

FAKULTA ELEKTROTECHNIKY A KOMUNIKAČNÍCH
TECHNOLOGIÍ
ÚSTAV RADIOELEKTRONIKY

FACULTY OF ELECTRICAL ENGINEERING AND COMMUNICATION
DEPARTMENT OF RADIO ELECTRONICS

Měření relaxací a difuzí tkáňových kultur smrku

Relaxation and diffusion measurement of spruce tissue culture

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE
BACHELOR'S THESIS

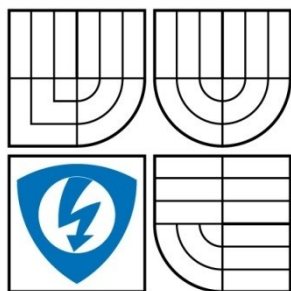
AUTOR PRÁCE
AUTHOR

Martin Fejgl

VEDOUCÍ PRÁCE
SUPERVISOR

prof. Ing. Karel Bartušek, DrSc.

BRNO, 2009



**VYSOKÉ UČENÍ
TECHNICKÉ V BRNĚ**

**Fakulta elektrotechniky a
komunikačních technologií**

Ústav radioelektroniky

Bakalářská práce

bakalářský studijní obor

Elektronika a sdělovací technika

Student: Martin Fejgl
Ročník: 3

ID: 73053
Akademický rok: 2008/2009

NÁZEV TÉMATU:

Měření relaxací a difuzí tkáňových kultur smrku

POKYNY PRO VYPRACOVÁNÍ:

Proměřte relaxační a difúzní vlastnosti tkáňových kultur metodami MR tomografie
Zpracujte měřená data a zhodnoťte výsledky měření.

DOPORUČENÁ LITERATURA:

[1] KIMMICH, R. NMR tomography, diffusometry and Relaxometry. Heidelberg: Springer, 1987.

[2] BLIMLICH, B. NMR Imaging of Materials. Oxford: Clarendon Press, 2000.

[3] MAIR, R.W., ROSEN, M.S., WANG, R., CORY, D.G., WALSWORTH, R.L. Diffusion NMR methods applied to xenon gas for materials study. Magn. Reson. Chem., 2002, no. 40, p. 29-39.

Termín zadání: 9.2.2009

Termín odevzdání: 5.6.2009

Vedoucí práce: prof. Ing. Karel Bartušek, DrSc.

prof. Dr. Ing. Zbyněk Raida

předseda oborové rady

UPOZORNĚNÍ:

Autor bakalářské práce nesmí při vytváření bakalářské 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 § 152 trestního zákona č. 140/1961 Sb.

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ
FAKULTA ELEKTROTECHNIKY A KOMUNIKAČNÍCH TECHNOLOGIÍ
ÚSTAV RADIOELEKTRONIKY

Měření relaxací a difuzí tkáňových kultur smrku

ABSTRAKT

Tato bakalářská práce pracuje se zevrubným popisem magnetické rezonance a měřením relaxací a difuzí tkáňových kultur smrku. Dále se zabývá zpracováním intenzit shluků tkáňových kultur smrku a výpočtem relaxačních časů T_2 .

KLÍČOVÁ SLOVA

Magnetická rezonance, relaxace, difuze, relaxační čas T_2 .

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY
FACULTY OF ELECTRICAL ENGINEERING AND COMMUNICATION
DEPARTMENT OF RADIO ELECTRONICS

Relaxation and Diffusion Measurement of Tissue Culture

ABSTRACT

The bachelor thesis deals with detailed description of magnetic resonance as well as measurement of relaxation and diffusion of spruce tissue cultures. Volume of clusters contained in the spruce tissue cultures is processed and relaxation times T_2 are calculated.

KEYWORDS

Magnetic Resonance, Relaxation, Diffusion, Relaxation Time T_2 .

Bibliografická citace mé práce:

Fejgl, M. Měření relaxací a difuzí tkáňových kultur smrku. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií, 2009. 39 s. Vedoucí bakalářské práce prof. Ing. Karel Bartušek, DrSc.

Prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci na téma Měření relaxací a difúzí tkáňových kultur smrku jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucího bakalářské 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 bakalářské práce dále prohlašuji, že v souvislosti s vytvořením tohoto projektu jsem neporušil autorská práva třetích osob, zejména jsem nezasáhl nedovoleným způsobem do cizích autorských práv osobnostních a jsem si plně vědom následků porušení ustanovení § 11 a následujících autorského zákona č. 121/2000 Sb., včetně možných trestněprávních důsledků vyplývajících z ustanovení § 152 trestního zákona č. 140/1961 Sb.

V Brně dne 5. června 2009

.....
podpis autora

Poděkování

Děkuji vedoucímu bakalářské práce prof. Ing. Karlu Bartuškovi, DrSc. za účinnou metodickou, pedagogickou a odbornou pomoc a další cenné rady při zpracování mé bakalářské práce.

V Brně dne 5. června 2009

.....
podpis autora

Obsah

OBSAH	1
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	2
SEZNAM OBRÁZKŮ	3
SEZNAM TABULEK.....	5
1. Úvod.....	6
2. Magnetická rezonance	7
2.1 Relaxační čas.....	7
3. Difuze	8
3.1 Brownův pohyb	8
3.1.1 Náhodná procházka	8
4. Spin	8
5. Navrhovaná metoda měření a zpracování	9
6. Naměřené vzorky	11
7. Postup při vyhodnocování	13
7.1 Zpracování obrazů	13
7.2 Zpracování hodnot v Excelu	15
8. Relativní počet protonových jader	18
8.1 Získávání hodnot	19
9. Difuze	25
9.1 Získávání hodnot	26
10. Srovnání jednotlivých metod vyhodnocování	30
11. Výpočet relaxačních časů T_2	32
12. Závěr	38
13. Použitá literatura	39

Seznam použitých zkratek

1. MZLU - Mendlova zemědělská a lesnická univerzita
2. MR - Magnetická rezonance
3. MRI - Magnetic Resonance Imaging
4. SE - Spin echo

Seznam obrázků

Obr. 1. Magnetická rezonance [6]	7
Obr. 2. Obrázek dvou Petriho misek umístěných nad sebou s koncentrací Nahoře 300mg Pb/l a dole 400mg Pb/l focený ze shora	11
Obr. 3. Obrázek dvou Petriho misek umístěných nad sebou s koncentrací Nahoře 300mg Pb/l a dole 400mg Pb/l focený z Boku	11
Obr. 4. Výsledky 8 dní po začátku kultivace jsou porovnány s kontrolou. Obrazy jsou váhované a) spinovou hustotou (kontrola)...	12
Obr. 5. Příklad měřeného obrazu 6-ti shluků a malé baňky naplněné vodou pro kontrolu a normování obrazových dat.	13
Obr. 6. Příklad měřeného obrazu 6-ti shluků a malé baňky naplněné vodou	14
Obr. 7. Příklad tabulky s vypočtenou střední hodnotou intenzity vybraných oblastí.	15
Obr. 8. Graf intenzit vzorků, vzorky byly kontaminovány 800 mg Pb/l.	17
Obr. 9. Graf intenzit shluků, pro jednotlivé kontaminace Pb a 11ms.	17
Obr. 10. Příklad výběru MR obrazu zobrazujícího tři shluky kontaminované koncentrací 900 mg/l Pb po 42 dnech růstu.	18
Obr. 11. Příklad výběru MR obrazu zobrazujícího tři shluky kontaminované koncentrací 100 mg/l Pb po 35 dnech růstu s jednotlivými fázemi výběru dat.	20
Obr. 12. Velikost integrálu intenzity obrazu shluku vyhodnocený z obrazů váhovaných spinovou hustotou v závislosti na době růstu, pro koncentrace Pb 0 - 400 mg/l	22
Obr. 13. Velikost integrálu intenzity obrazu shluku vyhodnocený z obrazů váhovaných spinovou hustotou v závislosti na době růstu, pro koncentrace P 500 - 1000 mg/l b.	22
Obr. 14. Velikost integrálu intenzity obrazu shluku vyhodnocený z obrazů váhovaných spinovou hustotou v závislosti na velikosti koncentrace Pb . Pro 3 dny až 21 dní.	23
Obr. 15. Velikost integrálu intenzity obrazu shluku vyhodnocený z obrazů váhovaných spinovou hustotou v závislosti na velikosti koncentrace Pb . Pro 24 dní až 42 dní.	23
Obr. 16. obraz shluků po Fourierově transformaci s detailem odečtení maximální intenzity obrazu 800mg Pb/l.	24
Obr. 17. PFGSE sekvence pro měření difúzí v heterogenních materiálech.	25
Obr. 18. Příklad vytvoření difúzního obrazu ze obrazu dif -25000, dif 0 a dif 25000.	26
Obr. 19. Příklad výběru 3 shluků v difúzním obrazu a určení jejich rozměru v pixelech (rozměry v pixelech jsou vyznačen červeným rámečkem). Jedná se o obraz s kontaminací 100 mg Pb/l a stáří vzorku je 35 dnů.	27
Obr. 20. Velikost plochy řezu shluky vyhodnocená z difúzních obrazů v závislosti na době růstu. Pro kontaminace 0 – 500 mg Pb/l.	28
Obr. 21. Velikost plochy řezu shluky vyhodnocená z difúzních obrazů v závislosti na době růstu. Pro kontaminace 600 – 1000 mg Pb/l.	28
Obr. 22. Závislost difúzního koeficientu růstu raných smrkových embryí olovem.	29
Obr. 23. Příklad MR obrazu váhovaného difúzí pro jeden shluk kontaminovaný koncentrací 1000 mg/l olova po 42 dnech růstu.	29
Obr. 24. Srovnání grafů jednotlivých metod vyhodnocování. a) změna počtu jader, b) změna maximální intenzity v průběhu růstu, c) změna plochy shluku v průběhu růstu	30
Obr. 25. Orientační obrázek zobrazující výběr části obrazu pro určení Intenzity	31
Obr. 26. Orientační obrázek zobrazující výběr celých shluků pro určení Integrálu intenzity vzorku	31
Obr. 27. Orientační obrázek váhovaného difúzí pro určení difuze	31
Obr. 28. Výsledný obraz T_2 pro kontaminaci nahoře 800mg Pb/l a dole 900mg Pb/l starý 31 dní od začátku kultivace. Bod a) označuje kultivovaný vzorek 800Pb mg/l bod b) pak	

jeho substrát, bod c) shluk vzorku 900mg Pb/l, d) pak jeho substrát, poslední bod e) označuje baňku s neionizovanou vodou.	32
Obr. 29. Příklad MR obrazů váhovaných relaxačním časem T_2 při růstu ranných smrkových embryí bez kontaminace kovy s vyznačením stáří ve dnech.	34
Obr. 30. Porovnání spin-spinového relaxačního času T_{2j} ader a substrátu na době růstu raných smrkových embryí kontaminovaných olovem	35
Obr. 31. Porovnání relaxačního času T_2 vzorku, substrátu a vody na době růstu.	35
Obr. 32. Graf relaxačních časů T_2 raných smrkových embryí kontaminovaných 100, 200, 300, 400 a 500 mg Pb/l v závislosti na stáří vzorku.	36
Obr. 33. Graf relaxačních časů T_2 raných smrkových embryí kontaminovaných 600, 700, 800, 900 a 1000 mg Pb/l v závislosti na stáří vzorku.	36
Obr. 34. Zobrazení růstu shluků kontaminovaných 800 mg Pb/l podle stáří vzorku.	37

Seznam tabulek

Tab. 1. Příklad části tabulky s hodnotami intenzit čeho vzorků, substrátů a vody, normovaných podle vody a podle substrátu.	16
Tab. 2. Část tabulky Max. intenzity Obrazu a Integrálu Obrazu s kontaminací 800 mg Pb/l.	21
Tab. 3. Max intenzita Obrazu a Integrál Obrazu s kontaminací 800 mg Pb/l.	34
Tab. 4. Příklad části tabulky s hodnotami intenzit vzorků, substrátů a vody, normovaných podle vody a podle substrátu a výsledného relaxačního času T_2	33
Tab. 5. Výsledné hodnoty relaxačního času T_2 raných smrkových embryí u kontroly v jednotlivých pozicích v obraze.	33
Tab. 6. Výsledné hodnoty relaxačního času T_2 raných smrkových embryí kontaminovaných 800 a 700 mg Pb/l.	33

1. Úvod

Mendlova zemědělská a lesnická univerzita (MZLU) studuje růst tkáňových kultur smrku. Její snahou je potvrdit hypotézu, že rostliny a rostlinné buňky při kontaminaci toxickými látkami přijímají větší množství vody, čímž dochází k rychlejšímu vyplavování těchto prvků. Jednou s možných použitelných technik je zobrazování na bázi magnetické resonance.

Úkolem této bakalářské práce je:

1. proměřit relaxační a difuzní vlastnosti tkáňových kultur metodami MR tomografie,
2. zpracovat změřená data a zhodnotit výsledky měření.

Na základě provedených měření tkáňových kultur smrku s různými kontaminacemi olova je třeba zpracovat výsledné obrazy.

2. Magnetická rezonance

Zobrazovací metoda Magnetic Resonance Imaging (MRI) byla vyvíjena od roku 1973, pracovali na ní Paul C. Lauterbur a Peter Mansfield. Oba vědci obdrželi v roce 2003 Nobelovu cenu za medicínu a fyziologii.



Obr. 1. Magnetická rezonance [1]

Magnetická rezonance je zobrazovací technika používaná především ve zdravotnictví k zobrazení vnitřních orgánů lidského těla. S pomocí MRI je možné získat řezy určité oblasti těla, ty dále zpracovávat a spojovat až třeba k výslednému 3D obrazu požadovaného orgánu. Magnetická rezonance využívá silné magnetické pole a elektromagnetické vlnění s vysokou frekvencí. Nenese tedy žádná rizika způsobená zářením. Podstatou barevného odlišení jednotlivých tkání je jejich rozdílné chování při stejném vnějším působení. [1]

Klady magnetické rezonance:

- 1) větší přesnost při zobrazení většiny orgánů,
- 2) neobsahuje škodlivé ionizující záření,
- 3) mnohem vyšší rozlišení než u rentgenu,
- 4) získání jednoho snímku za několik milisekund.

Zápory magnetické rezonance:

- 1) vysoké pořizovací i provozní náklady,
- 2) vyšší časové nároky na vyšetření,
- 3) při výskytu kovových materiálů v těle pacienta hrozí přehřátí

2.1 Relaxační čas

Relaxační čas je doba, za kterou se jádra po ukončení působení magnetického pole vrátí do svého základního stavu. [2]

3. Difuze

Difuze je proces rozptylování částic v prostoru. Veškeré látky mají tendenci přecházet z prostředí, kde jsou více koncentrovány, do prostředí s nižší koncentrací. Přírozenou vlastností látek je, že pokud se jejich částice mohou pohybovat, (molekuly v nehybném roztoku se pohybují na základě Brownova pohybu) rozptylují se do celého prostoru, kterého mohou dosáhnout, a postupně ve všech jeho částech vyrovnají svou koncentraci. [3]

3.1 Brownův pohyb

Brownův pohyb je náhodný pohyb mikroskopických částic v kapalném nebo plynném médiu. Je limitou náhodné procházky. Vysvětlením Brownova pohybu je, že molekuly v roztoku se vlivem tepelného pohybu neustále srážejí, přičemž směr a síla těchto srážek jsou náhodné, díky čemuž je i okamžitá poloha částice náhodná. [4]

3.1.1 Náhodná procházka

Náhodná procházka je v matematice a fyzice užívaná formalizace intuitivní myšlenky provádění náhodných kroků. Každý další krok, obvykle stejné délky, je učiněn náhodným směrem. [4]

4. Spin

Spin je vlastnost elementárních částic, jejíž ekvivalent klasická fyzika nezná. Představuje něco jako vnitřní moment hybnosti (to znamená, že spiny částic přispívají k celkovému momentu hybnosti tělesa). Pro každou částici je přesně daný, nelze ho nijak měnit. Může nabývat celých nebo polovičních násobků Planckovy konstanty $\hbar = 1,054 \cdot 10^{-34}$ Js. Hodnoty spinu proto značíme 0, 1/2, 1, 3/2, [1]

5. Navrhovaná metoda měření a zpracování

Techniku MRI je možné použít pro stanovení počtu vodíkových jader v biologických tkáních nebo při sledování růstu tkáňových kultur. Pro posouzení rychlosti růstu, zvětšování obsahu protonů a tvaru nárůstu shluku raných somatických embryí byla prováděna vyšetření pomocí MR technik [5]. Tato měření byla součástí výzkumu pro ověření hypotézy o zvýšení obsahu vody v průběhu růstu tkáňové kultury při kontaminaci kadmíem. K tomu účelu umístíme do pracovního prostoru tomografu měřenou tkáň, zvolíme si vhodný směr roviny řezu a měříme MR obraz v této rovině. Obraz je váhovaný spinovou hustotou a intenzita obrazu je úměrná počtu protonových jader ve zvoleném řezu. MR obraz je mapou rozložení protonů v měřeném shluku rostoucí tkáňové kultury [6].

Stejná technika byla použita pro charakterizování růstu raných smrkových embryí kontaminovaných olovem. Z MR obrazů byl vypočítán integrál intenzity shluků charakterizující počet protonů rostoucího shluku a stanoveny změny tohoto počtu při růstu.

Jednou z technik odhalování MR obrazu je metoda spinového echa (SE) [7]. Získaný obraz vybrané vrstvy je vážený spinovou hustotou. $M_0(x,y)$ je velikost snímaného MR signálu, závisící na spinové hustotě jader, citlivosti MR systému, velikosti sklápěcího úhlu (velikosti RF magnetického pole) a velikosti různých artefaktů. Současně je velikost intenzit v obraze závislá na relaxacích T_2 a T_1 (relaxace popisuje jak rychle je spin schopen návratu do termojaderné rovnováhy). Efekty ze spin-mřížkové relaxace T_1 a difuze mohou být považovány za zanedbatelné. Velikost obrazu MR pak může být vyjádřena výrazem [8]:

$$M(x, y) = M_0(x, y) \exp(-T_E/T_2) \quad (1)$$

V experimentech se pro stanovení relaxační času T_2 musejí měřit série obrazů s různými echo-časy T_E (Echo čas je čas snímání obrazu po excitaci jader). V každém bodě obrazů se vypočítává hodnota T_2 přes aproximaci křivek podle vztahu (1). Tímto způsobem může být zvýrazněn T_2 kontrast v obraze a kontrast spinové hustoty ve vybraném místě bude snížen. Zjednodušená metoda spočívá v měření jednoho MR obrazu pro vhodně vybranou hodnotu T_E s ohledem na očekávané relaxační časy T_1 a T_2 měřená v existujících tkáních [9]. V tomto případě nebude velikost obrazu váhována relaxačními časy několikanásobně kratšími než vybraný čas T_E a kontrast v obraze bude odpovídat relaxačním časům $T_2 > T_E$. Pro přesnější určení spinových relaxačních časů ve vybraném místě obrazu je výhodné eliminovat účinek spinové hustoty. Proto změříme MR obrazy pro dva časy echa T_E . Na základě definice (1) mohou být jejich velikosti vyjádřeny tímto způsobem [8]:

$$M_1(x, y) = M_0(x, y) \exp(-T_{E_1}/T_2) \quad (2)$$

$$M_2(x, y) = M_0(x, y) \exp(-T_{E_2}/T_2) \quad (3)$$

Čas T_{E1} by měl být tak krátký, jak jen je to možné z důvodů omezení měřicí sekvence a možnosti použití. Čas T_{E2} je vybrán podle předpokládaných relaxačních časů v měřeném vzorku (50 - 200 ms). Podíl obrazů $M_1(x,y)$ a $M_2(x,y)$ může být použit pro odstranění účinků spinové hustoty na kontrastu obrazu MR [8]:

$$M_1(x,y)/M_2(x,y) = \exp[-(T_{E1} - T_{E2})/T_2] \quad (4)$$

Zlogaritmováním vztahu (4) změníme podíl obrazů na jejich rozdíl. Velikost výsledného obrazu bude váhována pouze relaxačním časem T_2 podle vztahu [8]:

$$M_T = \ln[M_1(x,y)/M_2(x,y)] = \ln[M_1(x,y)] - \ln[M_2(x,y)] = -(T_{E1} - T_{E2})/T_2 \quad (5)$$

Mapu relaxačního času pak dostaneme vztahem [8]:

$$T_2 = (T_{E1} - T_{E2}) / \{ \ln[M_1(x,y)] - \ln[M_2(x,y)] \} \quad (6)$$

Zpracování obrazů výše uvedenými způsoby je omezeno šumem v obrazu, protože šum se touto úpravou zvětší

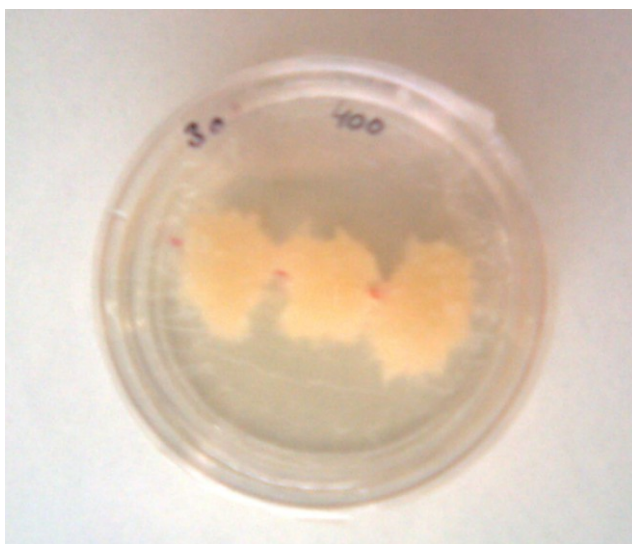
Pro měření byla použita technika spin-echo, protože na rozdíl od techniky gradientní-echo eliminuje vliv nehomogenity základního magnetického pole a obrazy mají lepší poměr signál-šum. S poměrem signál-šum také souvisí zvolená šířka řezu a velikost měřeného obrazu. S menší tloušťkou řezu se snižuje počet jader vytvářejících signál a poměr signál-šum klesá. Minimální tloušťka řezu je však pro zobrazení tkáňových kultur výhodná. Optimální tloušťka řezu je 2 mm. Velikost obrazu volíme s ohledem na velikost shluků tkáňových kultur a na velikost pracovní sondy. Pro zvýšení poměru signál-šum je možné měření několikrát opakovat a výsledky průměrovat. Měření se však časově značně prodlužuje. Vzhledem k relaxačním časům vody ($T_1 \approx 2$ s, $T_2 \approx 80$ ms) není možné měření rychle opakovat. Opakovací čas $T_R = 1$ s byl zvolen menší než spin-mřížkový relaxační čas. Je nutné zdůraznit, že pro obraz 256x256 pixelů je čas měření roven $256 \times T_R$

Pro odstranění nestability parametrů tomografu při dlouhodobém opakovaném měření byla v blízkosti měřených vzorků umístěna malá baňka naplněná deionizovanou vodou. Měřené velikosti intenzity každého obrazu byly normovány k velikosti intenzity vody v baňce. Protože nehomogenita v magnetickém pole sondy způsobuje změny intenzity v obraze, byly intenzity řezů shluků tkáňových kultur normovány na velikost intenzity obrazu v kultivačním médiu přímo pod shlukem. Tento typ zpracování umožňuje měřit až šest shluků v jednom obraze a zkrátit čas měření.

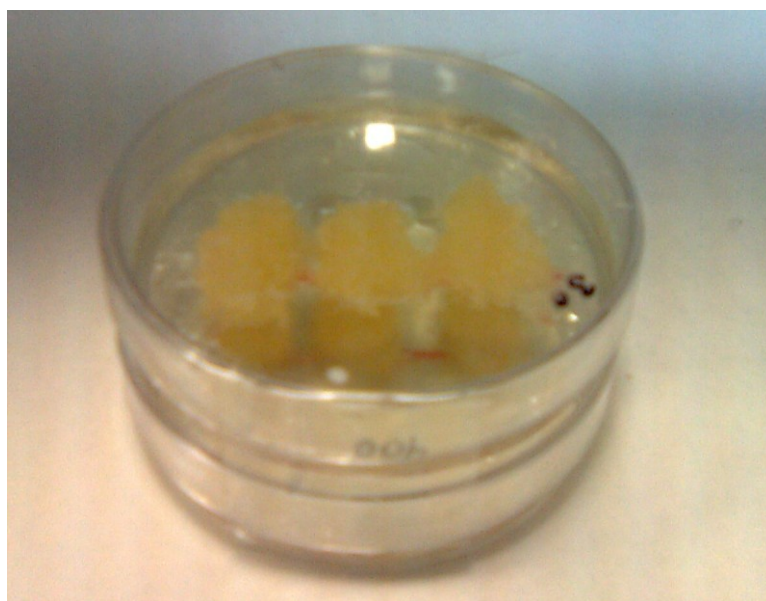
Experimenty byly prováděny na MR tomografickém systému s horizontálním magnetem s pracovním prostorem o průměru 120 mm, operujícím s magnetickým polem o indukci 4.7 T (tj. 200 MHz pro jádra ^1H). Aktivně stíněné gradientní cívky vytvářejí maximální velikost gradientního pole 180 mT/m. Data byla zpracována v programu Marevisi 8.2.

6. Naměřené vzorky

Tyto Petriho misky se vzorky tkání smrku s různou kontaminací Pb (0, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000 mg/l) byly měřeny pomocí magnetické rezonance. Výsledné obrazy těchto měření jsou vyhodnoceny v této bakalářské práci.



Obr. 2. Obrázek dvou Petriho misek umístěných nad sebou s tkáněmi znečištěnými olovem koncentrací 300 mg/l (horní miska) a 400 mg/l (spodní miska) Horní pohled.



Obr. 3. Obrázek dvou Petriho misek umístěných nad sebou s tkáněmi znečištěnými olovem koncentrací 300 mg/l (horní miska) a 400 mg/l (spodní miska) Boční pohled.

Měřené vzorky raných somatických embryí smrku, kontaminované různou koncentrací olova, byly kultivovány v plastových Petriho miskách (o průměru 50 mm). V každé misce byly umístěny tři shluky kontaminované stejnou koncentrací Pb. Pro měření byly v prostoru MR tomografu umístěny dvě Petriho misky nad sebou v definované poloze a pod nimi byla baňka s vodou. Axiální MR obrazy byly získány pomocí klasické sekvence spin-echo s následujícími parametry:

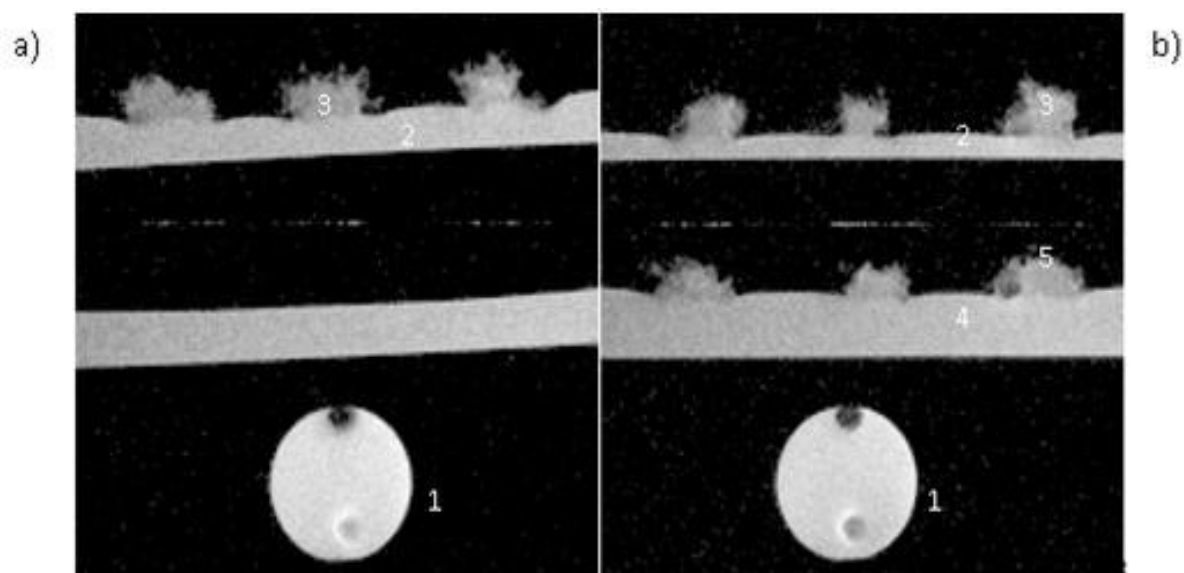
čas spinového echa $T_E = 11$ ms

čas opakování $T_R = 30$ ms

rozměr matice 256x256 pixelů (60x60 mm s rozlišením 0.234 mm/pixel)

tloušťka vrstvy = 2 mm

počet průměrování NS = 1



Obr. 4. Výsledky 8 dní po začátku kultivace jsou porovnány s kontrolou. Obrazy jsou váhované a) spinovou hustotou (kontrola), b) kontaminované nahoře 800 mg/l Pb (pozice 3) a dole 900 mg/l Pb (pozice 5),

7. Postup při vyhodnocování intenzit obrazů

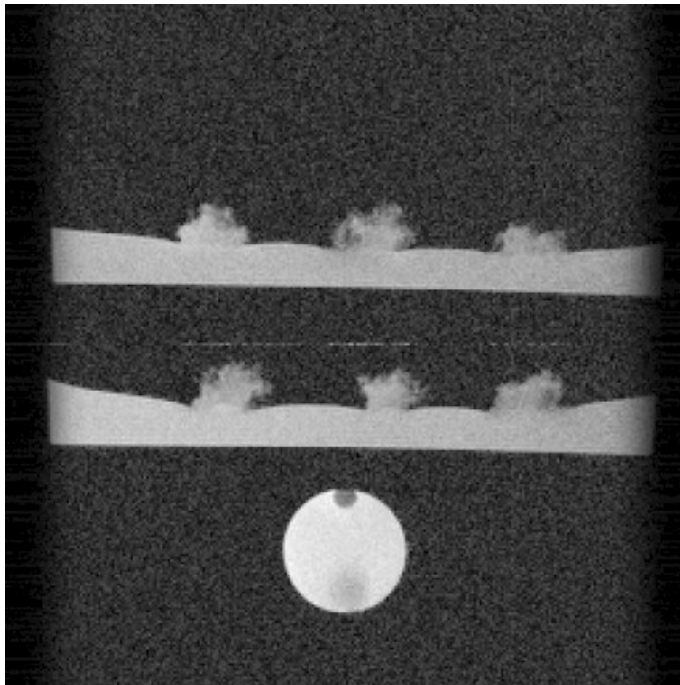
Ve dnech od 30.5.2008 do 11.7.2008 probíhalo v budově Ústavu přístrojové techniky Akademie věd měření vzorků tkáňových kultur smrku na MR tomografickém systému. Po změření všech vzorků následovala fáze vyhodnocování všech změřených obrazů.

7.1 Zpracování obrazů

Obdržené obrazy byly ve formátu *.MRD (formát *.MRD je přímý výstup dat z MR). Z důvodů zpracovatelnosti bylo potřeba obrazy převést do formátu *.MAT (formát *.MAT je formát souboru pro práci v programu Matlab a Marevisi). Obrazy byly převáděny v programu Marevisi 8.2.

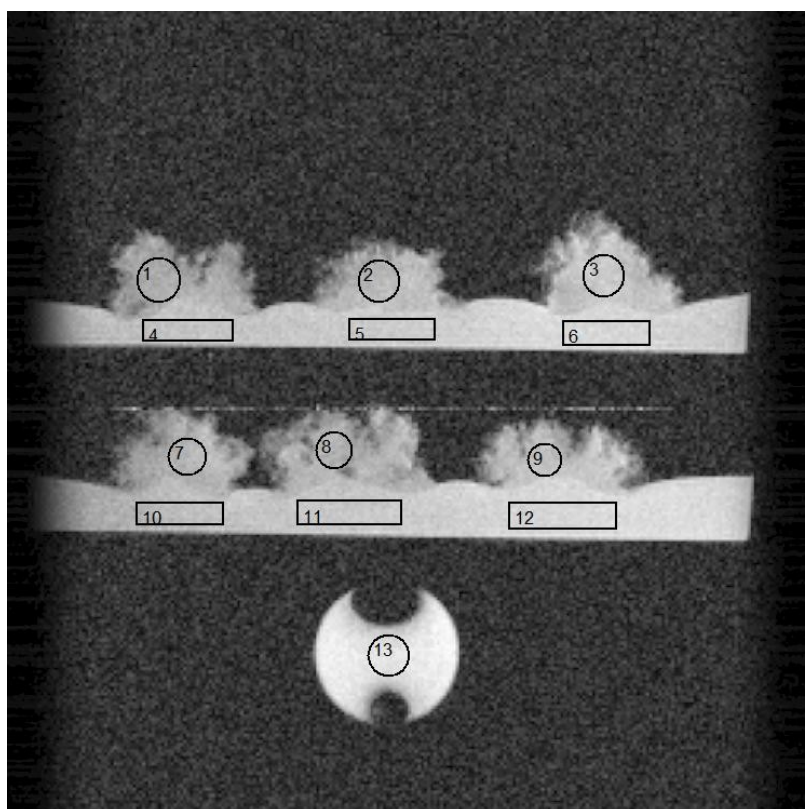
Převod byl následující:

- 1) načtení obrazu *.MRD,
- 2) Fourierova transformace načteného obrazu,
- 3) uložení jako komplexní data ve formátu *.MAT.



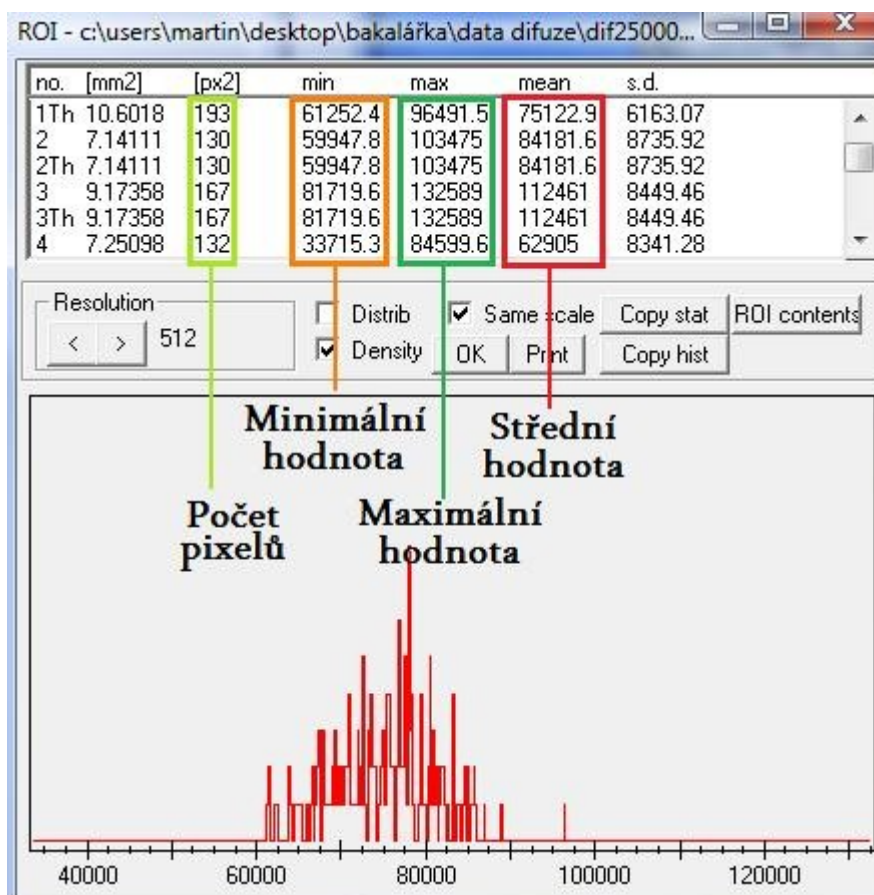
Obr. 5. Příklad měřeného obrazu 6-ti shluků a malé baňky naplněné vodou pro kontrolu a normování obrazových dat.

Po převodu všech (cca 350) obrazů se přešlo do fáze získávání hodnot z obrazů. Jednotlivé obrazy ve formátu *.MAT jsem postupně otevíral v programu Marevisi 8.2. a označoval části shluků a baňky s vodou, jak je možné vidět na Obr. 6. Příklad měřeného obrazu 6-ti shluků a malé baňky naplněné vodou pro kontrolu a normování obrazových dat (pozice 13), s vyznačením oblastí pro získání intenzity shluku. Shluky jsou kontaminovány nahoře 800 mg Pb/l (pozice 1, 2 a 3) a dole 900 mg Pb/l (pozice 7, 8 a 9.) Substrát se nachází na pozicích 4, 5, 6, 10, 11 a 12. Stáří vzorku bylo 31 dnů.



Obr. 6. Příklad měřeného obrazu 6-ti shluků a malé baňky naplněné vodou

Z vybraných oblastí jsem vybral střední hodnotu, kterou jsem zapsal do tabulky v Excelu pro pozdější zpracování. Střední hodnotu vybrané oblasti vypočítal a zobrazil v tabulce program Marevisi 8.2. Obr. 7. Příklad tabulky s vypočtenou střední hodnotou intenzity vybraných oblastí.



Obr. 7. Příklad tabulky s vypočtenou střední hodnotou intenzity vybraných oblastí.

7.2 Zpracování hodnot v Excelu

Tabulky vytvořené v Excelu pracují se středními hodnotami intenzity shluků a baňky s vodou. Hodnoty intenzity v tabulkách jsou normovány podle střední hodnoty intenzity vody a následně i substrátu. Normování podle střední hodnoty intenzity vody bylo nutné z důvodu srovnání intenzit všech vzorků vody na stejnou hodnotu. Intenzity baňky s vodou byly totiž v jednotlivých obrazech různé. Různé intenzity byly způsobeny tím, že každé měření probíhalo 3 dny po předchozím měření a byla různá citlivost magnetického pole. Ukázku tabulky můžete vidět v Tab. 1. Příklad části tabulky s hodnotami intenzit vzorků, substrátů a vody, normovaných podle střední hodnoty vody a podle substrátu.

Intenzita vzorků kontaminovaných 800 mg Pb/l v závislosti na stáří je na Obr. 8. Graf intenzit vzorků, vzorky byly kontaminované 800 mg Pb/l. Všechny hodnoty intenzity shluků a baňky s vodou daného vzorku ze všech měření se nejprve normovaly podle vody. Následně jsem normoval hodnoty intenzity shluků daného vzorku změřené v jednom dni podle střední hodnoty intenzity substrátu. Z takto znormovaných hodnot jsem vypočítal střední hodnoty intenzity shluků daného vzorku změřené v jednom dni pro výpočet relaxačních časů T_2 . T_2 jsem počítal podle vztahu (6).

Čtené hodnoty vzorků						
Stáří vzorku:	3 dny		7 dní		10 dní	
Den měření:	2.6.2008		6.6.2008		9.6.2008	
Typ:	Substrát	Vzorek	Substrát	Vzorek	Substrát	Vzorek
Voda:	$1,70 \cdot 10^5$		$1,33 \cdot 10^5$		$1,63 \cdot 10^5$	
800_nahoře_11ms 1:	$1,11 \cdot 10^5$	$9,17 \cdot 10^4$	$1,01 \cdot 10^5$	$8,52 \cdot 10^4$	$1,17 \cdot 10^5$	$9,82 \cdot 10^4$
800_nahoře_11ms 2:	$1,10 \cdot 10^5$	$1,13 \cdot 10^5$	$9,38 \cdot 10^4$	$9,21 \cdot 10^4$	$1,14 \cdot 10^5$	$9,98 \cdot 10^4$
800_nahoře_11ms 3:	$9,68 \cdot 10^4$	$6,48 \cdot 10^4$	$6,82 \cdot 10^4$	$5,38 \cdot 10^4$	$9,87 \cdot 10^5$	$8,04 \cdot 10^4$
Střední hodnota	$1,41 \cdot 10^5$					



Čtené hodnoty normované podle střední hodnoty intenzity vody:

Normováno podle střední hodnoty intenzity vody						
Stáří vzorku:	3 dny		7 dní		10 dní	
Den měření:	2.6.2008		6.6.2008		9.6.2008	
Typ:	Substrát	Vzorek	Substrát	Vzorek	Substrát	Vzorek
Voda:	$1,41 \cdot 10^5$		$1,41 \cdot 10^5$		$1,41 \cdot 10^5$	
800_nahoře_11ms 1:	$9,24 \cdot 10^4$	$7,62 \cdot 10^4$	$1,07 \cdot 10^5$	$9,04 \cdot 10^4$	$1,01 \cdot 10^4$	$8,50 \cdot 10^4$
800_nahoře_11ms 2:	$9,14 \cdot 10^4$	$9,36 \cdot 10^4$	$9,94 \cdot 10^4$	$9,77 \cdot 10^4$	$9,85 \cdot 10^4$	$8,64 \cdot 10^4$
800_nahoře_11ms 3:	$8,04 \cdot 10^4$	$5,38 \cdot 10^4$	$7,23 \cdot 10^4$	$5,70 \cdot 10^4$	$8,54 \cdot 10^4$	$6,96 \cdot 10^4$
Střední hodnota	$8,81 \cdot 10^4$		$9,29 \cdot 10^4$		$9,51 \cdot 10^4$	



Dále se hodnoty normovaly podle střední hodnoty substrátu:

Normováno podle substrátu						
Stáří vzorku:	3 dny		7 dní		10 dní	
Den měření:	2.6.2008		6.6.2008		9.6.2008	
Typ:	Substrát	Vzorek	Substrát	Vzorek	Substrát	Vzorek
Voda:	$1,41 \cdot 10^5$		$1,41 \cdot 10^5$		$1,41 \cdot 10^5$	
800_nahoře_11ms 1:	$8,81 \cdot 10^4$	$7,26 \cdot 10^4$	$9,29 \cdot 10^4$	$7,86 \cdot 10^4$	$9,51 \cdot 10^4$	$7,98 \cdot 10^4$
800_nahoře_11ms 2:	$8,81 \cdot 10^4$	$9,02 \cdot 10^4$	$9,29 \cdot 10^4$	$9,12 \cdot 10^4$	$9,51 \cdot 10^4$	$8,34 \cdot 10^4$
800_nahoře_11ms 3:	$8,81 \cdot 10^4$	$5,89 \cdot 10^4$	$9,29 \cdot 10^4$	$7,32 \cdot 10^4$	$9,51 \cdot 10^4$	$7,75 \cdot 10^4$
Střední hodnota		$7,39 \cdot 10^4$		$8,10 \cdot 10^4$		$8,02 \cdot 10^4$

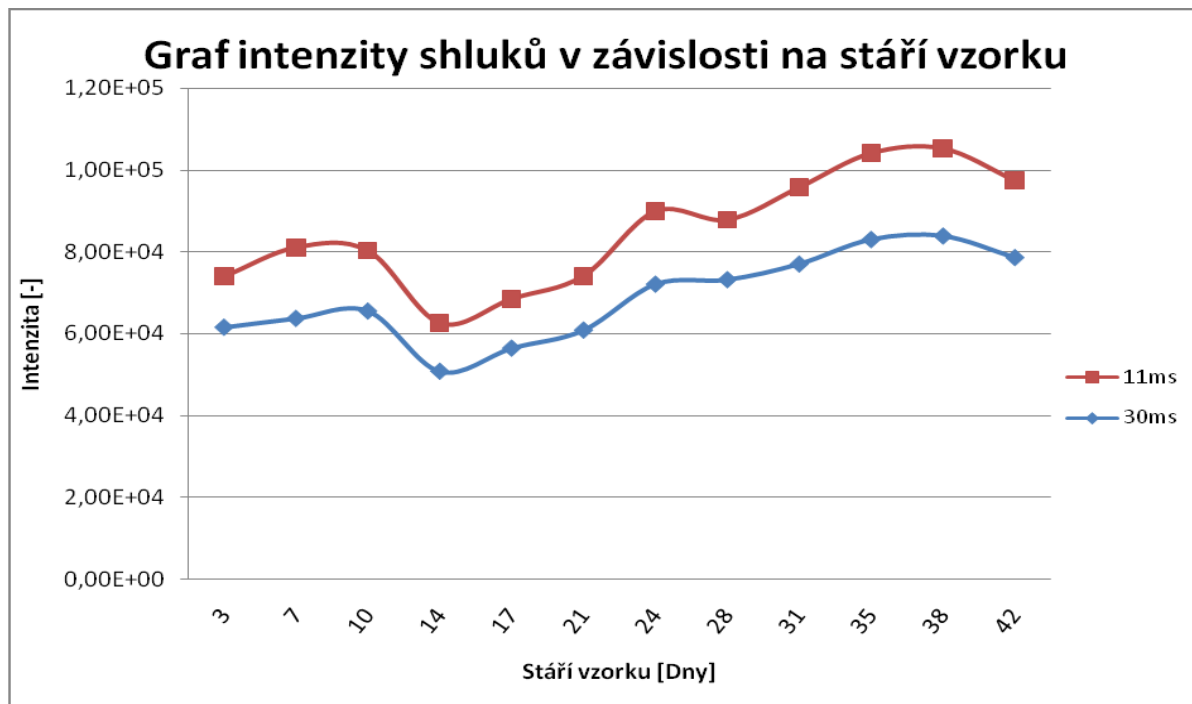


Nakonec se vypočítala střední hodnota normovaného substrátu

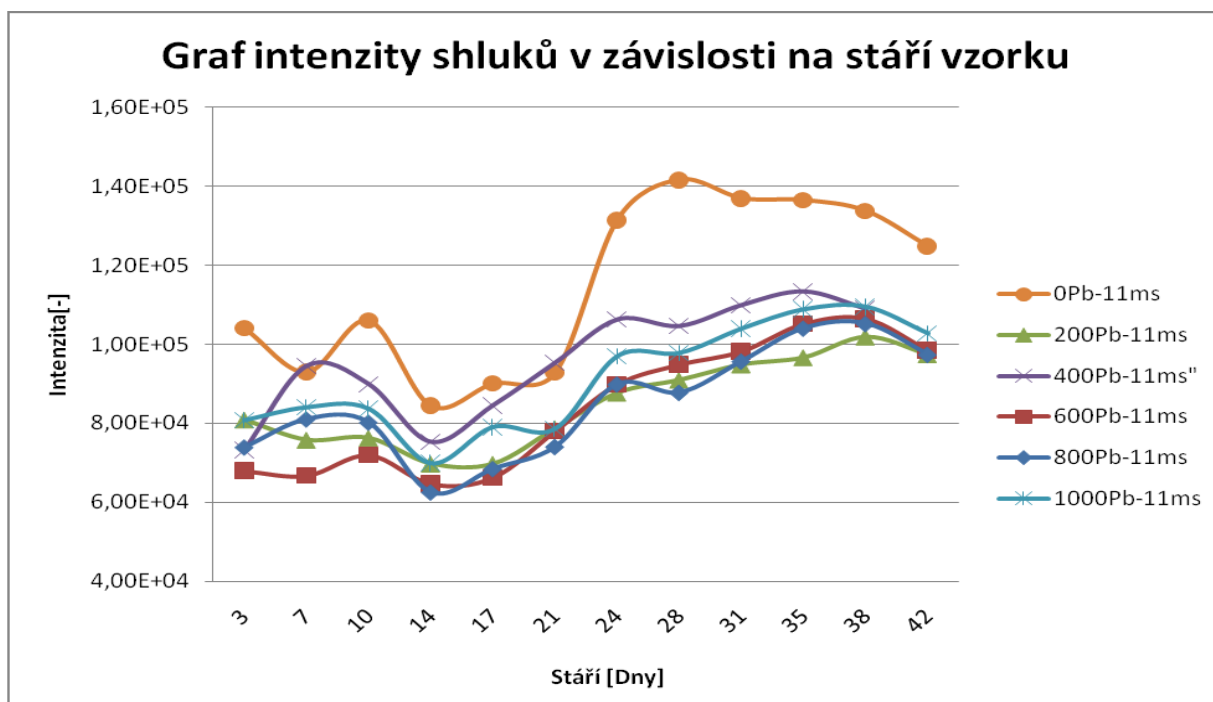
Střední hodnota normovaných substrátů			
800_dole_11ms :	$8,81 \cdot 10^4$	$9,29 \cdot 10^4$	$9,51 \cdot 10^4$
Střední hodnota normovaných vzorků			
800_dole_11ms :	$7,39 \cdot 10^4$	$8,10 \cdot 10^4$	$8,02 \cdot 10^4$

Tab. 1. Příklad části tabulky s hodnotami intenzit vzorků shluků, substrátů a vody, normovaných podle vody a podle substrátu.

Výsledný graf intenzity shluků po normování pomocí střední hodnoty vody a substrátu pro kontaminaci 800 mg Pb/l je možné vidět na Obr. 8. - graf intenzit vzorků, vzorky byly kontaminovány 800 mg Pb/l. Z grafu je možné vidět, jak se velikost intenzity vyvíjela. Dále je možné vidět, že větší intenzitu má vzorek 11 ms.



Obr. 8. Graf porovnání intenzit vzorků, pro 11 ms a 30ms s kontaminací 800 mg Pb/l.



Obr. 9. Graf intenzit shluků, pro jednotlivé kontaminace Pb a 11 ms.

8. Relativní počet protonových jader

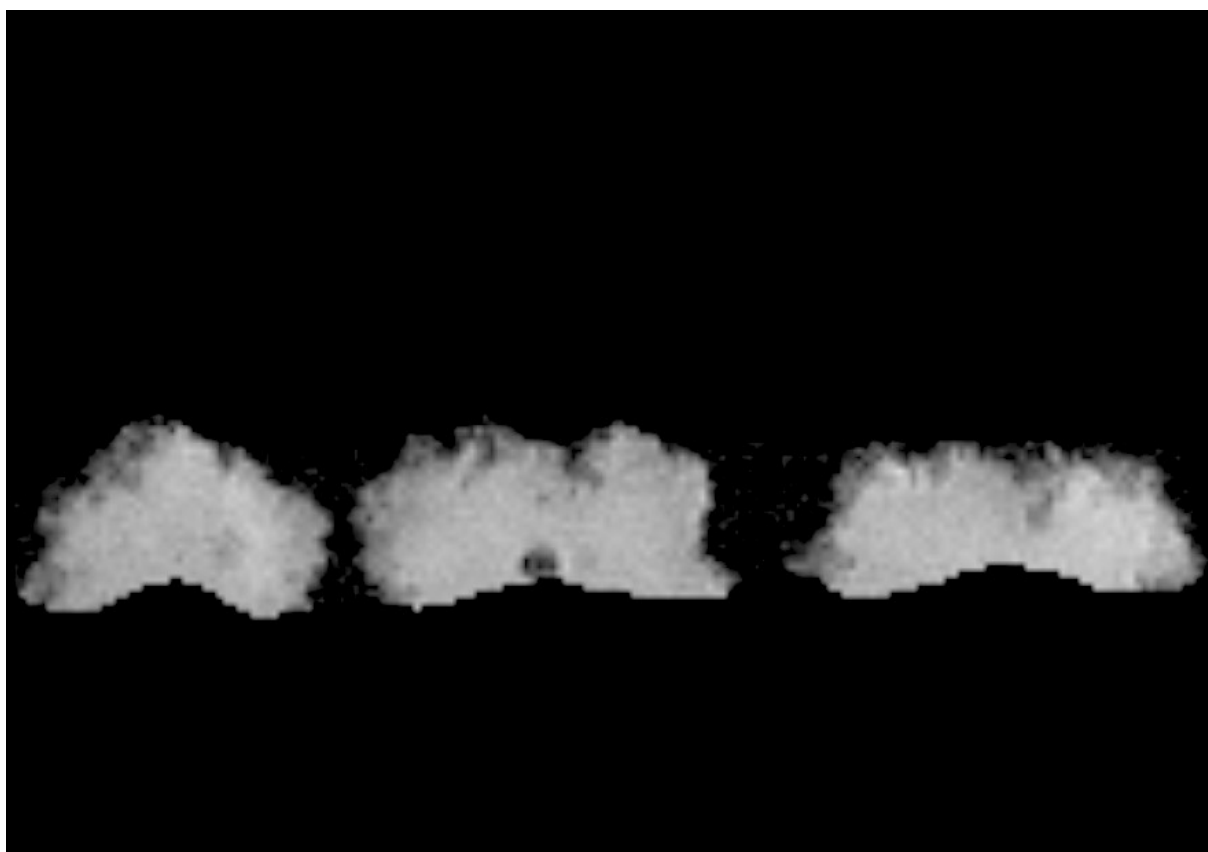
Jedním z důležitých parametrů při růstu tkáňových kultur je relativní počet protonových jader a zjištění jeho změny v závislosti na době růstu. Tento parametr odpovídá integrálu intenzit obrazu váhovaného spinovou hustotou. Integrál obrazu lze stanovit dvojím způsobem.

První z nich je součet intenzit vybrané části obrazu, zobrazující jen shluky kontaminované jedním prvkem, podělený počtem pixelů obrazu. Výpočet je proveden podle vztahu

$$I_i = \frac{x_{\max} y_{\max}}{M \cdot N} \sum_1^M \sum_1^N s_i \quad [12] \quad (7)$$

kde I_i je integrální obraz, $x_{\max}$ a $y_{\max}$ jsou maximální obrazové rozměry v osách x a y . [10]

Příklad výběru MR obrazu zobrazujícího tři shluky kontaminované koncentrací 1000 mg/l zinku po 38 dnech růstu je na Obr. 10.



Obr. 10. Příklad výběru MR obrazu zobrazujícího tři shluky kontaminované koncentrací 1000 mg/l Pb po 42 dnech růstu.

Druhým způsobem je s využitím Fourierovy transformace převést výběr MR obrazu do časové domény. Integrál shluků je dán velikostí maximální intenzity obrazu v časové doméně podělený počtem pixelů celého obrazu a násobený počtem pixelů vybrané části MR obrazu. Oba způsoby dávají shodné výsledky. [10]

$$s_i(k_x, k_y) = \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} \rho_i(x, y) \cdot e^{-2\pi i(k_x x + k_y y)} dx dy. \quad (8)$$

kde k_x a k_y jsou souřadnice měřené v rušivém obrazu, nazývá prostorová frekvence a $\rho(x, y)$ je spinová hustota v MR obrazu.

Pro $k_x = k_y = 0$ přechází vztah se změnou na tvar [10] :

$$s_i(0, 0) = \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} \rho(x, y) dx dy = I_i. \quad (9)$$

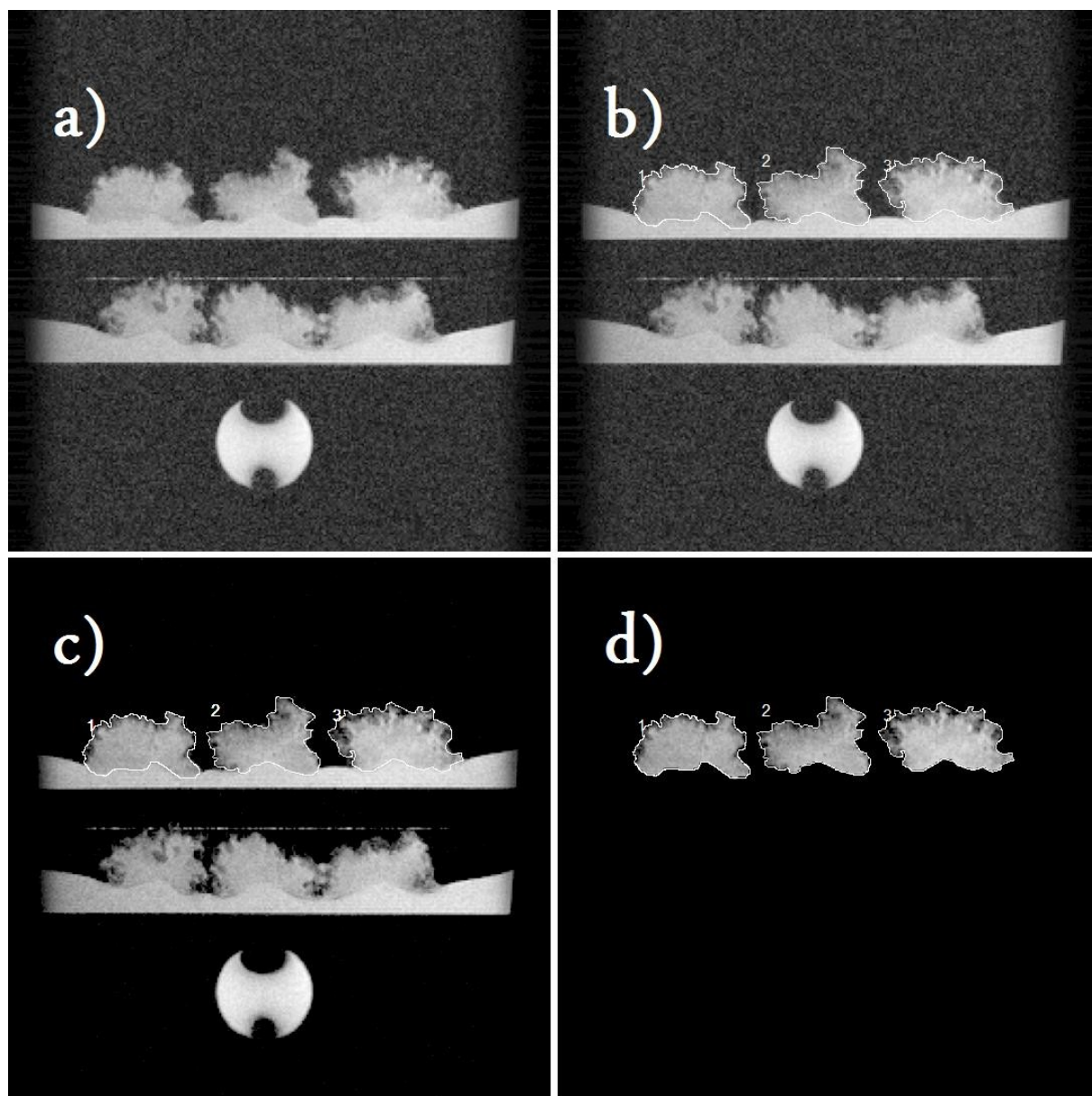
Tento způsob může být pro některá uspořádání měření výhodnější. Pro stanovení relativního počtu protonových jader, byl vybrán první způsob.

Druhý způsob se použil, u jedné kontaminace Pb (800mg Pb/l) pro srovnání správnosti první metody.

9.1 Získávání hodnot

Pro stanovení relativního počtu protonových jader, bylo nejprve nutné z jednotlivých obrazů vyjmout pouze shluky s danou koncentrací Pb. Toto vyjmutí bylo prováděno opět v programu Marevisi 8.2. Na Obr. 11. je vidět jak se jednotlivé shluky vyznačovaly a následně se okolí potlačilo tak, aby na obrázku zbyly jen námi vybrané shluky s danou koncentrací Pb.

Na Obr. 11. je uveden v části a) MR obraz bez jakéhokoli zásahu, v části b) jsou již vybrány shluky s kontaminací 100 mg Pb/l, v části c) je vidět změna MR obrazu následkem potlačení okolního šumu a v části d) jsou již pouze shluky kontaminované 100 mg Pb/l.



Obr. 11. Příklad výběru MR obrazu zobrazujícího tři shluky kontaminované koncentrací 100 mg/l Pb po 35 dnech růstu s jednotlivými fázemi výběru dat.

Takto upravený obraz se uložil do souboru *.bmp k následnému vyhodnocení v programu Matlab. V Matlabu se jednotlivé obrazy *.bmp načítaly a sčítaly se v nich intenzity jednotlivých pixelů. Výsledné hodnoty z Matlabu se zapisovaly do excelu k následnému vyhodnocení.

Použité operace v Matlabu:

Načtení obrazu 'vz-800_nahore-11ms-08-06-20.bmp'
`obrazek=imread('vz-800_nahore-11ms-08-06-20.bmp');`

Sečtení všech hodnot v obrazu
`soucet=sum(sum(obrazek));`

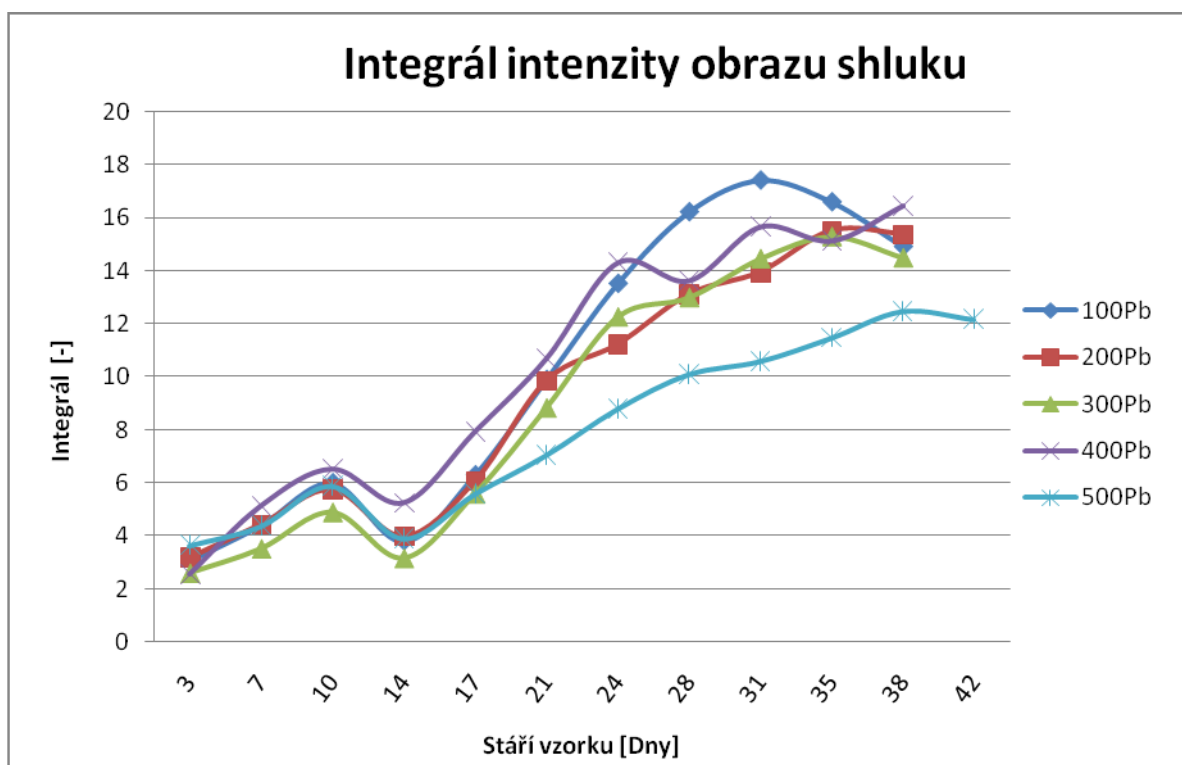
Zobrazení výsledku
`soucet`

Stáří [dny]	3	7	10	14	17	21
MAX. Intenzita Obrazu 800Pb	$1,01 \cdot 10^6$	$1,58 \cdot 10^6$	$2,05 \cdot 10^6$	$1,45 \cdot 10^6$	$2,96 \cdot 10^6$	$3,65 \cdot 10^6$
Integrál obrazu	1,8593	2,9105	3,7624	2,6636	5,4422	6,7220

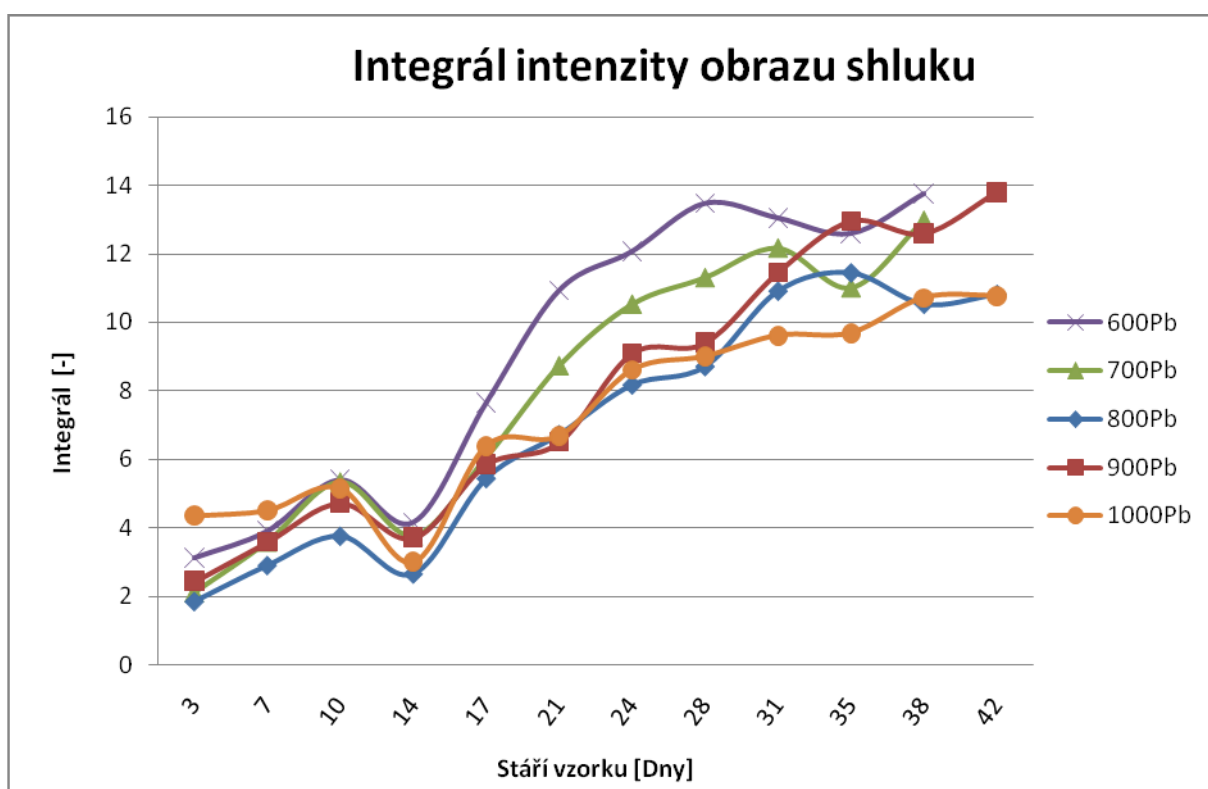
Stáří [dny]	24	28	31	35	38	42
MAX. Intenzita Obrazu 800Pb	$4,44 \cdot 10^6$	$4,73 \cdot 10^6$	$5,92 \cdot 10^6$	$6,21 \cdot 10^6$	$5,72 \cdot 10^6$	$5,87 \cdot 10^6$
Integrál obrazu	8,1670	8,7039	10,8990	11,4314	10,5176	10,8047

Tab. 2. Část tabulky Max. intenzity Obrazu a Integrálu Obrazu s kontaminací 800 mg Pb/l.

V Excelu se nejprve hodnoty z Matlabu podělí počtem pixelů obrazu. Z těchto hodnot se následně vytvořil graf závislosti intenzity shluku, přímo úměrné relativnímu počtu protonů ve shluku, v závislosti na době růstu je uvedena pro jednotlivé kontaminaci Pb na Obr. 11. a Obr. 12. Je zřejmé, že koncentrace protonů ve shluku tkáňové kultury neustále roste a nezáleží na růstu tkáňové kultury, která se výrazně po 14 až 20 dnech snižuje na minimum.

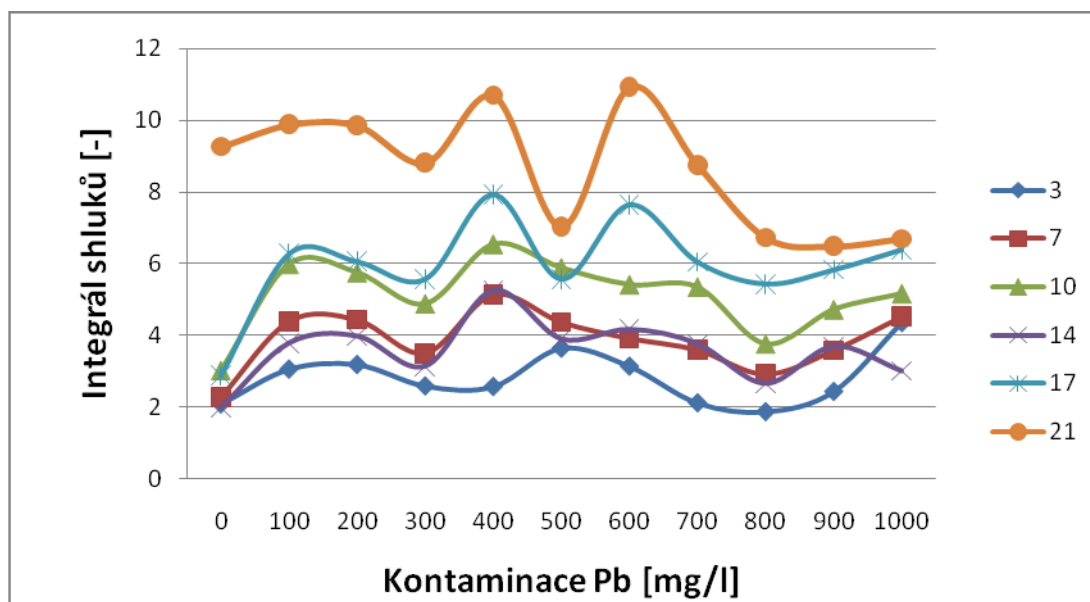


Obr. 12. Velikost integrálu intenzity obrazu shluku vyhodnocený z obrazů váhovaných spinovou hustotou v závislosti na době růstu, pro koncentrace Pb 0 - 400 mg/l

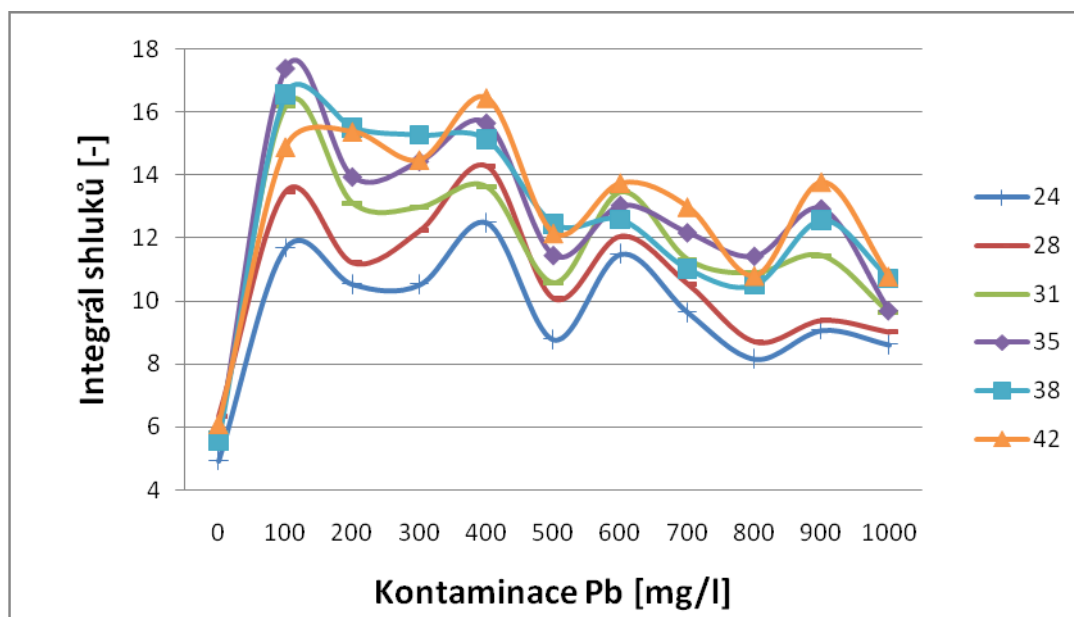


Obr. 13. Velikost integrálu intenzity obrazu shluku vyhodnocený z obrazů váhovaných spinovou hustotou v závislosti na době růstu, pro koncentrace Pb 500 - 1000 mg/l b.

Závislost integrálu intenzity MR obrazu pro vybranou kontaminaci Pb v závislosti na velikosti koncentrace tímto prvkem je uvedena na Obr. 14. a Obr. 15.



Obr. 14. Velikost integrálu intenzity obrazu shluku vyhodnocený z obrazů váhovaných spinovou hustotou v závislosti na velikosti koncentrace Pb . Pro stáří vzorku 3 dny až 21 dní.



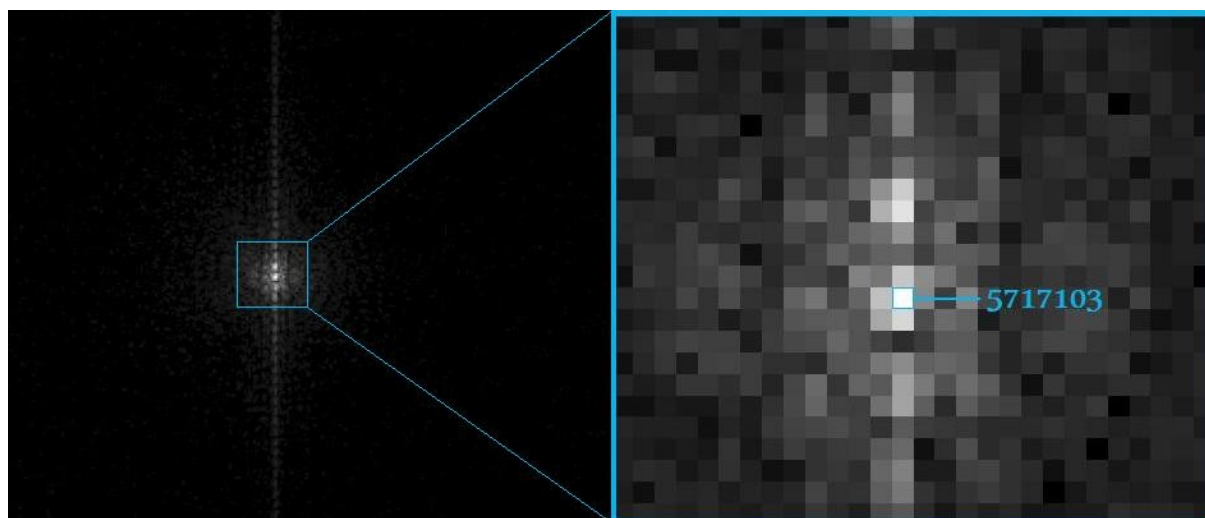
Obr. 15. Velikost integrálu intenzity obrazu shluku vyhodnocený z obrazů váhovaných spinovou hustotou v závislosti na velikosti koncentrace Pb . Pro stáří vzorku 24 dní až 42 dní.

Z Obr. 15. je zřejmé, že pro určitou koncentraci je možné nalézt maximum obsahu protonů po celou dobu růstu tkáňové kultury. Je to pro koncentraci 100 mg/l Pb.

Pro srovnání správnosti první metody, se pro zjištění relativního počtu protonových jader jedné kontaminace Pb (800mg Pb/l) použila i druhá metoda. Metoda s využitím Fourierovy transformace.

Byly zde použity stejné obrazy které se používaly u první metody. Jednalo se o obrazy, které je možné vidět na Obr. 11. čás d). vyjmuté shluky z celého obrazu.

Jednotlivé obrazy se převáděly pomocí Fourierovy transformace a následně se jejich maximální intenzita zapisovala do tabulky v Excelu pro výpočet Integrálu obrazu. Integrál se počítal podle vztahu (8).



Obr. 16. obraz shluků po Fourierově transformaci s detailem čtení maximální intenzity obrazu 800 mg Pb/l.

Stáří [dny]	3	7	10	14	17	21
MAX. Intenzita Obrazu 800Pb	$1,01 \cdot 10^6$	$1,58 \cdot 10^6$	$2,05 \cdot 10^6$	$1,45 \cdot 10^6$	$2,96 \cdot 10^6$	$3,65 \cdot 10^6$
Integrál obrazu	1,8593	2,9105	3,7624	2,6636	5,4422	6,7220

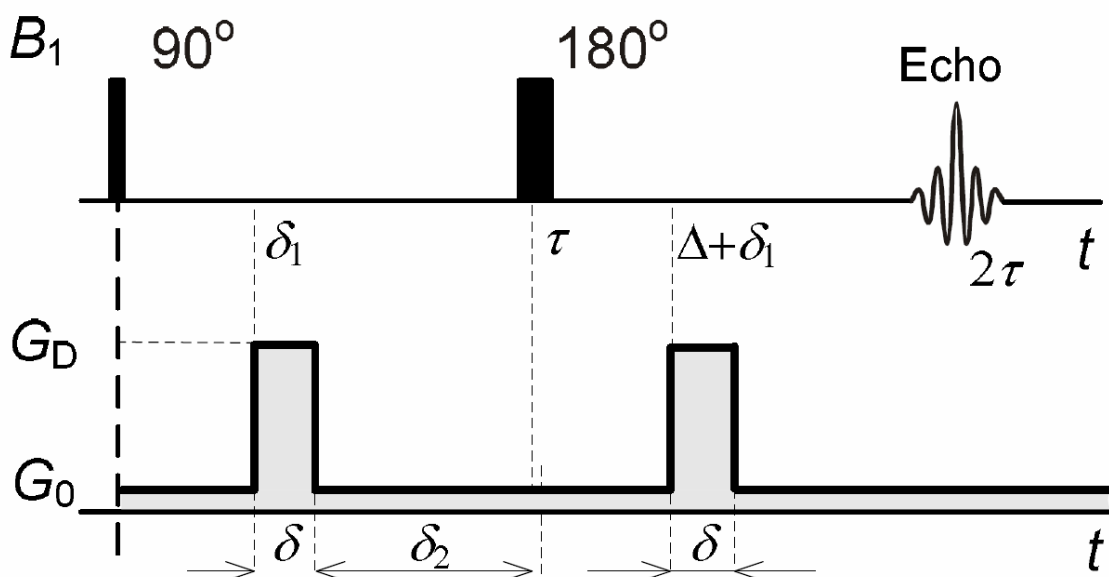
Stáří [dny]	24	28	31	35	38	42
MAX. Intenzita Obrazu 800Pb	$4,44 \cdot 10^6$	$4,73 \cdot 10^6$	$5,92 \cdot 10^6$	$6,21 \cdot 10^6$	$5,72 \cdot 10^6$	$5,87 \cdot 10^6$
Integrál obrazu	8,1670	8,7039	10,8990	11,4314	10,5176	10,8047

Tab. 3. Max intenzita obrazu a integrál obrazu s kontaminacích 800 mg Pb/l.

Při srovnání Tab. 2. s první metodou a Tab. 3. s druhou metodou, zjistíme, že obě metody mají výsledné integrály obrazu stejné. Vyplývá z toho že jsem vyhodnocení prováděl správně.

9. Difuze

Pro měření difuzních koeficientů atomů a molekul je používána měřicí sekvence PFGSE uvedená na Obr. 17. Běžná sekvence spinového echa je rozšířena o dva difuzní gradienty. První z nich, aplikovaný mezi dvěma RF (radio frequency) impulzy, rozfázuje definovaným způsobem spiny. Druhý, který spiny opět sfázuje, následuje po 180° impulzu. Během celého měření se projevuje statický gradient G_0 , který je důsledkem magnetických vlastností měřené látky. [11]



Obr. 17. PFGSE sekvence pro měření difuzí v heterogenních materiálech.

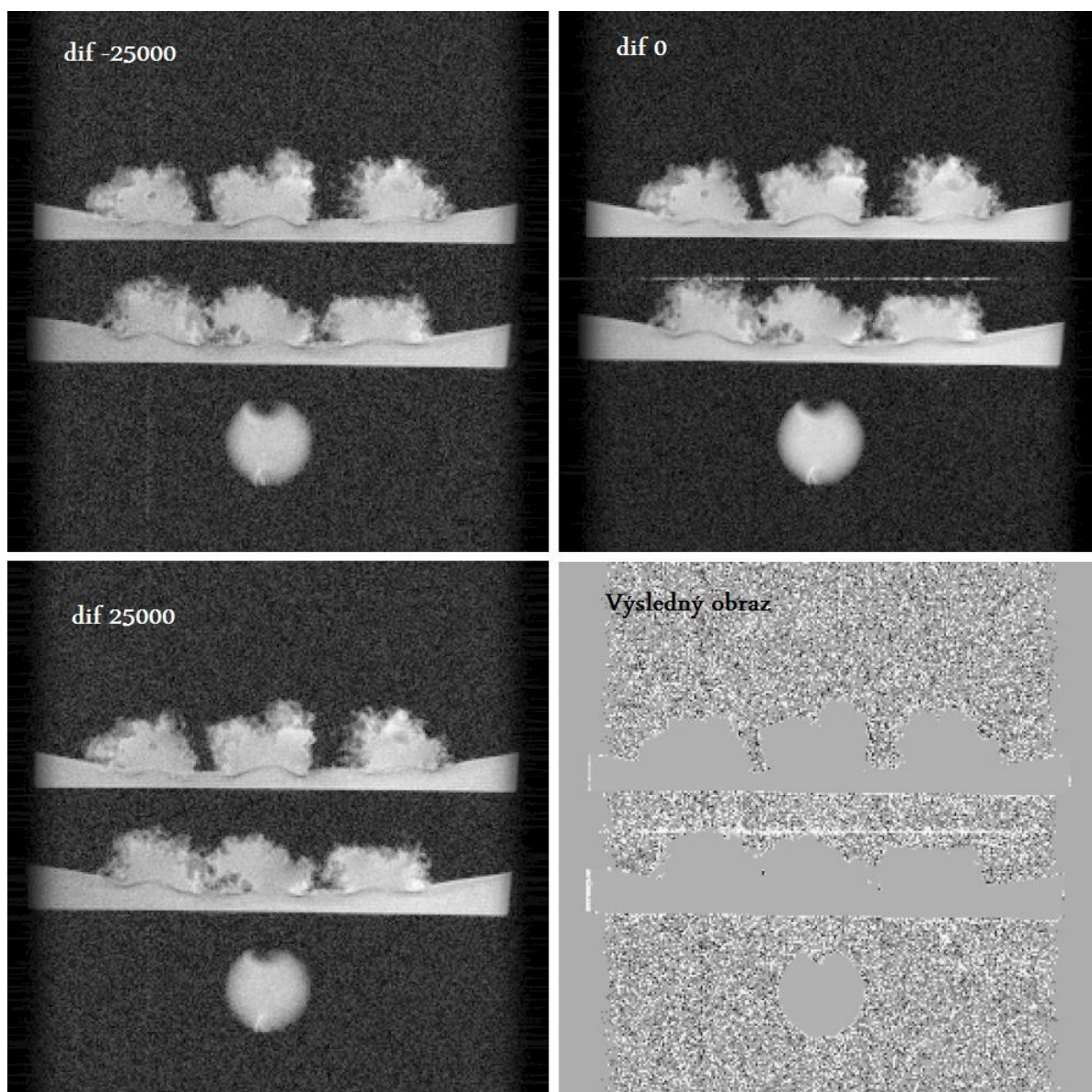
Pro tři měření (G_D , $-G_D$ a $G_D = 0$) může být difuzní koeficient vypočítán dle vztahu [11]:

$$\ln\left(\frac{M_{G_D} \cdot M_{-G_D}}{M_{G_D=0}^2}\right) = -2\gamma^2 \left(a_1 \cdot G_D^2 + a_1 \cdot G_D^2 \xi + \frac{a_2}{2} G_D G_0 \xi \right) D. \quad (10)$$

Velikost shluků je v difuzním obraze přesněji ohraničená a vyhodnocení ploch shluků je přesnější. Vyjadřuje však objem shluku bez uvažování koncentrace protonových jader a výsledky takto získané jsou odlišné od integrálu intenzity obrazu.

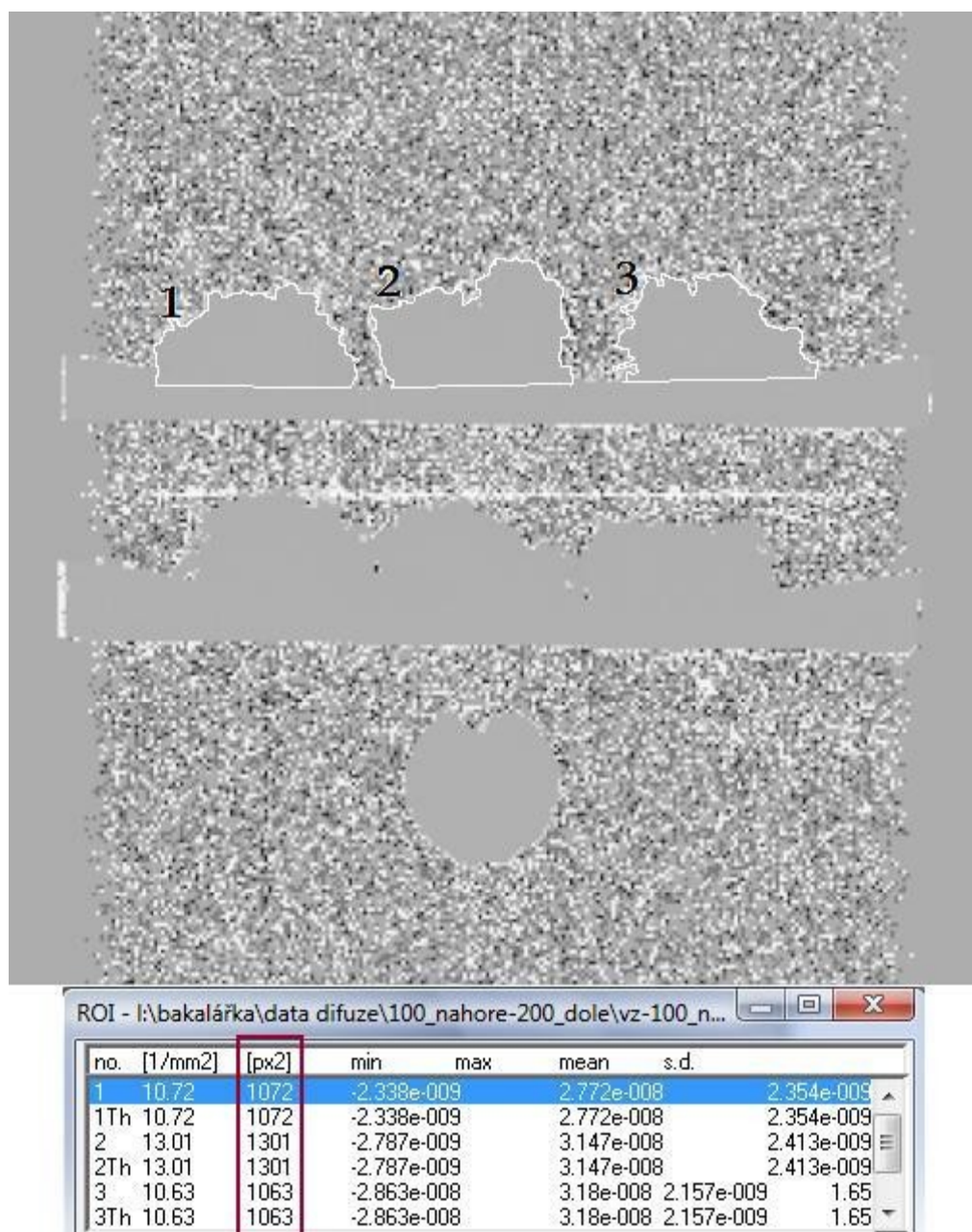
9.1 Získávání hodnot

Pro vyhodnocování difuzních obrazů, bylo nejdříve potřeba tři difuzní obrazy spojit do jednoho. Jednalo se o dif 0, dif -25000 a dif 25000. Toto spojení bylo prováděno v programu Matlab. Vysledný obraz se ukládal do formátu *.mat pro pozdější zpracování v programu Marevisi 8.2. Na Obr. 18. je možné vidět 3 vstupní obrazy a výsledný difuzní obraz.



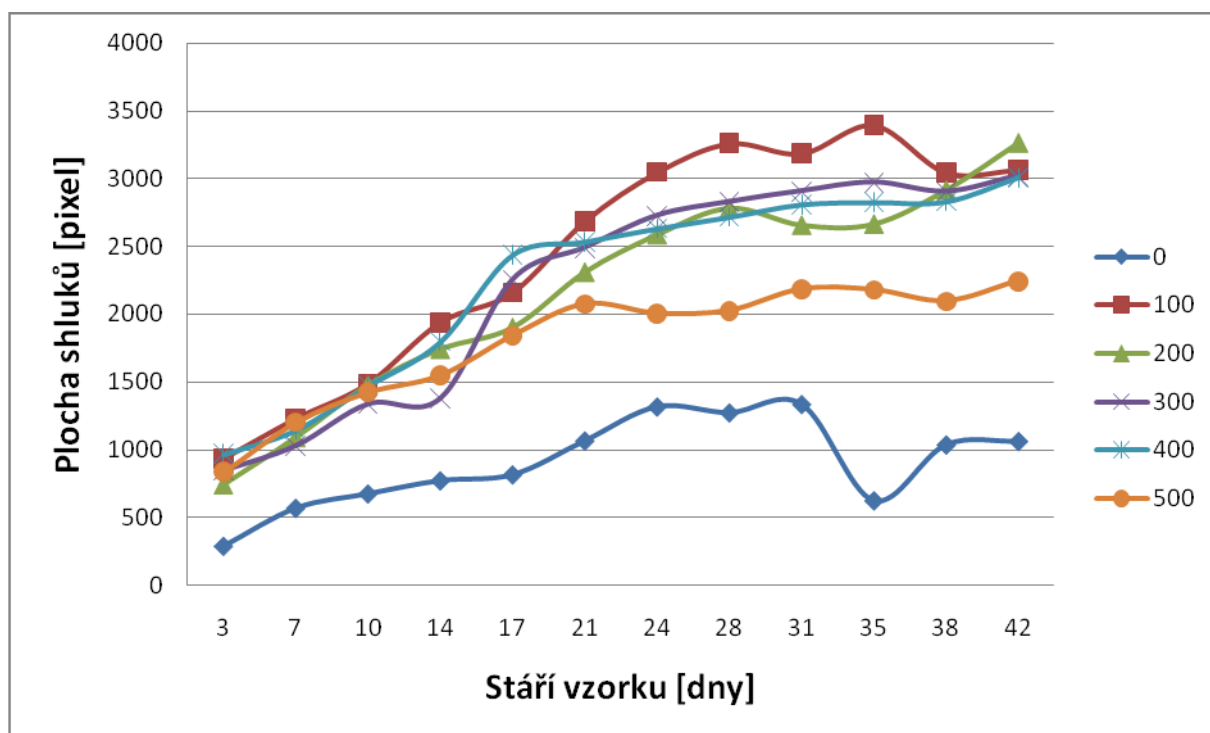
Obr. 18. Příklad vytvoření difuzního obrazu ze obrazu dif -25000, dif 0 a dif 25000.

V programu Marevisi 8.2. se výsledné obrazy po spojení postupně otevíraly a vyznačovaly se v nich jednotlivé shluky s danou koncentrací Pb. Po označení všech 3 shluků se zapsal počet pixelů jednotlivých shluků do Excelu k vytvoření grafů. Příklad výběru 3 shluků v difuzním obrazu a určení jejich rozměru v pixelech je možné vidět na Obr. 19.

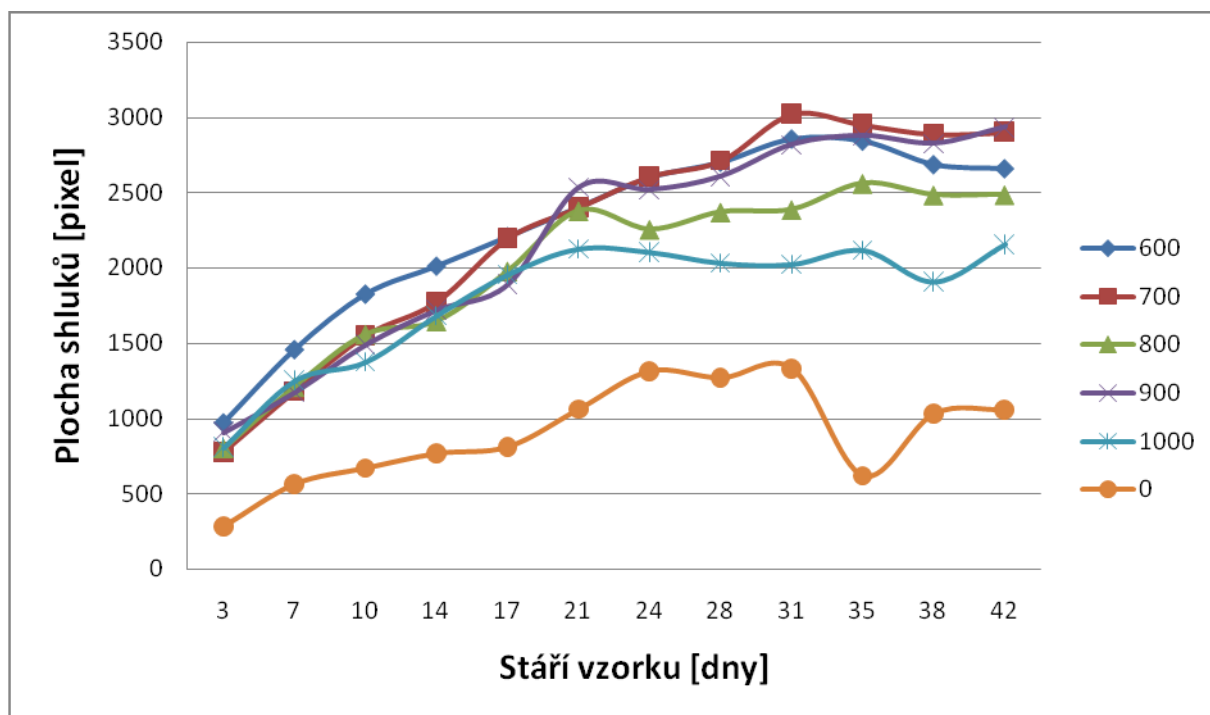


Obr. 19. Příklad výběru 3 shluků v difuzním obrazu a určení jejich rozměru v pixelech (rozměry v pixelech jsou vyznačeny červeným rámečkem). Jedná se o obraz s kontaminací 100 mg Pb/l a stáří vzorku je 35 dnů.

Z difúzních obrazů byly vyhodnoceny plochy jednotlivých shluků a výsledky jsou přehledně uvedeny na Obr. 20. a Obr. 21. Objem tkáňové kultury se postupně zvyšuje a rychlost růstu nezávisí na koncentraci prvků ve tkáňové kultuře.

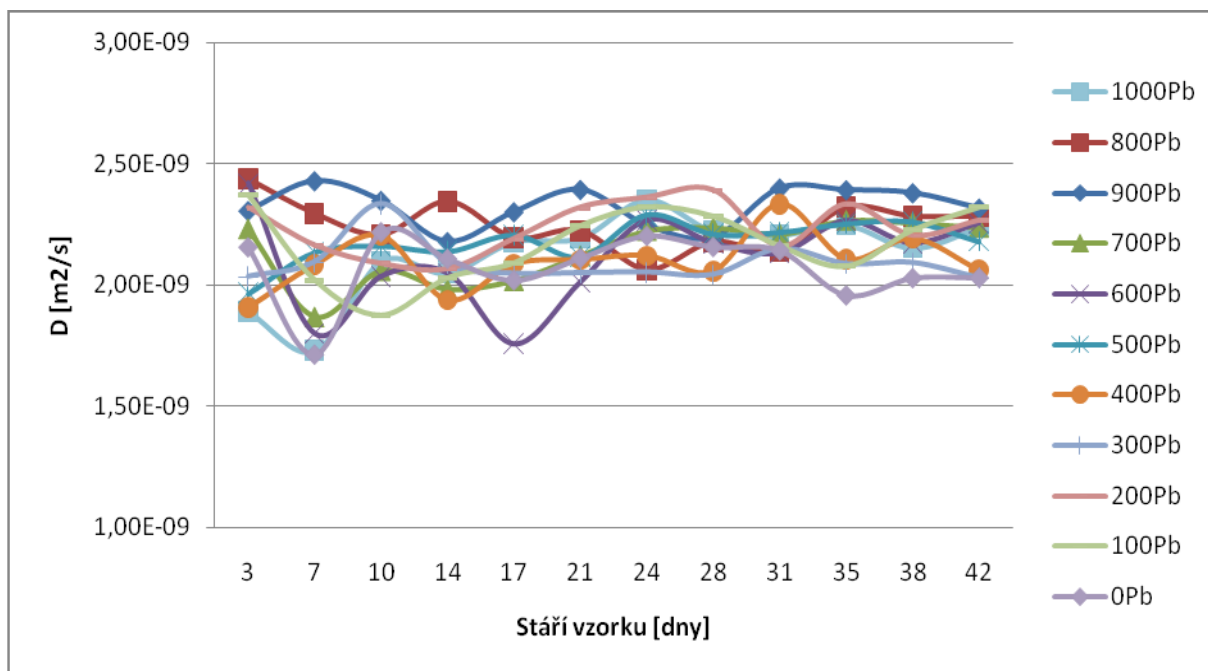


Obr. 20. Velikost plochy řezu shluky vyhodnocená z difúzních obrazů v závislosti na době růstu. Pro kontaminace 0 – 500 mg Pb/l.



Obr. 21. Velikost plochy řezu shluky vyhodnocená z difúzních obrazů v závislosti na době růstu. Pro kontaminace 600 – 1000 mg Pb/l.

Na Obr. 22. je průběh změny difuzního koeficientu ranných somatických embryí smrku kontaminovaných různými koncentracemi olova (0, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 a 1000 mg/l) v závislosti na době růstu. Z tohoto průběhu je zřejmé, že difuze se výrazně nemění. Důvodem může být malá difuzní délka, která je 4.8 μm . Prostor mezi molekulami je pravděpodobně větší, difuzní koeficient D bude v tom případě konstantní.



Obr. 22. Závislost difuzního koeficientu na době růstu raných smrkových embryí olovem.

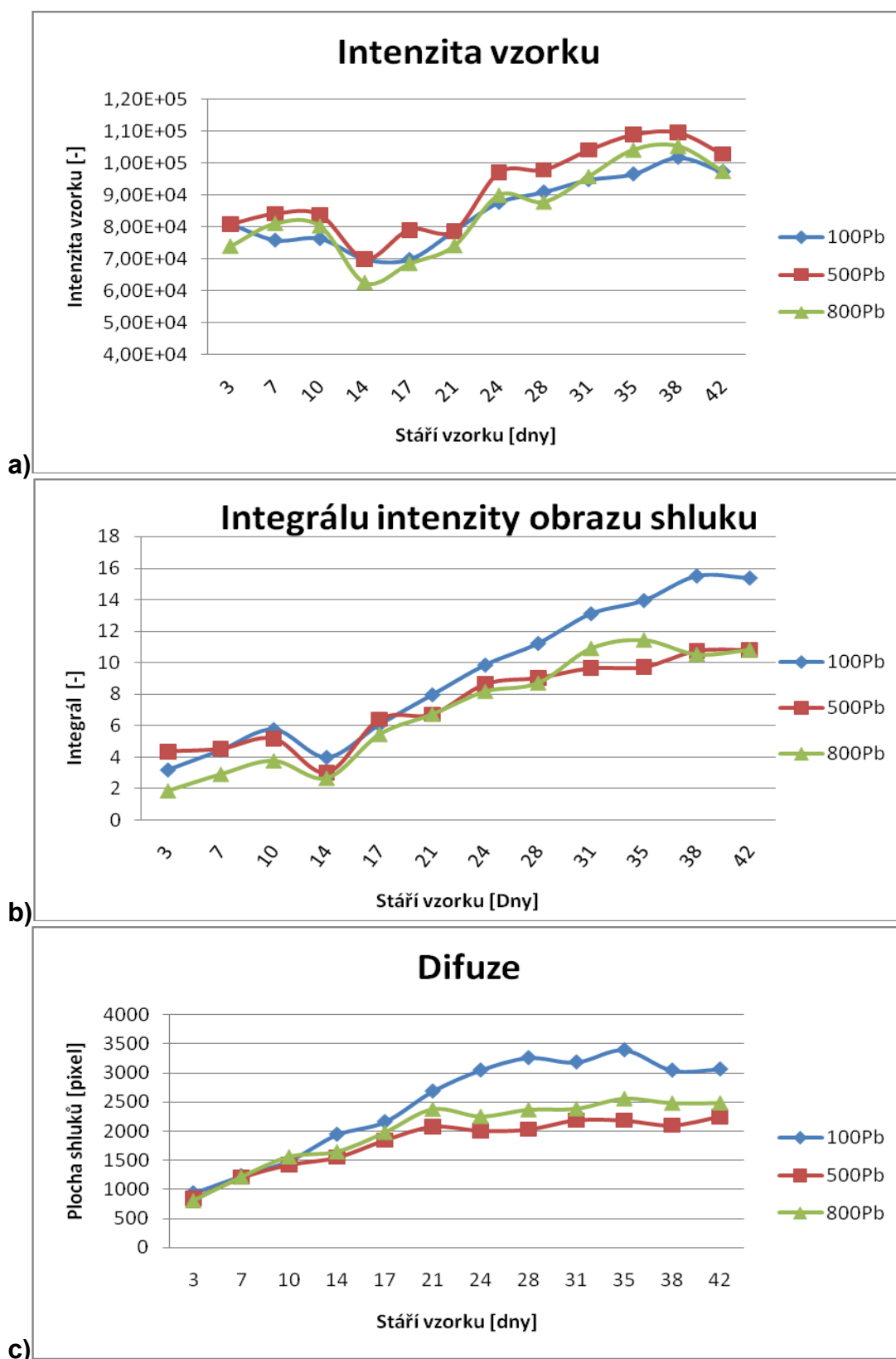
Příklad MR obrazu váhovaného difúzí je uveden pro jeden shluk kontaminovaný koncentrací 1000 mg/l olova po 42 dnech růstu na Obr. 23.



Obr. 23. Příklad MR obrazu váhovaného difúzí pro jeden shluk kontaminovaný koncentrací 1000 mg/l olova po 42 dnech růstu.

10. Srovnání jednotlivých metod vyhodnocování

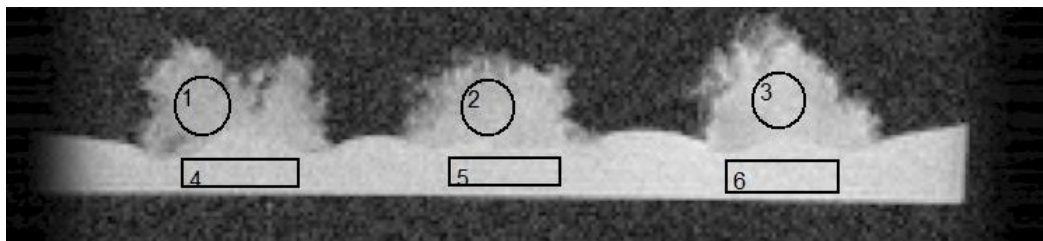
Srovnání 3 metod vyhodnocování růstu shluků raných somatických embryí smrku.



Obr. 24. Srovnání grafů jednotlivých metod vyhodnocování. a) změna počtu jader, b) změna maximální intenzity v průběhu růstu, c) změna plochy shluku

Intenzita vzorku -

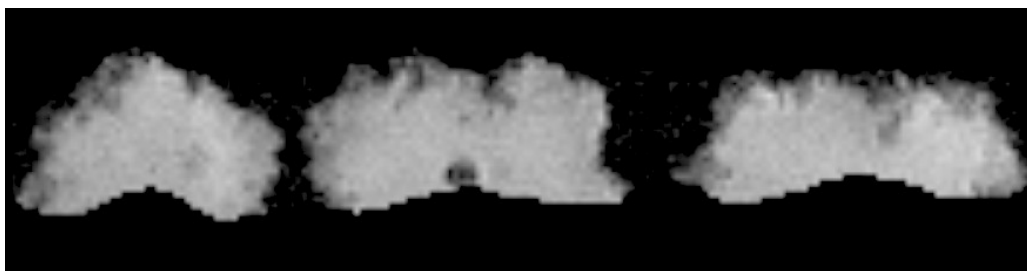
Nám říká, jak se zvětšuje počet protonových jader ve vybraném místě obrazu. Bere se v potaz počet jader pouze vybrané části obrazu, ne celého obrazu. Příslušný graf je vidět na Obr. 24. a).



Obr. 25. Orientační obrázek zobrazující výběr části obrazu pro určení Intenzity vzorku

Integrál intenzity-

Charakterizuje počet protonových jader které jsou v řezu shluku. Udává počet jader v celém řezu, ne jen ve vybrané části obrazu. Příslušný graf je vidět na Obr. 24. b).



Obr. 26. Orientační obrázek zobrazující výběr celých shluků pro určení Integrálu intenzity vzorku

Difuze -

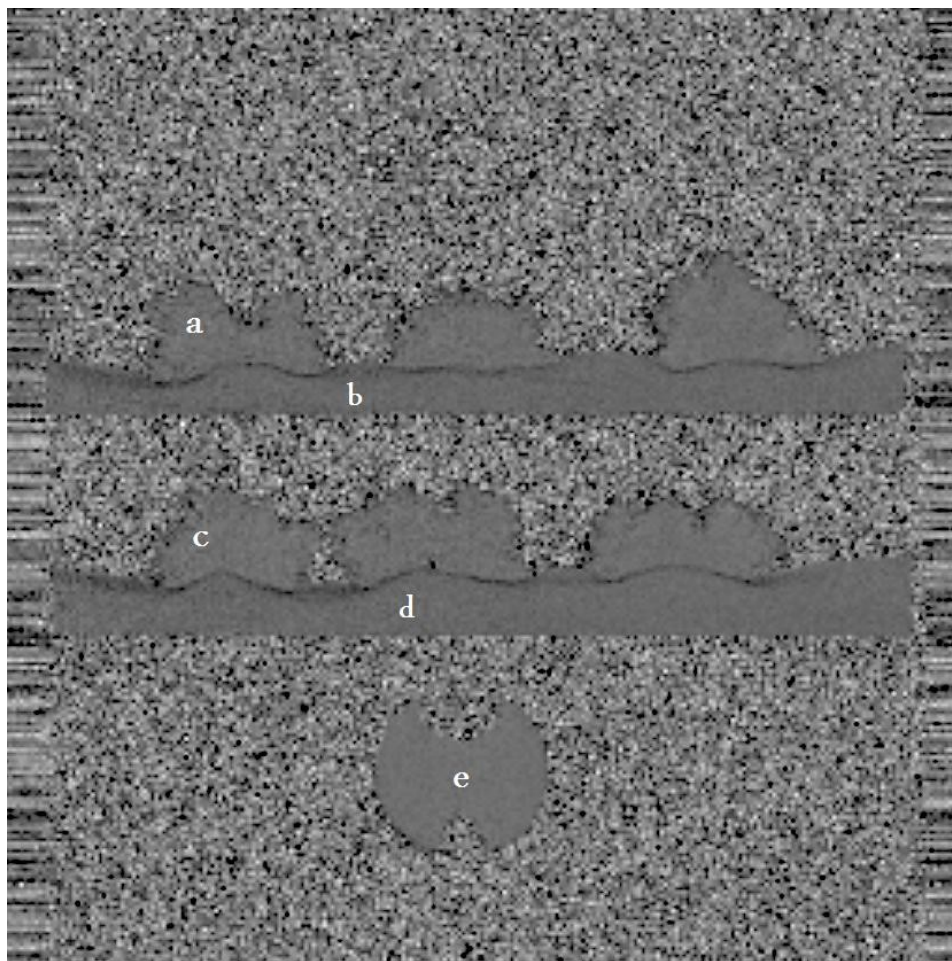
Nám říká jak vypadá difuze v řezu shluku. Velikost difuze nezáleží na počtu jader. Takže nám udává plochu změny shluku bez ohledu na počtu jader v obrazu. Příslušný graf je vidět na Obr. 24. c).



Obr. 27. Orientační obrázek MR obrazu váhovaného difuzí pro určení difuze

11. Výpočet relaxačních časů T_2

MR obrazy váhované relaxačním časem T_2 mohou přinést nové informace. Je možné z nich stanovit plochu řezu shluků v závislosti na době růstu. Tato plocha charakterizuje objem shluku a ne počet protonových jader. Příklad MR vyšetření raných somatických embryí smrku kontaminovaných olovem je uveden na Obr. 28.



Obr. 28. Výsledný obraz T_2 pro kontaminaci nahoře 800mg Pb/l a dole 900mg Pb/l starý 31 dní od začátku kultivace. Bod a) označuje kultivovaný vzorek 800 mg Pb/l bod b) pak jeho substrát, bod c) shluk vzorku 900 mg Pb/l, d) pak jeho substrát, poslední bod e) označuje baňku s deionizovanou vodou.

Relaxační čas T_2 se počítá podle vztahu (6) z intenzity normovaných obrazů.

Střední hodnota normovaných substrátů			
800_dole_11ms :	$8,81 \cdot 10^6$	$9,29 \cdot 10^6$	$9,51 \cdot 10^6$
800_dole_30ms :	$6,78 \cdot 10^4$	$6,98 \cdot 10^4$	$7,05 \cdot 10^4$

Střední hodnota normovaných vzorků			
800_dole_11ms :	$7,39 \cdot 10^4$	$8,10 \cdot 10^4$	$8,02 \cdot 10^4$
800_dole_30ms :	$6,15 \cdot 10^4$	$6,37 \cdot 10^4$	$6,55 \cdot 10^4$



T_2 vody, substrátu a shluků počítané podle vztahu (6)

Datum:	2.6	6.6	9.6
T_2 Vody [ms]	219,6902	219,6902	219,6902
T_2 Substrátu [ms]	167,5788	152,8687	146,6616
T_2 Vzorků [ms]	238,9512	182,0866	216,3383

Tab. 4. Příklad části tabulky s hodnotami intenzit vzorků, substrátů a vody, normovaných podle vody a podle substrátu a výsledného relaxačního času T_2 .

Hodnoty relaxačního času T_2 pro kontrolu i pro kontaminovaná embrya jsou souhrnně uvedeny v Tab. 5. a Tab. 6. Graf relaxačních časů v závislosti na stáří vzorku můžete vidět na Obr. 31. a Obr. 32. Graf relaxačních časů T_2 raných smrkových embryí kontaminovaných 100, 200, 300, 400 a 500 mg Pb/l v závislosti na stáří vzorku. A na Obr. 33. Graf relaxačních časů T_2 raných smrkových embryí kontaminovaných 600, 700, 800, 900 a 1000 mg Pb/l v závislosti na stáří vzorku. Znázornění růstu shluků je zobrazeno na obrázku Obr. 34. Zobrazení růstu shluků kontaminovaných 800 mg Pb/l podle stáří vzorku.

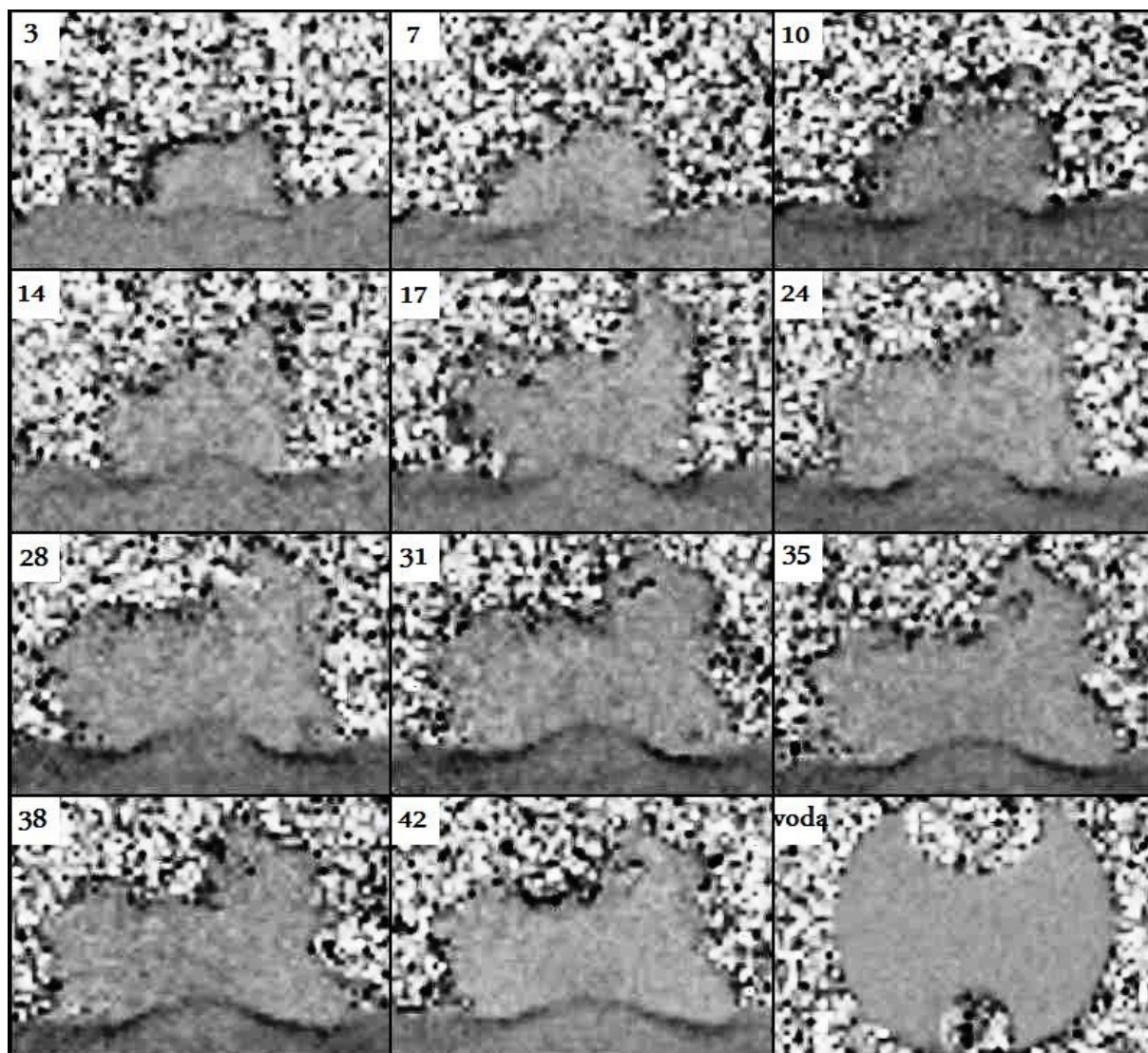
Pozice v obraze	Relaxace T_2 [ms]
1 (voda)	259,820
2 (kultivační médium)	53,4222
3 (kontrola)	115,551

Tab. 5. Výsledné hodnoty relaxačního času T_2 raných smrkových embryí u kontroly v jednotlivých pozicích v obraze.

Umístění v obraze	Relaxace T_2 [ms]
1 (voda)	219,690
2 (kultivační médium)	126,326
3 (kontaminace 700mg Pb/l)	213,618
4 (kultivační médium)	144,924
5 (kontaminace 800Pb)	204,606

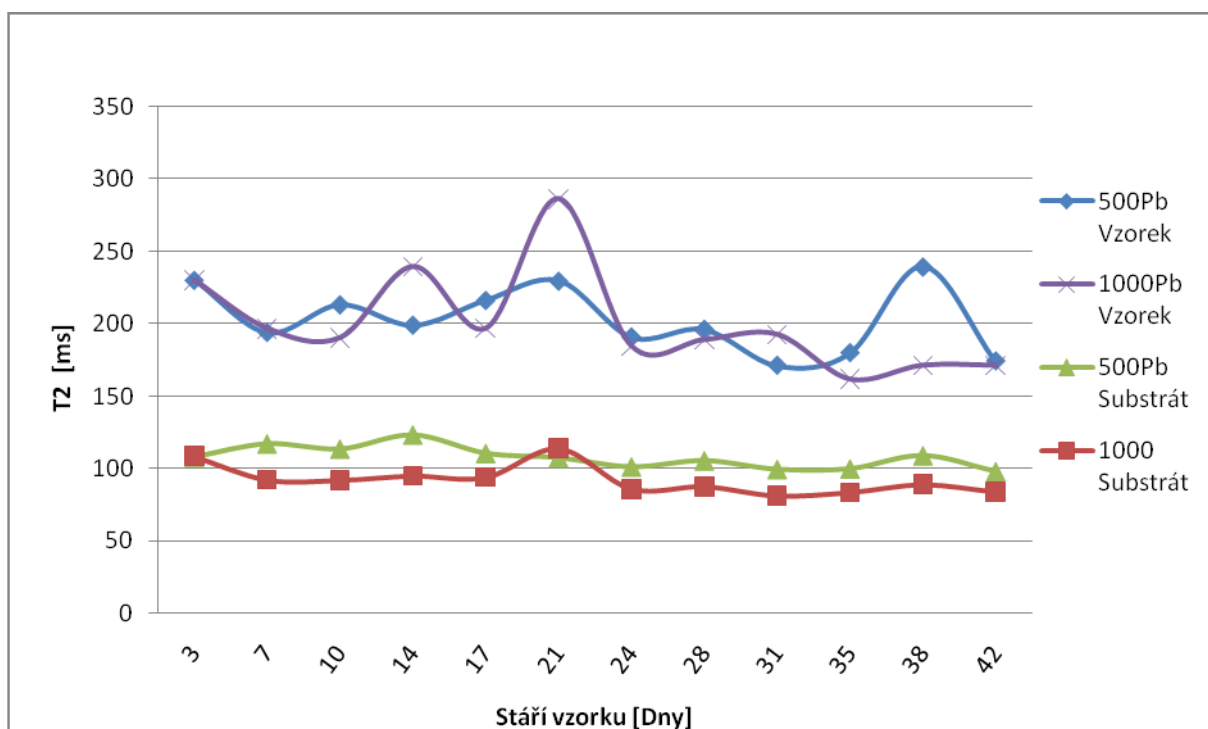
Tab. 6. Výsledné hodnoty relaxačního času T_2 raných smrkových embryí kontaminovaných 800 a 700 mg Pb/l.

Přítomnost jiných látek např. kovů (Pb) ve tkáňové kultuře i v substrátu způsobuje změnu relaxačních časů měřených protonových jader. Tato změna je výrazná a je možné ji využít ke zjišťování pronikání kovů do shluků, nebo rozlišit substrát od rostoucí kultury. Příklad MR obrazů váhovaných relaxačním časem T_2 kontrolní skupiny tkáňové kultury je uveden na Obr. 29. Hodnoty relaxačních časů jsou uvedeny v Tab. 5.

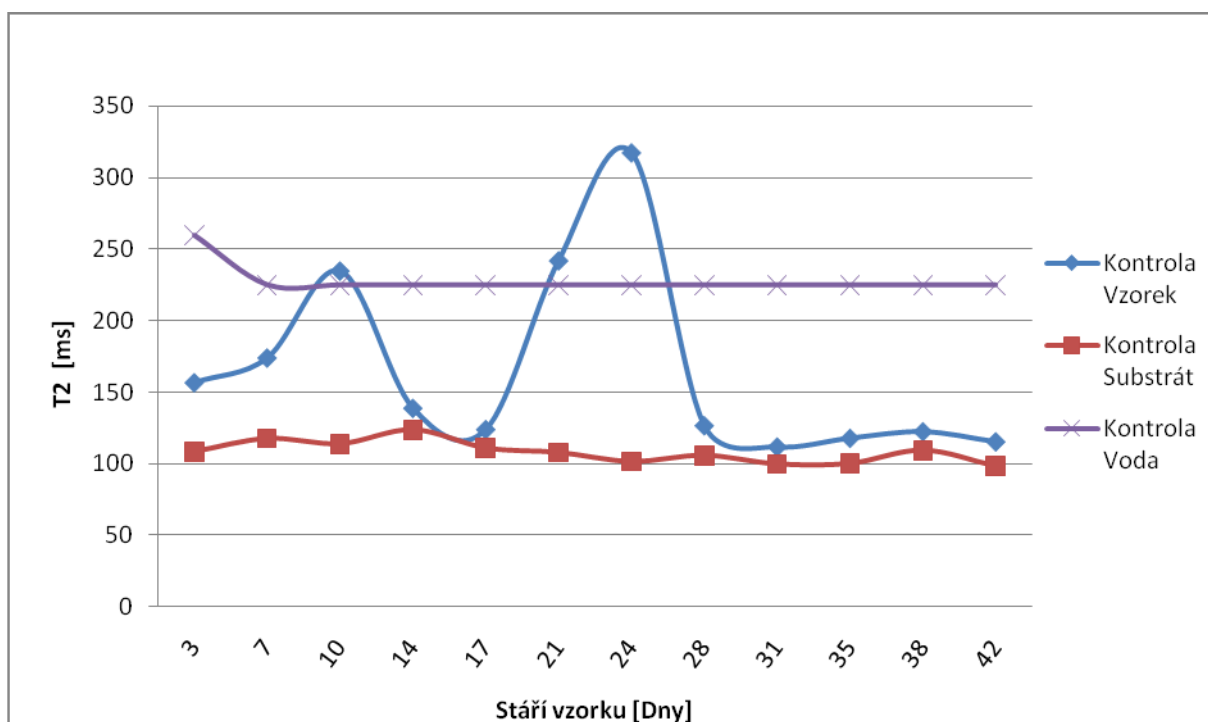


Obr. 29. Příklad MR obrazů váhovaných relaxačním časem T_2 při růstu raných smrkových embryí bez kontaminace kovy s vyznačením stáří ve dnech.

Porovnáme-li průběh relaxačního času T_2 ve shluku tkáňové kultury a relaxací substrátu, viz. Obr. 30. zjistíme, že substrát má výrazně nižší relaxace ve srovnání s relaxacemi tkáňové kultury a v průběhu růstu se nemění.

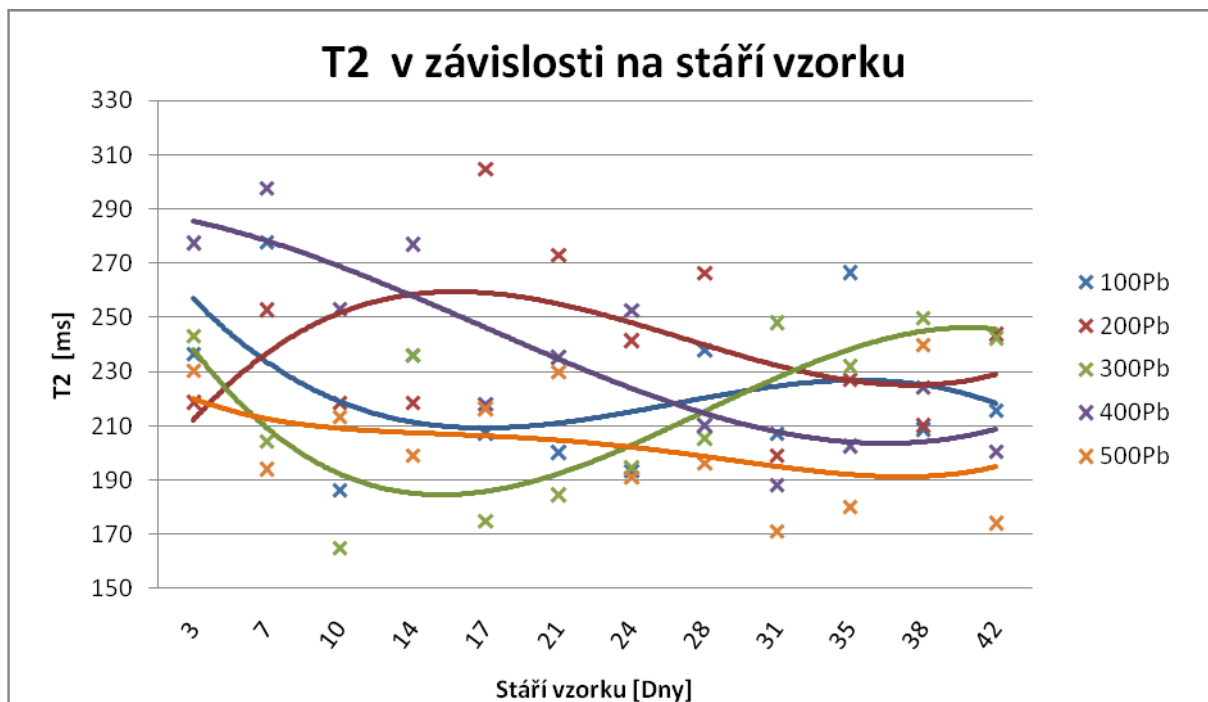


Obr. 30. Porovnání spin-spinového relaxačního času T_2 jader a substrátu na době růstu raných smrkových embryí kontaminovaných olovem

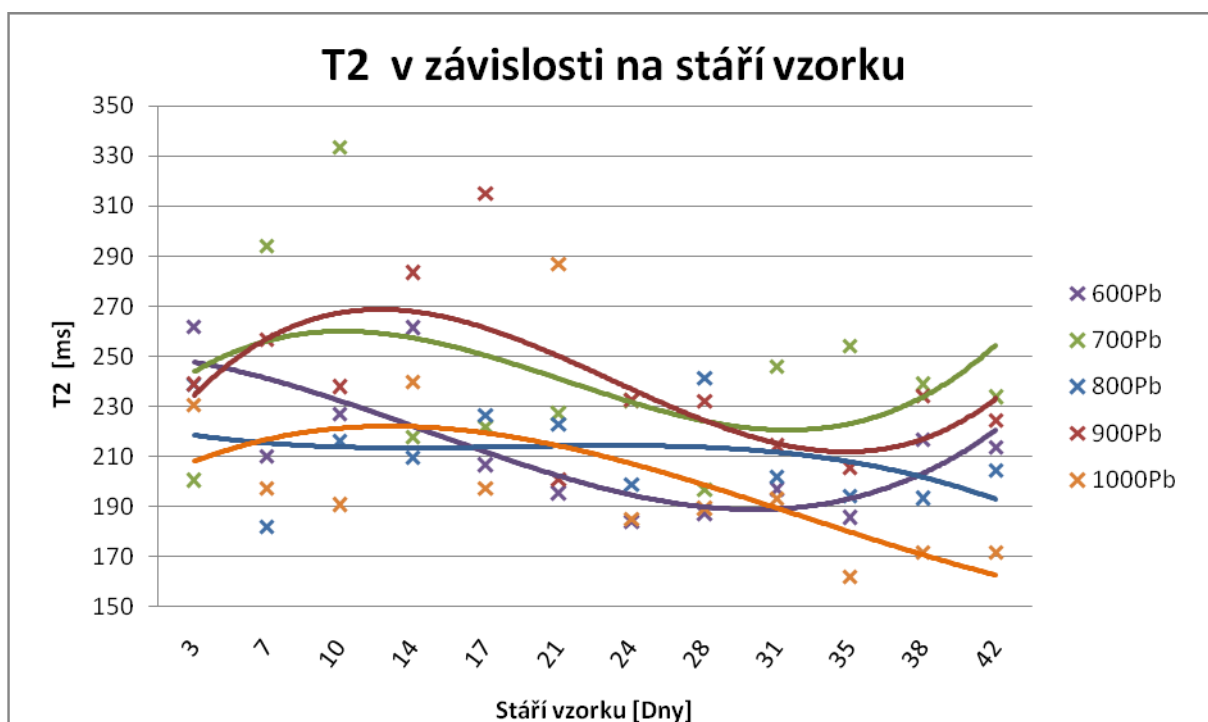


Obr. 31. Porovnání relaxačního času T_2 vzorku, substrátu a vody na době růstu.

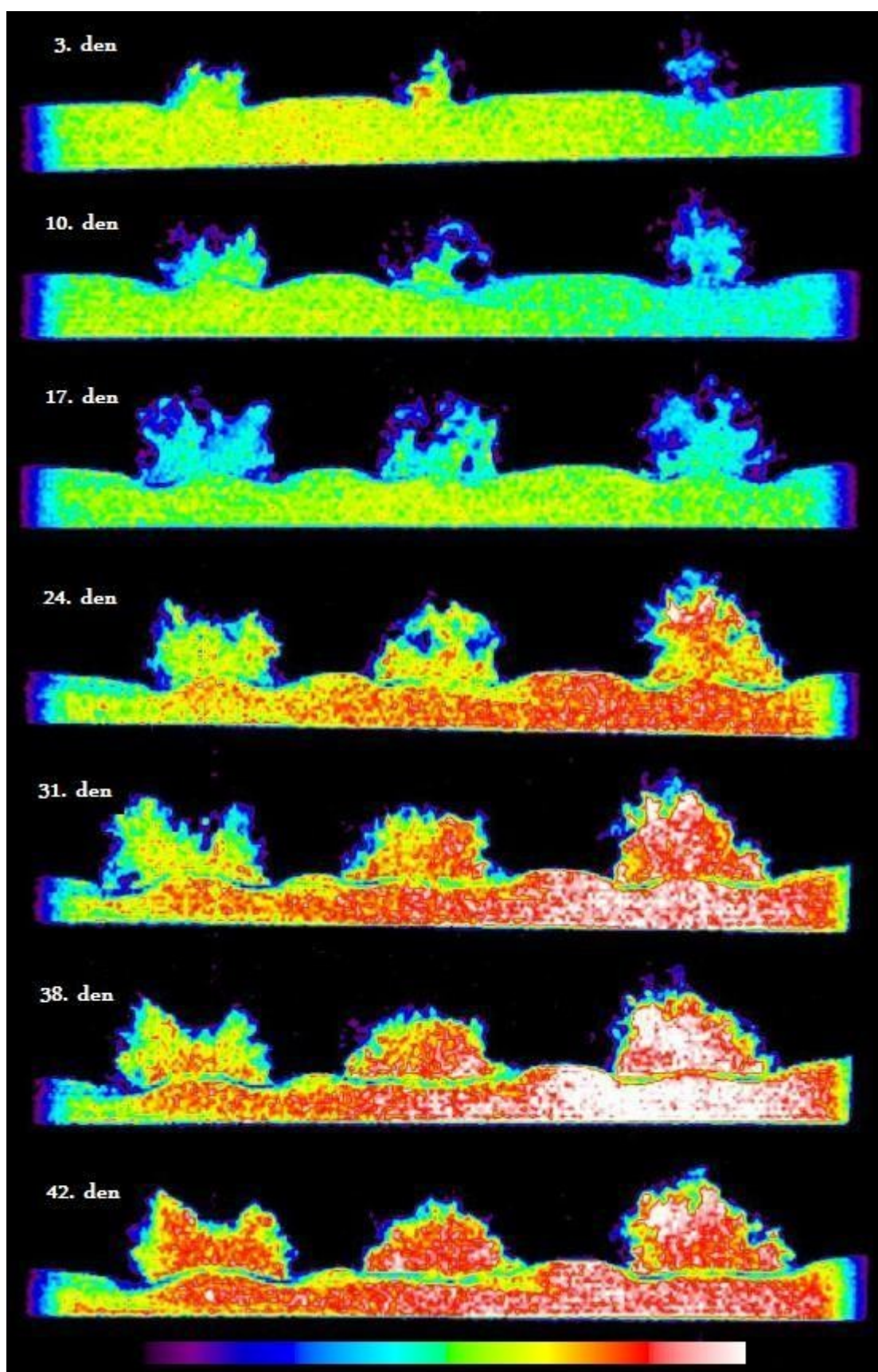
Relaxační čas T_2 vzorku raných smrkových embryí kontaminovaných olovem s různými koncentracemi je uvedena na Obr. 32. a Obr. 33. Je zřejmé, že v průběhu růstu se relaxační časy moc nemění.



Obr. 32. Graf relaxačních časů T_2 raných smrkových embryí kontaminovaných 100, 200, 300, 400 a 500 mg Pb/l v závislosti na stáří vzorku.



Obr. 33. Graf relaxačních časů T_2 raných smrkových embryí kontaminovaných 600, 700, 800, 900 a 1000 mg Pb/l v závislosti na stáří vzorku.



Obr. 34. Zobrazení růstu shluků kontaminovaných 800 mg Pb/l podle stáří vzorku.

12. Závěr

Ústředním tématem této bakalářské práce je magnetická rezonance. Ze zpracovaných obrazů shluků tkáňových kultur smrku byly odečteny intenzity. Hodnoty intenzit byly zaznamenány v tabulkách, aby tak mohly posloužit k dalšímu zpracování – konkrétně např. k vypočtení relaxačních časů T_2 , nebo difuzní koeficient D . Tabulky jsou normovány podle střední hodnoty vody a následně i podle střední hodnoty substrátu.

Zhodnotilo se měření průběhu růstu spinové hustoty, difuze a T_2 .

Ze spinové hustoty se zjišťoval narůstající počet protonů. Tento nárůst byl prováděn třemi metodami, intenzitou vzorku, integrálem intenzity vzorku a difúzí. Nejvýhodnější se zdá být metoda 3. pomocí Integrálu intenzity vzorku celého shluku. Tento nárůst je uveden v grafech o nárůstu počtu protonů za čas.

Co se týče jednotlivých koncentrací Pb (olova), tak nejvyšší Integrál intenzity vzorku byl pro kontaminaci 100mg Pb/l. S rostoucí koncentrací Pb se Integrál mírně snižoval. Přičemž nejnižší Integrál byl naměřen u největší kontaminace a to 1000mg Pb/l. Z toho vyplývá, že pro rychlý růst tkáňových kultur smrku by mohla být nejpříjemnější, právě kontaminace 100mg Pb/l.

Z grafů relaxačních časů T_2 je vidět že se relaxační čas T_2 během doby růstu nějak výrazně nemění.

Tento závěr je pouze orientační, hlavní závěr tohoto měření musí udělat odborníci Mendelovi zemědělské a lesnické univerzity, kteří tento projekt zadávali a z jeho výsledků budou čerpat pro své další projekty.

13. Použitá literatura

- [1] *Magnetická rezonance*. Wikipedie, on-line článek
URL: <http://cs.wikipedia.org/wiki/Magnetická_rezonance> [citace. 2008-12-10].
- [2] BARTUŠEK, K. *Měření vlastností gradientních magnetických polí v tomografii magnetické rezonance metodou okamžitého kmitočtu*. Elektrevue - Internetový časopis (<http://www.elektrevue.cz>), 2002, č. 26
- [3] *Difuze*. Wikipedie, on-line článek
URL: <<http://cs.wikipedia.org/wiki/Difuze>> [citace. 2008-12-10].
- [4] *Brownův pohyb*. Wikipedie, on-line článek
URL: <http://cs.wikipedia.org/wiki/Brownův_pohyb> [citace. 2008-12-10].
- [5] KIMMICH, R. *NMR Tomography, Diffusometry, Relaxometry*. Springer-Verlach Berlin Heidelberg New York, 1997.
- [6] SUPALCOVÁ, V.; PETREK, J.; BALOUN, J.; ADAM, V.; BARTUŠEK, K.; TTRNKOVA, L.; BEKLOVA, M.; DIOPAM, V.; HAVEL, L.; KIZEK, R. *Multi-instrumental Investigation of Affecting of Early Somatic Embryos of Spruce by Cadmium(II) and Lead(II) Ions*. Sensors, 2007, 7, s. 743-759.
- [7] DEN BOER, J. A.; VLAARDINGERBROEK, M. T. *Magnetic Resonance Imaging*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York, 1999.
- [8] BARTUŠEK, K. *Processing of MR images weighted by relaxation time T_2 to increase their contrast resolution*. Brno: Institute of Scientific Instruments, Academy of Sciences of the Czech Republic.
- [9] MUGLER, J. P.; SPRAGGINS, T. A.; BROOKEMAN, J. R. *T_2 Weighted 3 Dimensional MP-Rage MR Imaging*. JMRI-Journal of Magnetic Resonance Imaging 1 (6), 1991, s. 731-737.
- [10] BARTUŠEK, K., GESCHIEDTOVÁ, E., KIZEK, R., DOKOUPIL, Z. *Data Processing in Studying the Growth of Early Spruce Embryos, Using MR Imaging Techniques*. In: ICNOS09, Cancun, 2009, ISBN 978-0-7695-3551-7, s. 234–237
- [11] BARTUŠEK K., GESCHIEDTOVÁ E., *Kompenzace vlivu statického magnetického pole při MR měření difúze*. Elektrevue - Internetový časopis (<http://www.elektrevue.cz>), 2008, č. 29, s. 1 - 6, ISSN 1213-1539