet	1/1
Průměrování	8, 10

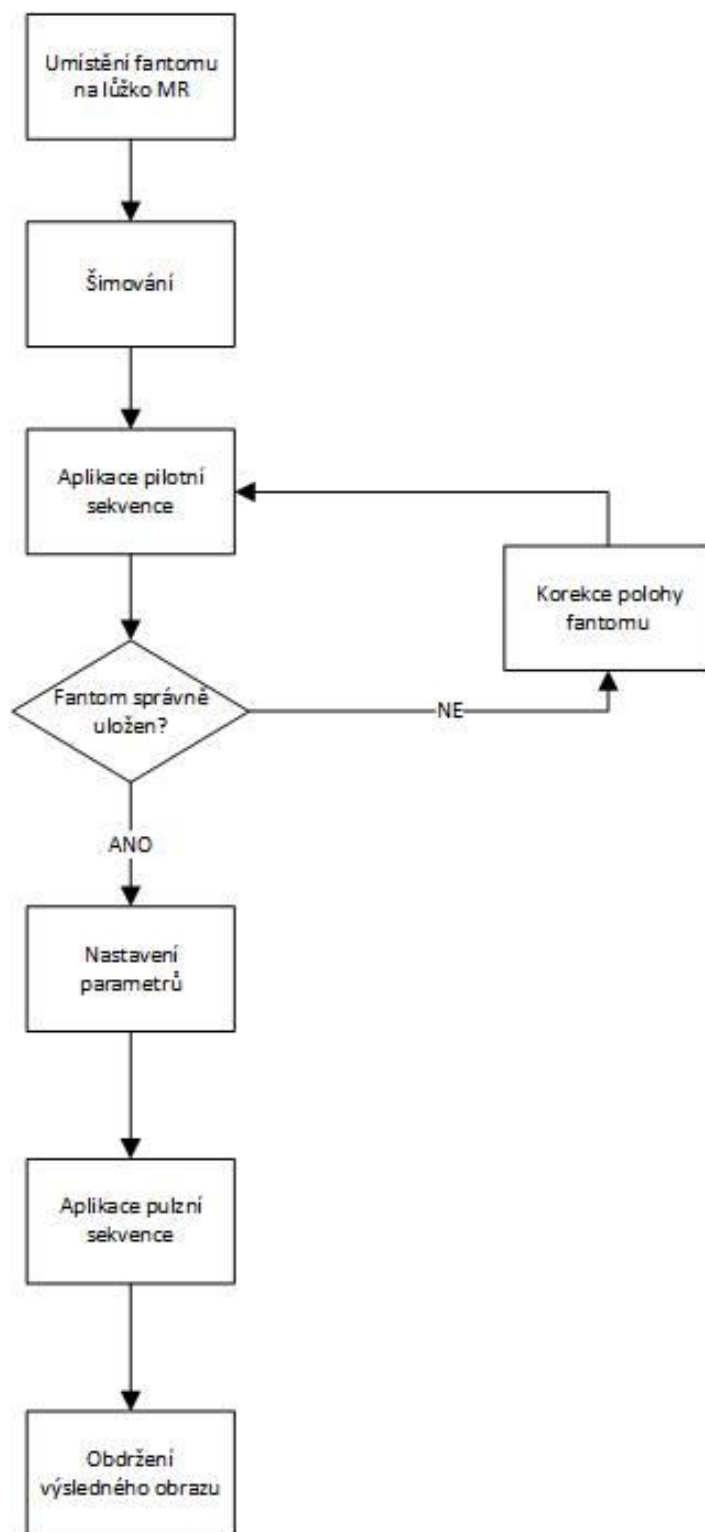
- Parametry pro obraz, který je váhován hustotou protonových jader N(H)

8.2 Postup měření fantomu

V první řadě bylo třeba umístit předmět zájmu na lůžko MR, které bylo následně zasunuto dovnitř magnetické rezonance. V tomto případě se jednalo o fantom slepičího vejce, tzn., že při ukládání vaječné skořápky s ostatními strukturami uvnitř musela být zajištěna stabilita vejce, aby nedocházelo k jakýmkoliv nežádoucím pohybům během měření. V dalším kroku bylo nutné provést šimování, které vede k homogenizaci statického magnetického pole. Toto nastavení bylo prováděno ručně manipulací s korekčními cívkami, pomocí nichž byly rušeny reziduální nehomogenity statického magnetického pole. Ty jsou způsobeny hlavně přítomností feromagnetických předmětů v blízkém okolí MR. Po šimování se již přistoupilo k samotnému měření. Pro ověření správného uložení fantomu uvnitř magnetické rezonance, byla aplikována sekvence, jež nese název *TriPilot-multi*. Jedná se o modifikovanou pulzní sekvenci FLASH s velmi krátkou akviziční dobou přibližně 25 s. Parametry sekvence jsou: TR 200 ms, TE 3 ms, FA 30° a průměrování je nastaveno na 1. Výsledné obrazy byly tedy T_1 – vážené a fantom bylo možno sledovat ve všech třech rovinách (axiální, sagitální, koronární).

Pokud bylo z takto obdrženého snímku zjevné, že byl fantom umístěn nepřesně, došlo k úpravě a opakování pilotní sekvence *TriPilot-multi*. Jakmile byl předmět zájmu vhodně umístěn, byly voleny další pulzní sekvence a jejich modifikace. V editoru geometrie je vhodné nejprve provést nastavení parametrů, jako jsou zvolení roviny (axiální, sagitální, koronární), šířky řezu, vzdálenosti mezi řezy a také jejich celkový počet. Upravit sklon, s jakým budou snímky pořizovány, nastavit velikost zobrazovacího pole (FOV), atd. V další editoru je možno modifikovat časy TR, TE, průměrování, aj. Poté je možno pulzní sekvenci s nastavenými akvizičními parametry spustit. Doba akvizice je dána nastavenými parametry a zvolenou pulzní sekvencí. Po uplynutí akviziční doby je

pořízen výsledný snímek, který je uložen do paměti. Zjednodušeně je možno pozorovat schéma postupu měření na diagramu (Obr. 20).



Obr. 20: Postup měření

9. Grafické uživatelské rozhraní

V rámci této diplomové práce bylo vytvořeno GUI (Graphical User Interface) v programovém prostředí Matlab R2014b. Toto uživatelské rozhraní slouží k prohlížení získaných snímků slepičích embryí během prováděného experimentu. Navíc nabízí jednodušší odečítání nastavených parametrů pro každý snímek zvlášť. V příloze diplomové práce lze nalézt sadu šesti matlabovských funkcí, z nichž hlavní je *Prohlizec.m*, dále dokument *Data.xls* a soubor složek rozdělených podle druhu využitých pulzních sekvencí. Program je spouštěn prostřednictvím hlavní funkce (*Prohlizec.m*) stisknutím klávesy F5 nebo v editoru stiskem tlačítka *run*. Program je uživatelsky přívětivý a použitelný i v případě dalšího přidávání obrázků s danými parametry, tímto je tedy program považován za univerzální. Náhled na vytvořený prohlížeč obdržených snímků je na Obr. 22.

Ke správnému chodu programu je zapotřebí knihovna obrázků rozříděná podle typu použité pulzní sekvence a dále rozdělená podle využitého druhu fantomu. Mimo tuto knihovnu je zapotřebí dokument (*Data.xls*) s vypsáními parametry jednotlivých snímků (viz Obr. 21). Proces prohlížení obrázků je takto strukturován z důvodu radikálního zmenšení velikosti celé knihovny (oproti přímému exportu dat z MR). Při vkládání nových snímků do knihovny, stejně jako při zadávání parametrů jednotlivých snímků do *Data.xls*, je potřeba dodržovat několik základních pravidel: mezi znaky nepoužívat mezery, diakritiku, pomlčky, apod. Protože je rozhraní kompletně univerzální, je zapotřebí dodržovat stále stejné názvy fantomů i sekvencí.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M
1	sekvence	TR_ms	TE_ms	FA_deg	ST_mm	FOV_cm	slice	echo	poradove_cislo	prumerovani	nazev_snimku	phantom	
2	RARE_T2w	3500	36	180	1.00/1.00	5.00/3.72	3/7	1/1	43	3	2_coronar	zele_2	
3	RARE_T2w	3500	36	180	1.00/1.00	5.00/3.72	2/7	1/1	44	3	2_coronar_jiny slice	zele_2	
4	RARE_T2w	3500	36	180	0.70/0.70	2.90/3.50	14/25	1/1	36	3	[1] coronar	zele	
5	RARE_T2w	3500	36	180	0.70/0.70	2.90/3.50	15/25	1/1	37	3	[2] coronar_ST 0.7_TR 3500	zele	
6	RARE_T2w	3500	36	180	0.70/0.70	2.90/3.50	16/25	1/1	38	3	[3] coronar_ST 0.7_TR 3500_jiny slice	zele	
7	RARE_T2w	3500	36	180	1.00/1.00	2.90/3.50	14/25	1/1	39	3	[4] coronar_ST 1_TR 3500	zele	
8	RARE_T2w	3500	36	180	0.50/0.50	2.90/3.50	15/25	1/1	40	3	[5] coronar_ST 0.5_TR 3500	zele	
9	RARE_T2w	3500	36	180	0.60/0.60	2.90/3.50	15/25	1/1	41	3	[6] coronar_ST 0.6_TR 3500	zele	
10	RARE_T2w	4000	36	180	0.60/0.60	2.90/3.50	15/25	1/1	42	3	[7] coronar_ST 0.6_TR 4000	zele	
11	RARE_T2w	3500	36	180	0.70/0.70	2.32/3.50	4/20	1/1	30	3	[1] alg_T2wRARE_4-20_prum3	alginat	
12	RARE_T2w	3500	36	180	0.70/0.70	2.32/3.50	3/20	1/1	31	3	[2] alg_T2wRARE_3-20_prum3	alginat	
13	RARE_T2w	3500	36	180	0.70/0.70	2.32/3.50	2/20	1/1	32	3	[3] alg_T2wRARE_2-20_prum3	alginat	
14	RARE_T2w	3500	36	180	0.85/0.85	2.32/3.50	2/20	1/1	33	3	[4] alg_T2wRARE_2-20_prum3_ST 0.85	alginat	
15	RARE_T2w	3500	36	180	1.50/1.50	4.10/3.92	4/7	1/1	34	3	[1] T2wRARE_coronar_ST 1.5	embryo_bez_vejce	
16	RARE_T2w	3500	36	180	0.70/0.70	4.10/3.92	4/7	1/1	35	3	[2] T2wRARE_coronar_ST 0.7	embryo_bez_vejce	
17	MSME_8E_bas	1806.6	98	180	1.00/1.00	5.00/5.00	3/6	7/8	13	1	[1] 2_coronar_3-6_echo 7-8	zele_2	
18	MSME_8E_bas	1806.6	98	180	1.00/1.00	5.00/5.00	2/6	7/8	14	1	[2] 2_coronar_2-6_echo 7-8	zele_2	
19	MSME_8E_bas	1806.6	70	180	1.00/1.00	5.00/5.00	3/6	5/8	15	1	[3] 2_coronar_3-6_echo 5-8	zele_2	
20	MSME_8E_bas	1806.6	112	180	1.00/1.00	5.00/5.00	2/6	8/8	16	2	[4] 2_coronar_prumer 2	zele_2	
21	MSME_8E_bas	1445.3	112	180	1.00/1.00	5.00/5.00	2/12	8/8	3	1	alg_MSME_8E_bas_2-12_echo 8-8_prum1	alginat	
22	MSME_8E_bas	1445.3	112	180	1.00/1.00	5.00/5.00	2/12	8/8	4	3	alg_MSME_8E_bas_2-12_echo 8-8_prum3	alginat	

Obr. 21: Ukázka příloženého dokumentu *Data.xls*



Obr. 22: GUI – Prohlížeč obrázků

Samotný program *Prohlizec.m* je založen na prohlížení snímků na základě uživatelského výběru pulzní sekvence a druhu fantomu. Po tomto zvolení se zobrazí první snímek (abecedně) z požadovaného umístění v knihovně. Ve spodní části GUI jsou k dispozici vypsané parametry, které byly pro zvolený snímek nastaveny. Mezi jednotlivými obrázky v rámci jedné knihovny (sekvence a fantom) se prochází tlačítky (*Předchozí snímek* a *Další snímek*) umístěnými přímo pod obrázkem. Pro jednodušší ovládání je implementováno i procházení obrázků pomocí šipek na klávesnici. V rámci poskytnutých informací v dolní části rozhraní je také přiřazeno každému snímku jeho *pořadové č.* Toto číslo dále slouží k lepší orientaci při popisu a diskusi snímků v poslední kapitole práce. Dále je pro lepší manipulaci s obrázkem, zejména zoom nebo odečítání souřadnic, do programu implementován panel nástrojů.

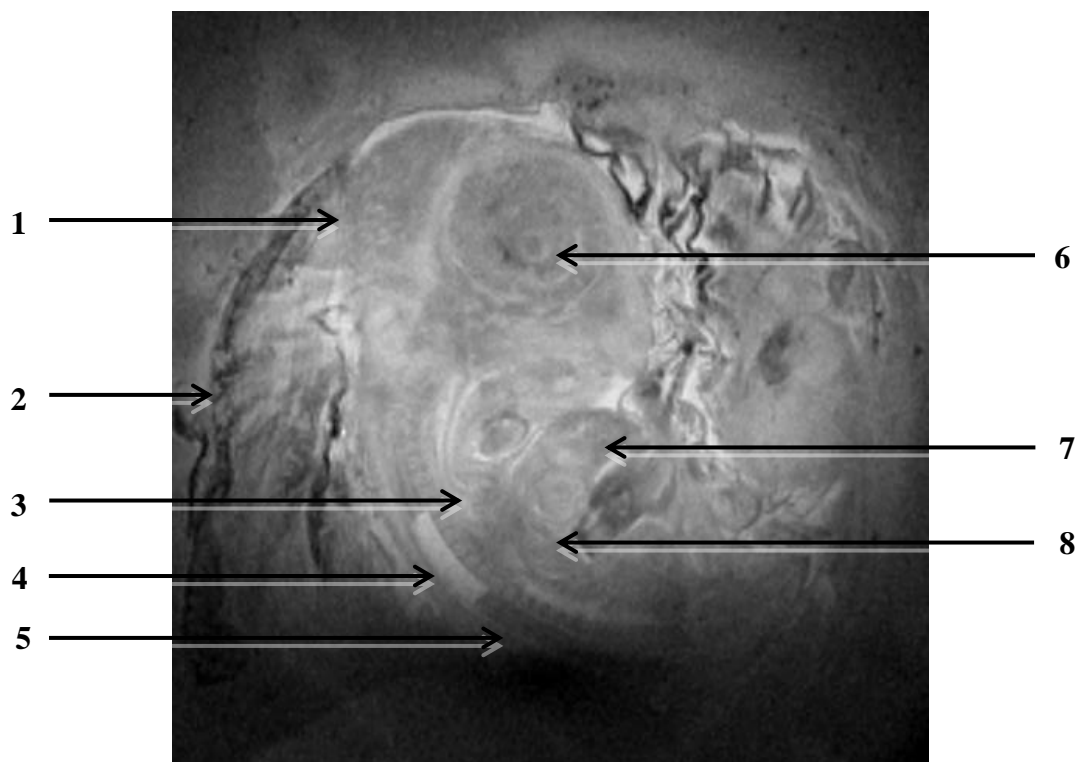


Obr. 23: GUI – Panel nástrojů

Program je složen kromě hlavní funkce (*Prohlizec.m*) z dalších 5 funkcí. *NacteniDat.m* a *VypisData.m*, které slouží k načtení a vypsání parametrů z příloženého dokumentu obsahujícího parametry snímků. Dále funkce *VyberFantomu.m* a *VyberSekvence.m*, které tvoří Pop up menu pro výběr sekvence a fantomu. Poslední funkcí je funkce *Posun.m*, která řeší posun obrázků vpřed a vzad v rámci vybraného fantomu jedné pulzní sekvence.

Program nabízí volbu ze čtyř fantomů, z nichž jeden (*embryo_bez_vejce*) neobsahoval žádné vaječné struktury, pouze embryo ve fyziologickém roztoku. Ačkoliv se nejednalo přímo o zrealizovaný fantom, snímky jsou zde zařazeny z důvodu použité pulzní sekvence FLASH, která nemohla být u jiných fantomů z technických důvodů aplikována. Název druhu fantomu odpovídá tomu, z čeho byl připraven umělý bílek. V GUI jsou nabízeny dva fantomy s podobným označením (*želé a želé_2*), jedná se o dva odlišné fantomy připravované stejným způsobem, tzn. s využitím stejných chemikálií pro realizaci fantomu. K dispozici je výběr celkově z pěti sekvencí, z nichž jsou dvě obdobné (*MSME_8E_bas/MSME_PD_T2* a *RARE_T1w/RARE_T2w*). Tyto pulzní sekvence disponují jinak nastavenými akvizičními parametry, což má za následek jinak váhované výsledné obrazy (např. při zvolení pulzní sekvence *RARE_T1w* jsou k dispozici snímky s krátkými časy TR a TE, tudíž jsou T_1 – vážené).

10. Popis anatomických struktur



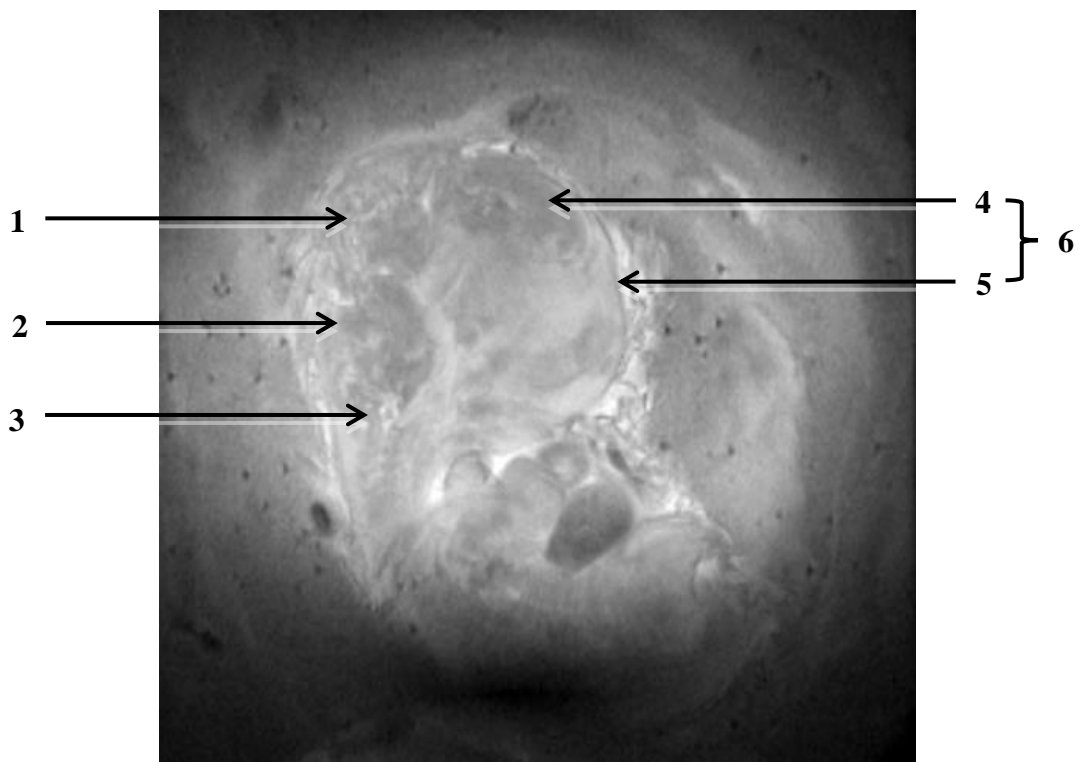
Obr. 24: MR snímek slepičího embrya – obecný popis (koronární řez)

Popis snímku:

1. Střední mozek
2. Amnion
3. Zárodek křídla
4. Artefakt – proniklá kolekce tekutiny
5. Páteční kanál
6. Oko
7. Srdce
8. Další orgány (játra, žaludek)

Tab. 19: Akviziční parametry pro Obr. 24

Pulzní sekvence RARE		Fantom želé	
TR	3500 ms	ST/InD	0.5/0.5 mm
TE	36 ms	FOV	2.90/3.50 cm
FA	180°	Průměrování	3
Řez	15/25	Echo - počet	1/1



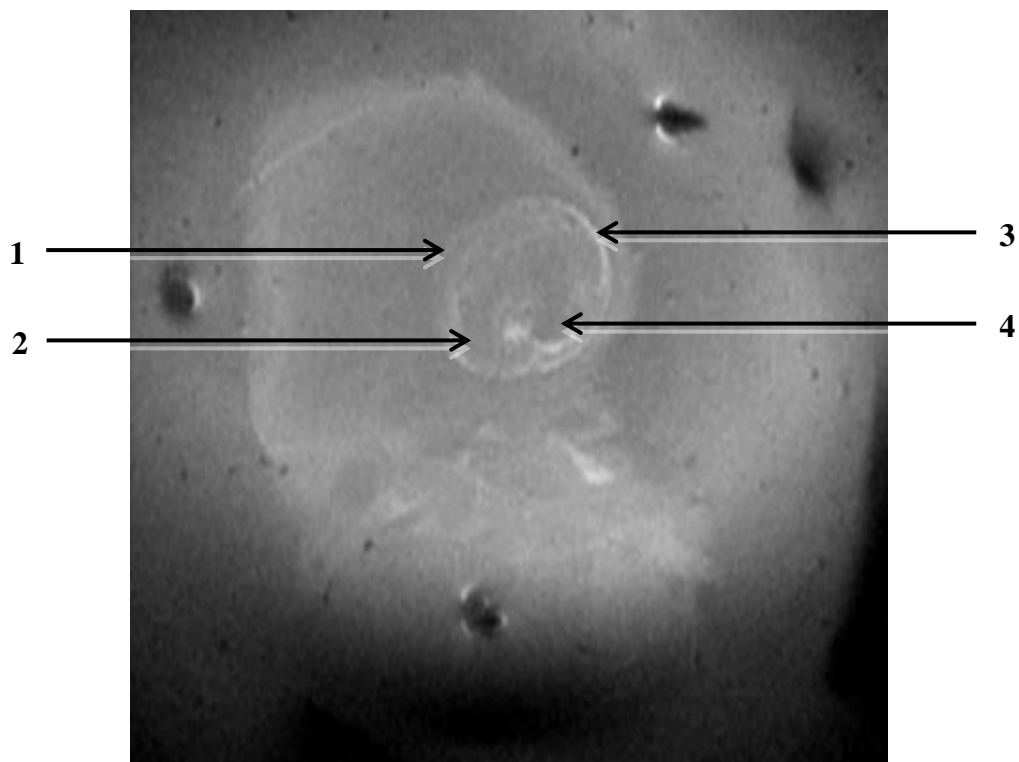
Obr. 25: MR snímek slepičího embrya – mozek

Popis snímku:

1. Střední mozek
2. Zadní mozek
3. Prodloužená mícha
4. Mezimozek
5. Koncový mozek
6. Přední mozek

Tab. 20: Akviziční parametry pro Obr. 25

Pulzní sekvence RARE		Fantom želé	
TR	3500 ms	ST/InD	0.7/0.7 mm
TE	36 ms	FOV	2.90/3.50 cm
FA	180°	Průměrování	3
Řez	16/25	Echo - počet	1/1



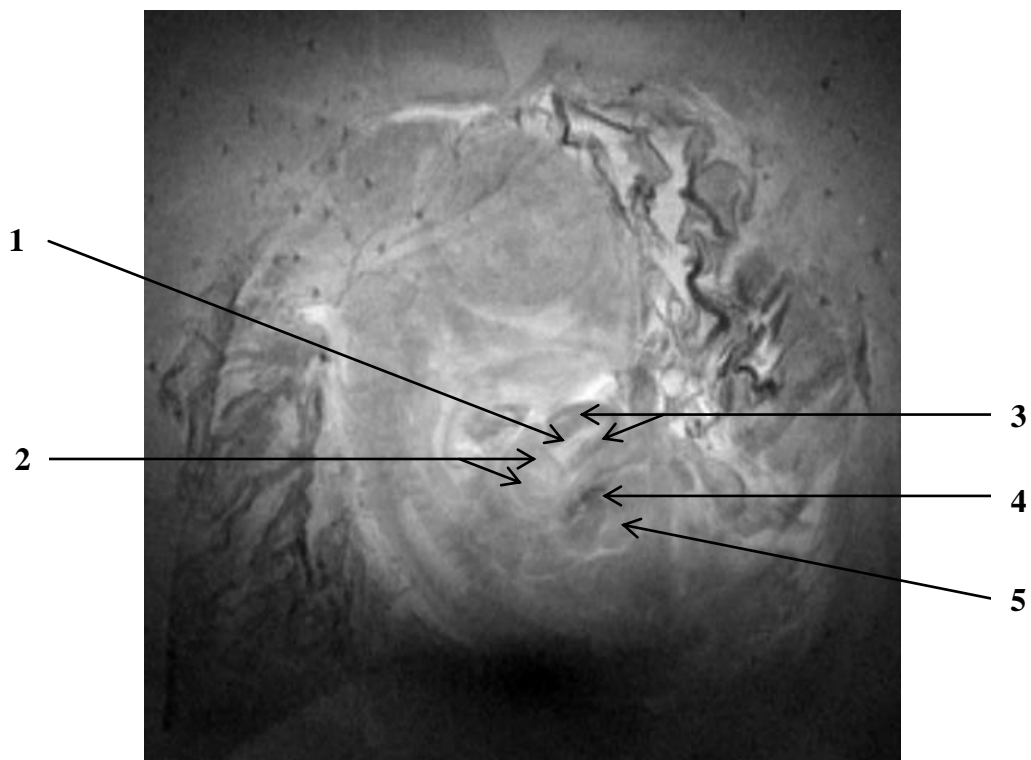
Obr. 26: MR snímek slepičího embrya – zrakový orgán

Popis snímku:

1. Oko
2. Sklivec
3. Pigmentová vrstva sítnice
4. Čočka

Tab. 21: Akviziční parametry pro Obr. 26

Pulzní sekvence RARE		Fantom želé	
TR	665.9 ms	ST/InD	0.7/0.7 mm
TE	10.4 ms	FOV	2.35/3.50 cm
FA	180°	Průměrování	4
Řez	23/25	Echo - počet	1/1



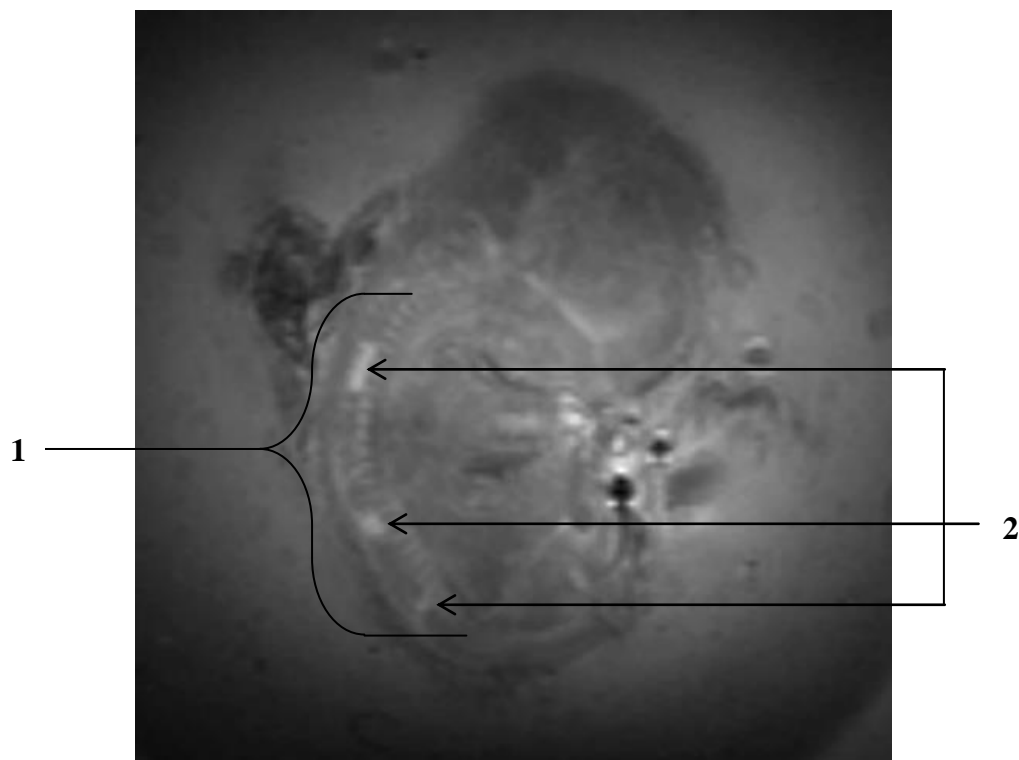
Obr. 27: MR snímek slepičího embrya – srdce, játra, žaludek

Popis snímku:

1. Komorové septum
2. Srdeční síně
3. Srdeční komory
4. Játra
5. Žaludek (verticulus)

Tab. 22: Akviziční parametry pro Obr. 27

Pulzní sekvence RARE		Fantom želé	
TR	3500 ms	ST/InD	0.7/0.7 mm
TE	36 ms	FOV	2.90/3.50 cm
FA	180°	Průměrování	3
řez	14/25	Echo - počet	1/1



Obr. 28: MR snímek slepičího embrya – somity a artefakty

Popis snímku:

1. Chrupavčité základy obratlů
2. Artefakty – kolekce tekutiny v páteřním kanálu

Tab. 23: Akviziční parametry pro Obr. 28

Pulzní sekvence MSME		Fantom alginát	
TR	2000 ms	ST/InD	1.00/1.00 mm
TE	65 ms	FOV	5.00/5.00 cm
FA	180°	Průměrování	1
řez	3/12	Echo - počet	2/2

11. Diskuse výsledků

11.1 Notochord a páteřní kanál

Na začátku embryonálního vývoje dochází k formování neurální trubice z ektodermu. Předtím však dochází k tzv. notogenezi, při níž je vytvářena struna hřbetní – notochord. Vzniká z primitivního proužku a Hensenova uzlu, jejichž buňky postupují kaudálně. Postupně dochází k jejich diferenciaci a vzniku struny hřbetní. Dále pak vzniká páteřní kanál, který je možno pozorovat například na Obr. 24. U většiny snímků lze v páteřním kanálu pozorovat bílý pruh. S největší pravděpodobností se v tomto případě jedná pouze o vzniklý artefakt. Během provádění experimentu bylo s embryem různě manipulováno a také bylo několikrát čištěno a upravováno pomocí jemného tlaku fyziologického roztoku z injekční stříkačky. Vzhledem k tomu, že se artefakt jeví jako hyperintenzivní na T_2 – vážených obrazech, mělo by se jednat o strukturu obsahující vysoké zastoupení vody. Proud fyziologického roztoku tedy mohl porušit tenké plodové obaly chránící embryo a vniknout dovnitř páteřního kanálu. Tato proniklá kolekce tekutiny nemusela poškodit míchu, avšak z důvodu vysoké intenzity signálu, kterou vykazuje artefakt, potlačuje slabší intenzitu míchy. Na Obr. 28 lze vidět posun části tekutiny uvnitř páteřního kanálu kaudálním směrem. Tato skutečnost potvrzuje lokaci kolekce tekutiny uvnitř kanálu [21], [25].

Formováním neurální trubice dochází ke vzniku jednotlivých částí mozku. Na Obr. 25 jsou pak tyto diferencované části mozku popsány. Během třetího dne vývoje se střední mozek výrazně zvětšuje. V dalších dnech dochází k diferenciaci okcipitálních laloků, avšak již od 3. dne vývoje ptačího embrya je povrch středního mozku pokryt vlákny, které jsou předzvěstí enormní velikosti okcipitálních laloků v dospělosti. Správný vývin těchto laloků umožňuje ptákům dobré vidění [25].

11.2 Somity a základy obratlů

Somity jsou párové celky, které vznikají z mezodermy. Postupně dochází k jejich formování do řady po obou stranách notochordy. Jsou to první segmenty sloužící k embryonálnímu vývoji. Vytváří se z nich důležité struktury, jako jsou obratle, žebra, kraniální a spinální nervy, kosterní svaly a vazy. První pár somitů je vytvářen již na konci prvního dne inkubace embrya. Přibližně v polovině čtvrtého dne vývoje slepičího embrya odpovídá počet somitů 43 – 44 párům. Z pořízených snímků nelze pozorovat všechny somity. Neschopnost pozorovat více somitů může být ovlivněna špatným uložením embrya uvnitř fantomu, další možností může být probíhající diferenciaci somitů na vyšší struktury. Tak se tomu také děje přibližně v pátém dni embryonálního vývoje, kdy je možno pozorovat v okolí páteřního kanálu diferencované základy obratlů. Ty vznikly přeměnou somitů v postupně se vyvíjející chrupavčité celky. V průběhu sedmého dne mají také

obratlové výběžky chrupavčitou strukturu a v osmém dni lze pozorovat celý obratel tvořený chrupavkou. Zajímavostí je, že na tvorbě prvních dvou krčních obratlů (atlas, axis) se podílí 6 až 8 somitů. V pátém dni embryonálního vývoje však nemohou být obratle ani z části osifikovány, neboť k tomuto procesu dochází až kolem 11 – 13 dne. Vylíhnuté kuře disponuje více než 40-ti obrali [25].

11.3 Oko

První známky vývoje zrakového orgánu u slepičího embrya jsou již na začátku druhého dne inkubace. Postupně dochází k formování optického pohárku, sklivcové dutiny a čočkové ploténky pro vývoj čočky. Na konci třetího dne lze u embrya zaznamenat téměř vyvinutou čočku, sítnici a rohovku, která je tvořena z optického pohárku. Během čtvrtého dne dostává čočka charakteristický tvar. U pozorovaného embrya zatím nelze pozorovat duhovku, neboť k jejímu vývoji dochází až kolem sedmého dne inkubace. Ve stejném dni se také začínají vytvářet oční víčka [25].

11.4 Srdce

Vývoj srdce začíná již během třicáté hodiny inkubace. Na začátku se jedná o primitivní trubici ve tvaru písmene S. Postupně se začíná vyvíjet společný embryonální základ aorty, plicnice a srdeční komora, dále poté srdeční síň a nakonec žilní zátoka. Po přibližně pěti hodinách inkubace (33 – 38 hod. embryonálního vývoje) je možno rozpoznat tlukot srdce. V průběhu třetího a čtvrtého dne vývoje dochází k přeměně jednokomorového srdce na dvoukomorové. Obě dvě komory lze pozorovat na Obr. 27. Ve čtvrtém dni embryonálního vývoje je rozdělena původně jedna síň na dvě části, avšak tyto části nejsou definitivně odděleny. Stěny síní obsahují mnoho malých děr, jež umožňují neustálou komunikaci mezi síněmi. Komorové septum, které je taktéž možno vidět na Obr. 27, je tvořeno z původní stěny srdeční komory jednokomorového srdce. V pátém dni inkubace se začíná vyvíjet aorta a plicní tepna, ty však z pořízených snímků zatím nejsou dobře rozlišitelné. Mezi pátým a jedenáctým dnem embryonálního vývoje se formují skupiny svalů v oblasti síní, tvoří “svalové oblouky”, které jsou charakteristické pro srdeční síně ptáků a hrají důležitou roli během systoly [21], [25].

11.5 Multi-echo pulzní sekvence

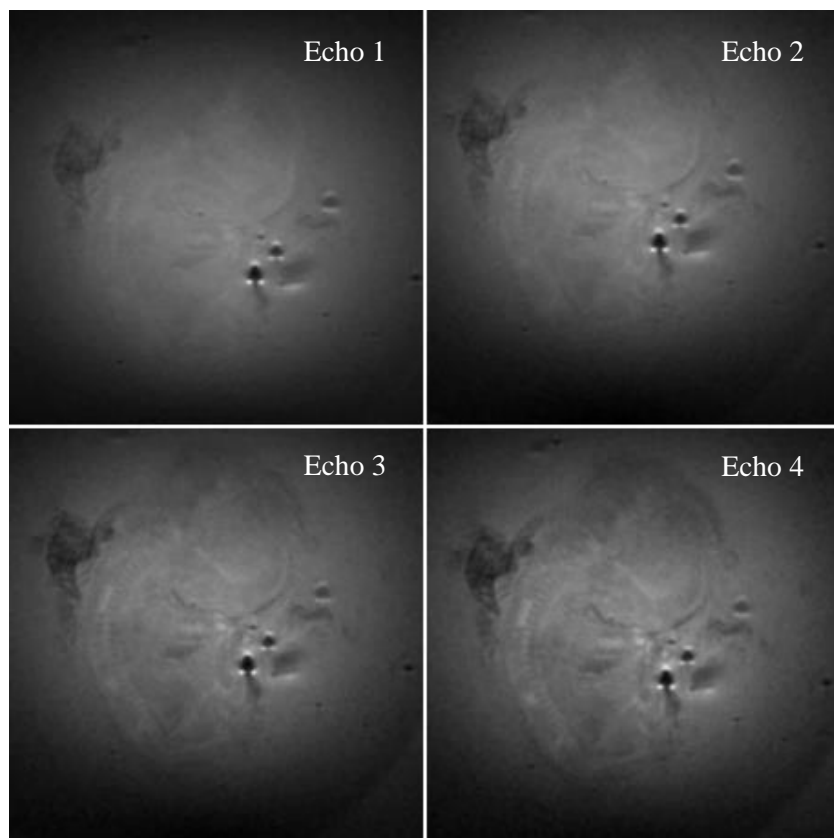
Jak bylo zmíněno v teoretické části práce, existují formy pulzních sekvencí, jež disponují opakujícími se refokusačními pulzy po proběhnutí excitačního pulzu. Tyto 180° RF pulzy jsou aplikovány v časech TE_1 , TE_2 , TE_3 , atd. Každé obdržené echo poté vyplňuje vlastní nezávislý k-prostor, který je následně rekonstruován inverzní 2D Fourierovou transformací. Z důvodu exponenciálního úpadku signálu je množství echo signálů limitováno T_2 relaxací.

V rámci této práce byly pro multi-echo pulzní sekvence voleny parametry TR a TE následovně: $TR \geq 1445$ ms a TE v rozmezí 14 – 112 ms (podrobněji v Tab. 24). Obdržené obrazy mohou být tedy váhovány hustotou protonových jader nebo T_2 – vážené. Pro TE platí pravidlo: $TE_2 = 2 \cdot TE_1$, $TE_3 = 3 \cdot TE_1$, $TE_4 = 4 \cdot TE_1$, atd.

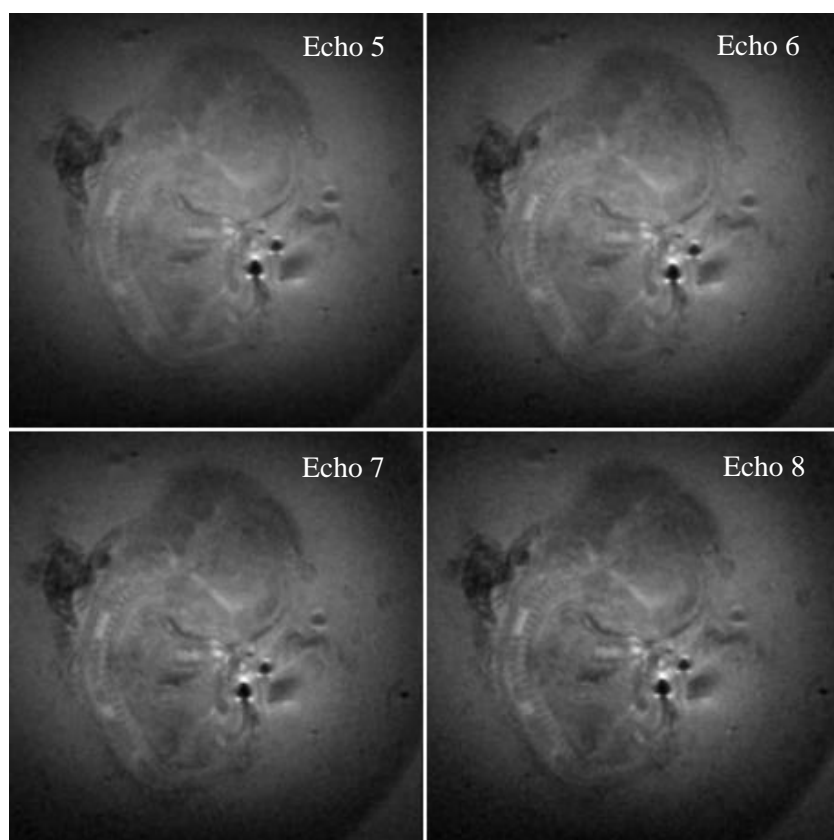
Snímky na Obr. 29 a Obr. 30 byly získány pomocí *Multi Slice Multi Echo (MSME)* pulzní sekvence, která má stabilně nastaveny tyto parametry: TR 1445.3 ms, FA 180°, ST 1 mm, InD 1 mm, FOV 5 cm (FOV read 5 cm, FOV P1 5 cm), MTX 256 (MTX read 256, MTX P1 256), průměrování 3 a pořadí řezu bylo zvoleno 3/12. Jediný parametr, který je v průběhu působení pulzní sekvence účelně měněn je TE. Konkrétní nastavení parametru TE a tomu odpovídající pořadí získaného echo signálu je uvedeno v Tab. 24.

Tab. 24: Nastavení parametru TE

Pořadí echo signálu	TE [ms]
1	14
2	28
3	42
4	56
5	70
6	84
7	98
8	112



Obr. 29: Sled čtyř obrazů váhovaných hustotou protonových jader

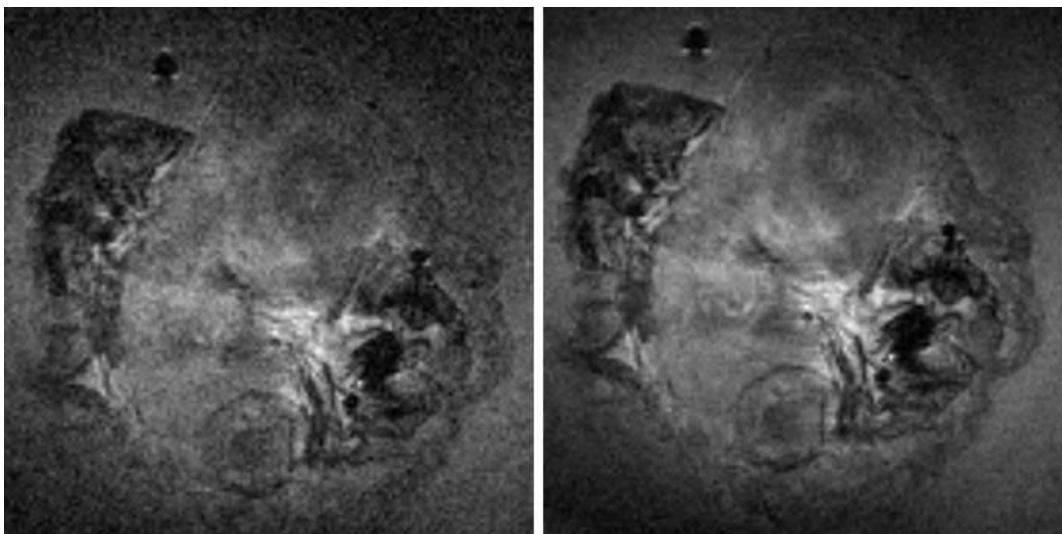


Obr. 30: Sled čtyř T_2 – vážených obrazů

Z obou obrázků je patrné, že prostřednictvím jedné pulzní sekvence bylo obdrženo více snímků (ve stejném řezu) díky echo signálům. Z každého echa byl rekonstruován příslušný snímek. Z Obr. 29 je patrné, že i při velmi krátkém TE je možno pozorovat siluety slepičího embrya. Nicméně detailnější struktury, jako zrakový orgán či vyvíjející se páteř, jsou lépe rozlišitelné až na snímcích, jejichž TE dosahuje hodnot větších než 40 ms. Jelikož obdržené snímky na Obr. 29 disponují dlouhým časem TR a krátkými časy TE jedná se o obrazy váhovanými hustotou protonových jader.

Kvalitnější snímky lze pozorovat spíše na Obr. 30, kde parametr TE dosahuje vyšších hodnot a TR je taktéž dlouhé. Jedná se tedy o T_2 – vážené obrazy. Jednotlivé struktury popsané v kapitole 10 jsou lépe rozeznatelné. Konkrétně artefakt vyskytující se v páteřním kanálu je na obdržených snímcích hyperintenzivní. Důvodem je vysoké T_2 tohoto artefaktu, neboť se jedná o kolekci tekutiny.

Obdržené snímky dosahují vyššího SNR a lepšího kontrastu také díky zvolenému průměrování na hodnotu 3. Avšak při zvýšení tohoto parametru z jedné na tři vzroste akviziční doba třikrát. V tomto případě byla doba měření více než 18 minut, což je poměrně dlouho. Nicméně zřetelného rozdílu si lze povšimnout na Obr. 31, kde je nalevo vystižen obraz s průměrováním 1 a napravo stejný obraz s průměrováním 3.



Obr. 31: Nastavení průměrování: na hodnotu 1 (vlevo), na hodnotu 3 (vpravo)

Nastavení vhodného průměrování tedy může posloužit k potlačení náhodného šumu, ovšem zároveň dochází k navýšení doby měření. Každý uživatel musí proto volit nastavení průměrování tak, aby se pozorovaný objekt jevil v dobré kvalitě a zkoumané struktury byly dobře rozlišitelné, avšak akviziční doba nebyla příliš dlouhá (zvláště u živých objektů).

11.6 Diskuse snímků z GUI

V rámci diplomové práce bylo vytvořeno GUI, které zprostředkovává náhled na obdržené obrazy během experimentu. V této kapitole je diskutován každý snímek nebo soubor snímků, jež mají mezi sebou určitou souvislost. Po spuštění skriptu *Prohlizec.m* se objeví okno, ve kterém je po zvolení dat (sekvence, fantomu) zobrazen určitý obraz i s příslušnými parametry (informacemi). V rámci těchto informací je jako poslední uveden údaj **pořadové číslo**, které slouží k lepší orientaci při popisu a diskusi snímků.

Pořadové č. 1 – 2: tyto snímky byly pořízeny prostřednictvím sekvence FLASH, což garantovalo krátkou akviziční dobu při určitém nastavení akvizičních parametrů. Pro první obraz, který disponuje kratším parametrem TR a menším zvoleným průměrováním, byla doba měření přibližně dvě a půl minuty. Kdežto pořízení druhého snímku, kde je parametr TR a průměrování vyšší, trvalo více než osm minut. Výsledné obrazy jsou T_1 – váhované. Jako hyperintenzivní se na takových obrazech jeví vrstva sítnice, která je po chemické stránce velmi bohatá na proteiny, na rozdíl od sklivce, který je většinou tvořen vodou. Při tomto měření bylo embryo uloženo pouze ve fyziologickém roztoku, nikoliv uvnitř vejce. Tudíž světlé skvrny nacházející se převážně v levé části obrazu odpovídají tomuto roztoku složenému převážně z vody.

Pořadové č. 3 – 4: pro tyto snímky byla využita sekvence MSME. Porovnáním obrazů je možno pozorovat rozdíly v SNR při různě zvoleném průměrování. Detailně o této problematice pojednává předešlá kapitola.

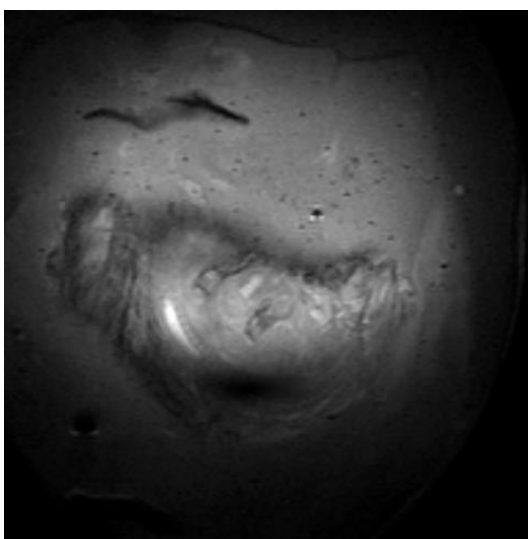
Pořadové č. 5 – 12: listováním mezi těmito obrazy lze sledovat fakt, jak měnící se parametr TE ovlivňuje výsledný snímek. Opět je tato skutečnost diskutována v předchozí kapitole.

Pořadové č. 13 – 16 : slepičí embryo v tomto druhu fantomu nemělo zcela vhodnou polohu, jelikož se naprosto dokonale přizpůsobilo tvaru žloutku, na kterém bylo umístěno. Z toho vyplývá, že jednotlivé řezy disponují vždy jen částí těla embrya. Na obrázku s **pořadovým č. 13** jsou nejlépe pozorovatelné struktury jako prodloužená mícha a zadní mozek. Na snímku s **pořadovým č. 16** lze vidět vyvíjející se chrupavčité základy obratlů a část kolekce tekutiny (artefakt). U tohoto snímku je o něco lepší SNR, neboť je nastaveno průměrování na vyšší hodnotu – 2.

Pořadové č. 17: na tomto snímku je zachyceno embryo s plodovými obaly, které se na obrazu jeví jako tmavý plášť okolo embrya. Konkrétně jde o amnion, který má ochrannou funkci a chorioalantois pro respiraci a trávení.

Pořadové č. 17 – 19: zde jsou naznačeny odlišnosti různých řezů. Nejlépe pozorovatelné struktury, např. vyvíjející se obratle či artefakty zachycené v páteřním kanálu jsou pozorovatelné na snímku s **pořadovým č. 18**.

Pořadové č. 20 – 22: opět jde o fantom s nevhodně uloženým embryem. Při listování těmito třemi snímky lze postupně pozorovat úseky těla embrya. Hlavu se zřetelně zrakovým orgánem zabírajícím velkou část (obraz s **pořadovým č. 20**), dvoukomorové srdce a diferencované obratle (obraz s **pořadovým č. 21**), spodní část těla s ostatními obratli a artefakt v páteřním kanálu (obraz s **pořadovým č. 22**). V editoru geometrie je možnost „zkosit“ řezy. Tato eventualita byla využita a pro porovnání se snímkem v *Prohlížeči obrázků* (GUI) je tento snímek přiložen níže. Nicméně ač bylo vyzkoušeno mnoho variant „zkosení“, nebylo dosaženo toho, aby bylo možné zobrazit celé tělo embrya na jednom snímku.



Obr. 32: Využití možnosti „zkosení“ na fantomu žele_2

Pořadové č. 23 – 26: tyto snímky mají poukázat, jak se mění charakter obrazu při změně parametru TR. Pro tento a všechny následující snímky byla zvolena pulzní sekvence RARE. Výsledné obrazy vždy tvoří pouze jeden echo signál. Snahou pro obdržení T_1 – váženého obrazu je co nejkratší TR, snímek s **pořadovým č. 25** však dokazuje, že při zvolení velmi krátkého TR dochází ke snížení SNR a embryo na takovém snímku je jen špatně rozeznatelné. Snímek s **pořadovým č. 26** se od **čísla 24** liší pouze rozdílným řezem, kvůli zvýraznění oka.

Pořadové č. 27 – 29: tyto obrazy jsou zaměřeny na stejnou problematiku jako předchozí, tzn. vliv změny TR na výsledný obraz. Poslední snímek (**pořadové č. 29**) byl navíc pořízen při zvolení jiné tloušťky řezu. Je zde dobře pozorovatelná pigmentová vrstva sítnice.

Pořadové č. 30 – 33: procházením těchto snímků je možno sledovat jednotlivé řezy slepičím embryem. Přičemž poslední dva obrazy (**pořadové č. 32 a 33**) se liší ve zvolené tloušťce řezu. Detailnější struktury zárodku jsou špatně viditelné, nicméně vyvíjející se páteř tvořená chrupavčitými obratli a artefakty tvořené kolekcí tekutiny jsou zde

pozorovatelné. Snímek s **pořadovým č. 32** opět nabízí pohled na plodové obaly, které embryo neustále obklopují.

Pořadové č. 34 – 35: zde je zachyceno embryo umístěné ve fyziologickém roztoku. Rozdíl v těchto snímcích je pouze v jinak zvolené tloušťce řezu. Jedná se o jedny z mála obrazů, kde lze dobře pozorovat vyvíjející se ocas embrya. Tmavá skvrna uprostřed obrazu s největší pravděpodobností reprezentuje játra, neboť je známo, že relaxační doba T_2 je pro játra nízká, proto se na T_2 – vážených obrazech, zobrazuje tmavě. Na snímku napravo od jater se potom nachází srdce.

Pořadové č. 36 – 42: Zdaleka nejlepších výsledků dosahují obdržené obrázky fantomu žele při zvolené sekvenci RARE. Na těchto snímcích lze pozorovat struktury jako: zrakový orgán, srdce, vyvíjející se obratle tvořené chrupavkou, játra, artefakt v páteřním kanálu, který je zde dobře viditelný nebo členitý mozek. Jednotlivé části mozku jsou dobře rozeznatelné na snímku s **pořadovým č. 38**. Na snímku s **pořadovým č. 36** se pod játry nejspíše nalézá žaludek.

Pořadové č. 36 – 38: tyto snímky disponují stejně nastavenými parametry a uživateli je umožněno listování napříč třemi po sobě následujícími řezy.

Pořadové č. 39 – 41: mají obrazy, které disponují odlišně nastavenou tloušťku řezu.

Pořadové č. 42: má snímek, jehož parametr TR je nastaven na hodnotu 4000 ms, což je o 500 ms více než u ostatních z tohoto souboru. Změny oproti předchozímu snímku se stejně nastavenými parametry (kromě TR, **pořadové č. 41**) jsou pro pozorování anatomických struktur zanedbatelné.

Pořadové č. 43 – 44: na těchto snímcích je embryo taktéž rozděleno na části, kvůli špatnému uložení. V první části (**pořadové č. 43**) je vystižena hlava embrya s mohutným okem. Dále ústa, která zatím nemají podobu zobáku, neboť je jeho vývin zahájen až v pozdější době. Na druhém snímku s **pořadovým č. 44** je uprostřed obrazu možno pozorovat obě srdeční komory, které jsou rozděleny pomocí komorového septa. Opět na tomto obrázku jasně září artefakt uložený v páteřním kanálu.

Závěr

Diplomová práce se zabývá problematikou týkající se optimalizace MR měření slepičích embryí. V úvodu práce je věnována pozornost teoretickým základům týkajících se obecně principů magnetické rezonance. V další kapitole je taktéž teoreticky popsáno několik pulzních sekvencí, z nichž byla většina využita při experimentech. Součástí teoretické části práce je také přehledný popis embryonálního vývoje slepičího embrya od prvního dne až po líhnutí.

Následující kapitoly jsou zaměřeny více prakticky. V první řadě bylo provedeno několik měření, pomocí nichž byla zjištěna ideální metoda pro udržování a monitorování teploty uvnitř slepičího vejce. ÚPT v Brně nabízí dva systémy pro udržování teploty – ohřev vodní lázně a proudícího vzduchu. Byly zvoleny čtyři přístupy využívající tyto metody nebo jejich kombinace. V prvním případě byla pro udržování teploty zvolena vodní lázeň, která nebyla shledána za dostačující možnost pro zachování teploty na požadované hodnotě. Průměrná teplota dosáhla pouze 27,1 °C, což je téměř o deset stupňů méně, než bylo vyžadováno. Druhá varianta využívající obou systémů – vodní lázeň i cirkulující teplý vzduch již vykazovala mnohem lepší výsledky. V průměru teplota dosahovala 36 °C, jakmile byla monitorována změna teploty vejce během měření, nastala regulace prostřednictvím změny teploty cirkulujícího vzduchu. Reakce na změnu teploty byly poměrně rychlé. U třetí metody bylo využito cirkulujícího vzduchu pouze k předehtání prostoru uvnitř MR, dále již k udržení optimální teploty sloužila vodní lázeň. Metoda se projevila jako nedostačující, jelikož téměř lineární pokles teploty způsobil, že ve výsledku byla průměrná teplota pouhých 30 °C. Dobrých výsledků dosahovala čtvrtá varianta, kdy po nutném vyhřátí cirkulujícím vzduchem dosahovala teplota požadovaných hodnot okolo 37 °C, avšak na úkor vysoušení pozorovaného objektu. Při tomto experimentu bylo využito pouze systému, který je založený na proudění teplého vzduchu, průměrná teplota byla 36 °C. Jako optimální metoda pro udržení požadované teploty uvnitř vejce byla shledána druhá varianta využívající obou systémů pro regulaci teploty.

Šestá a sedmá kapitola se zabývá návrhem a realizací fantomu pro měření. Za nejjednodušší vytvořený fantom je bráno neoplozené vejce, do kterého bylo implantováno mrtvé slepičí embryo. Tento fantom posloužil jako testovací při prvních měření, avšak z důvodu obtížné manipulace a neustálého pohybu embrya uvnitř vaječných struktur bylo navrženo a zrealizováno několik fantomů, které obsahovaly uměle vytvořené struktury. U prvních dvou fantomů byl umělý bílek vyroben z žele a želatiny. Tato metoda měla své pro i proti. Vytvoření takových fantomů trvalo kratší dobu, nicméně tvorba vzduchových bublin či nevhodná počáteční teplota umělého bílku se nejevila jako ideální. Proto byla k vytvoření umělých struktur (bílek a žloutek) zvolena jiná metoda nazývaná sferifikace.

Využitím reakce alginátu sodného a chloridu vápenatého došlo k vytvoření umělého bílku a taktéž byla pomocí této techniky zpevněna žloutková membrána. Po vpravení embrya dovnitř takto připravených struktur byl fantom připraven pro měření. Při přípravě všech fantomů bylo dbáno na to, aby nedošlo k poškození embrya a zároveň byly obdrženy co nejkvalitnější snímky anatomických struktur slepičího embrya prostřednictvím magnetické rezonance.

Obdržené obrazy je možno souhrnně sledovat ve vytvořeném GUI v prostředí Matlab. Uživatelské rozhraní je vytvořeno tak, aby intuitivně navádělo uživatele ke zvolení pulzní sekvence a druhu fantomu. Ke každému snímku jsou k dispozici informace o nastavených parametrech pro daný obraz. Tento program lze nalézt v příloze pod názvem *Prohlizec.m*.

Stěžejní kapitolou diplomové práce je popis anatomických struktur zobrazovaného embrya. Tato část práce připomíná anatomický atlas, ve které jsou jasně a stručně popsány jednotlivé anatomické struktury, kterými embryo v této části vývoje disponuje. V další kapitole jsou poté jednotlivé struktury detailně charakterizovány a diskutovány. Velmi dobře lze na většině snímků pozorovat mozek, chrupavčité obratle, zrakový orgán, ale také artefakt v podobě kolekce tekutiny a další.

Podle pozorovatelných struktur slepičího embrya pomocí MR lze předpokládat, že embryonální vývoj byl zastaven přibližně v průběhu pátého dne. Nasvědčují tomu události, které v tomto dni obvykle probíhají nebo již vyvinuté struktury zárodka. Kupříkladu je možno během pátého dne pozorovat diferencované chrupavčité základy obratlů. Ještě však nelze pozorovat chrupavčité výběžky obratlů, které vznikají až v průběhu sedmého dne. Dále jsou rozlišitelné části mozku a začínají se diferencovat okcipitální laloky. Na druhou stranu by měly být v pátém dni embryonálního vývoje lépe pozorovatelné vyvíjející se končetiny. Tato neschopnost lépe pozorovat zárodky končetin je dána mnoha faktory, např. špatné nastavení parametrů pro měření, vada při embryonálním vývoji, poškození embrya během manipulace, atd.

Na závěr lze tedy zkonstatovat, že jako optimální pulzní sekvence se pro pozorování anatomických struktur slepičího embrya jeví sekvence RARE a MSME při nastavení akvizičních parametrů tak, aby vzniklé obrazy byly nejlépe T_2 – vážené.

Seznam použitých zkratek

apod.	A podobně
atd.	A tak dále
BW	Šířka pásma (Bandwidth)
cca.	Cirka
CP	Carr-Purcellova pulzní sekvence
CPMG	Carr-Purcell a Meiboom-Gill pulzní sekvence
CSF	Mozkomíšní mok (cerebrospinal fluid)
EKG	Elektrokardiograf
EPI	Sekvence s ultra-rychlou akvizicí dat (Echo Planar Imaging)
FA	Sklápěcí úhel magnetizace RF pulzem (Flip Angle)
FID	Volně indukovaný signál (Free Induction Decay)
FLASH	Aplikace rychlých sekvencí s nízkými sklápěcími úhly (Fast Low Angle Shot)
FOV	Velikost zobrazovacího pole (Field of View)
FSE	Fast Spin Echo
GE	Gradientní echo
GUI	Grafické uživatelské rozhraní (Graphical User Interface)
ID	Vnitřní průměr (Inner Diameter)
IES	Inter Echo Spacing

InD	Vzdálenost mezi řezy (Interslice Distance)
IR	Inversion Recovery
KL	Kontrastní látka
LIN	Lineární
MR	Magnetická rezonance
MRI	Magnetic Resonance Imaging
MSME	Multi Slice Multi Echo
MTX	Velikost matice (Matrix)
např.	Například
N(H)	Hustota protonových jader
PAT	Paralelní akviziční techniky
RARE	Rapid Acquisition with Relaxation Enhancement
RF	Radiofrekvenční (Radio Frequency)
RO	Pouze přijímač (Receive Only)
SE	Spin echo
SNR	Poměr mezi signálem a šumem (Signal-to-noise ratio)
SPGR	Spoiled Gradient Echo
SR	Saturation Recovery
ST	Šířka řezu (Slice Thickness)
SUC	Povrchová cívka (Surface Coil)

TE	Zpoždění signálu (Time Echo)
TI	Inverzní čas (Time inversion)
TR	Repetiční čas (Time Repetition)
TSE	Turbo Spin Echo
tzn.	To znamená
tzv.	Takzvaně
ÚPT	Ústav přístrojové techniky
UTE	Sekvence s ultrakrátkými echo časy (Ultra Short Echo Times)

Seznam použité literatury a zdrojů

- [1] BROWN, Mark A. a Richard C. SEMELKA. *MRI: Basic Principles and Applications, Third Edition*. New Jersey: Wiley, 2003. ISBN 0-471-43310-1.
- [2] SCHILD, Hans H. *MRI, Made Easy: (... Well Almost)*. Berlin: Schering AG, 1990. ISBN 3-921817-41-2.
- [3] DRASTICH, Aleš. *Tomografické zobrazovací systémy*. Brno: VUT FEKT, ÚBMI, 2004. Skripta. ISBN 80-214-2788- 4.
- [4] KAY, Helen; SPRITZER, Charles. *Glob. libr. women's med.* [online]. 2008 [cit. 28.10.2014]. Dostupné z: http://www.glowm.com/section_view/heading/Magnetic%20Resonance%20Imaging%20in%20Gynecology/item/67 ISSN 1756-2228.
- [5] BERNSTEIN, Matt A, Kevin Franklin KING a Ziaohong Joe ZHOU. *Handbook of MRI pulse sequences*. Boston: Academic Press, 2004, ISBN 13: 01-209-2861-2.
- [6] MUNIR, Elias. *Intraoperative neurophysiologic monitoring* [online]. [cit. 2.11.2014]. Dostupné z: <http://www.iomonitoring.org/mrphysics.htm>
- [7] MCROBBIE, Donald W., Elizabeth A. MOORE, Martin J. GRAVES a Martin R. PRINCE. *MRI from picture to proton, Second edition*. Cambridge, UK: Cambridge University Press, 2006. ISBN 978-051-1349-447.
- [8] Chromservis. [online]. [cit. 2.11.2014]. Dostupné z: <http://chromservis.cz/item/termostat-st1-a-40-sklenene-dvere-3-40-c-67-1?lang=CZ>
- [9] SAI - Instruments For Small Animals. [online]. [cit. 2.11.2014]. Dostupné z: http://www.i4sa.com/web_app/main/defaultProduct.aspx?ID=76&PT=3
- [10] Thermo Scientific Haake DC10-P5/U Heating Circulator Baths - Fisher Scientific. [online]. [cit. 2.11.2014]. Dostupné z: http://www.fishersci.com/ecom/servlet/fsproductdetail_10652_11838421__-1_0
- [11] SAI - Instruments For Small Animals. In: [online]. [cit. 2.11.2014]. Dostupné z: <http://www.google.cz/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&ved=0CCAQFjAA&url=http%3A%2F%2Fwww.i4sa.com%2Fdocuments%2FFOTemperature.pdf&ei=AQaLVMz9M4TeaLPzgrAD&usg=AFQjCNFfeBd2n9CsQ3u6q1fCAhy0IHKBaQ&sig2=XZ7jeEHgXIMwgrSinSlgrw&bvm=bv.81828268,d.d2s>

- [12] SEIFER, Marek. Chemická kuchařka pro děti [online]. 2010 [cit.22.11.2014]. Diplomová práce. Masarykova univerzita, Pedagogická fakulta. Vedoucí práce Jiří Šibor. Dostupné z: <http://is.muni.cz/th/173971/pedf_m/>.
- [13] REECE, William O. *Fyziologie a funkční anatomie domácích zvířat*. 2. vyd. Praha: Grada, 2011. ISBN 80-247-3282-3.
- [14] BOEHLER, Patrick. China: Fake Chicken Eggs Add to List of Fake-Food Scandals. [online]. [cit.22.11.2014]. Dostupné z: <http://newsfeed.time.com/2012/11/06/how-to-make-a-rotten-egg/>
- [15] KEY. How to Identify Fake Chicken Eggs. [online]. [cit.2.12.2014]. Dostupné z: <http://www.chinahush.com/2009/04/24/how-to-identify-fake-chicken-eggs/>
- [16] China's 10 Steps to Make a Fake Egg. [online]. [cit.2.12.2014]. Dostupné z: <http://www.weirdasianews.com/2007/05/04/chinas-10-steps-to-make-a-fake-egg/>
- [17] F.M. Kirby Research Center for Functional Brain Imaging. [online]. [cit.21.12.2014]. Dostupné z: <http://mri.kennedykrieger.org/preclinical/biospec.html>
- [18] Technical Details RF Surface Coils 1H and 1H/X - Planar receive-only surface coils with various diameters: Bruker Corporation. [online]. [cit.21.12.2014]. Dostupné z: <http://www.bruker.com/products/mr/preclinical-mri/rf-coils/rf-surface-coils-1h-and-1hx/technical-details.html>
- [19] SHORT, Michael P., Xavier R. GONZALEZ BARRIOS a Argelio A. MALDONADO. *SPHERIFICATION/REVERSE SPHERIFICATION AUTOMATED AND INTEGRATED APPARATUS AND METHOD* [patent]. A01K 43/00 (2006.01), WO201414159678. Uděleno 02.10.2014.
- [20] MECHL, Marek, Jaroslav TINTĚRA a Jan ŽIŽKA. *Protokoly MR zobrazování*. 1. vyd. Praha: Galén, c2014, 103 s. ISBN 978-80-7492-109-4.
- [21] ŠATAVA, Miloš et al. *Chov drůbeže: Velká zootechnika*. 1. vyd. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 1984, 512 s.
- [22] KŘIVINKA, Jan et al. Líhnutí drůbeže. In: *Speciální zootechnika: učebnice pro vysoké školy zemědělské*. 1. vyd. Praha: SZN, 1960, s. 143-147.
- [23] KOUDELA, Karel. Rozmnožování drůbeže: Tvorba vejce. In: JELÍNEK, Pavel et al. *Fyziologie hospodářských zvířat*. 1. vyd. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2003, s. 336. ISBN 8071576441.

- [24] PIGNOLET, Louis H., Amy Sue WALDMAN, Linda SCHECHINGER, Geeta GOVINDARAJOO, James S. NOWICK a TED LABUZA. The Alginate Demonstration: Polymers, Food Science, and Ion Exchange. *Journal of Chemical Education* [online]. 1998, vol. 75, issue 11, s. 1430-1431 [cit. 2015-04-20]. DOI: 10.1021/ed075p1430. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ed075p1430>
- [25] BELLAIRS, Ruth a Mark OSMOND. 2005. *The atlas of chick development*. 2nd edition. Boston: Elsevier, xxiv, 470 p. ISBN 01-208-4791-4.
- [26] VÁLEK, Vlastimil a Jan ŽIŽKA. *Moderní diagnostické metody*. 1. vyd. Brno: Institut pro další vzdělávání pracovníků ve zdravotnictví, 1996, 43 s. ISBN 80-7013-225-6.

Příloha

Obsah přiloženého DVD

- Složky se snímky seřazené dle druhu pulzní sekvence:
 - o FLASH_2D
 - o MSME_8E_bas
 - o MSME_PD_T2
 - o RARE_T1w
 - o RARE_T2w
- Teplota_hodnoty – obsahuje čtyři soubory (Excel) s naměřenými teplotami uvnitř vejce
- Data.xlsx
- Funkce (Matlab):
 - o NacteniDat.m
 - o Posun.m
 - o Prohlizec.m (hlavní funkce)
 - o VyberFantomu.m
 - o VyberSekvence.m
 - o VypisData.m