

Evaluering av feilkilder og optimalisering i dynamisk kontrastforsterket MRI

Magne Mørk Kleppestø

Masteroppgave
for graden
Master i Fysikk



Gruppen for biofysikk og medisinsk fysikk
Fysisk institutt
Universitetet i Oslo



Intervensjonsenteret
Rikshospitalet
Oslo universitetssykehus

Juli 2011

Forord

Denne masteroppgaven er utført ved Intervensjonssenteret ved Oslo universitetssykehus som en del av en mastergrad tatt ved Gruppen for biofysikk og medisinsk fysikk ved Fysisk institutt, Universitetet i Oslo. Mine veiledere har vært professor Atle Bjørnerud og Oliver Geier, PhD, og arbeidet har i hovedsak blitt utført i professor Bjørneruds forskningsgruppe. Jeg vil takke veilederne for den faglige støtten og for anledningen til å bedrive nogenlunde selvstendig forskning. Videre takker jeg forskningsgruppen generelt for godt arbeidsmiljø, og spesielt Christopher Larsson for godt samarbeid og dr. Inge Rasmussen for ukreditert medveiledning og medisinsk ekspertise.

Til slutt ønsker jeg å takke mine medstudenter på Biofysikk for to svært fornøyelige år.

Sammendrag

Dynamisk kontrastforsterket MRI (DCE-MRI) er en diagnostisk avbildningsmetode som brukes til å kartlegge de kinetiske egenskapene til vev. Den brukes blant annet til å skaffe informasjon om blodnettverket i kreftsvulster, som har vist seg å være verdifullt i evaluering av terapi. DCE-MRI gjøres ved å fortløpende ta bilder av interessant vev mens kontrastmiddel passerer og interagerer med vevet. Dynamikken som observeres analyseres med kinetiske modeller som gir verdier av ulike farmakokinetiske parametre. Det er imidlertid flere aspekter ved anvendelsen av metoden som ikke er grundig undersøkt, og forskjeller ved ulike sentres praksis gjør at det enda ikke er mulig å direkte sammenlikne resultater av de samme parametrene gjort på tvers av forskningsgrupper.

Det er i denne oppgaven undersøkt om den vanligvis neglisjerte T_2^* -effekten har en vesentlig innvirkning på estimeringen av disse parametrene, samt hvor høy tidsoppløsning som må anvendes for å få gyldige resultater. Den gjeldende oppfatning de seneste år har vært at stadig høyere tidsoppløsning er noe å strebe etter, men dette har sin pris i form av at andre kvaliteter ved bildeserien må ofres. Det ble derfor gjort analyser der resultater med og uten korreksjon av T_2^* -effekter ble sammenliknet, samt tester av hvordan estimatene varierte med ulike tidsoppløsninger. Undersøkelsene er gjort på pasienter diagnostert med glioblastoma multifforme, som er en høygradig hjernesvulst.

Det ble funnet at T_2^* -effekten fører til vesentlige feilestimeringer av de kinetiske parametrene, og at den derfor ikke bør neglisjeres i DCE-MRI-undersøkelser. Videre ble det gjort funn som tyder på at det for den undersøkte patologien med fordel kan anvendes lavere tidsoppløsning enn det som er vanlig, og tidsoppløsning 7 sekunder foreslås.

Innhold

Forord	iii
Sammendrag	v
Liste over forkortelser og begreper	2
1 Innledning	3
I Teori og metoder	5
2 Teori	7
2.1 Grunnleggende MR-teori	7
2.2 Bloch-ligningen	9
2.2.1 Eksitasjon	10
2.3 Relaksasjon	10
2.3.1 T_1 -relaksasjon	11
2.3.2 T_2 -relaksasjon	11
2.4 Bildedannelse	12
2.4.1 Snittseleksjon	12
2.4.2 Koding i transversalplanet	13
2.4.3 Gradientekosekvensen	13
2.4.4 Vekting	13
2.5 Kontrastmidler	15
2.5.1 Ulike typer kontrastmidler	15
2.5.2 Relaksasjonsrate	15
2.6 Dynamisk kontrastforsterket MRI	16
2.6.1 Fysiologisk grunnlag for DCE-MRI i onkologi	16
2.6.2 Glioblastoma multiforme	17
2.6.3 Farmakokinetikk	17
2.6.4 Beregning av konsentrasjon fra DCE-serie	20

2.6.5	Bestemmelse av T_2^* fra opptak med dobbelt ekko	20
3	Metode	23
3.1	Introduksjon	23
3.2	Pasientgrunnlag	23
3.3	Opptaksprotokoll	24
3.4	Analyse av data	24
3.4.1	Beregning av T_1 -kart	24
3.4.2	Beregning av T_1 -forløp og konsentrasjon	25
3.4.3	Beregning av kinetiske parametre	26
3.4.4	Bestemmelse av ROIer	27
3.5	Undersøkelse av T_2^* -effekt	27
3.5.1	Beregning av AIFer	28
3.5.2	Sammenlikning av beregnede parametre	29
3.6	Undersøkelse av effekten av ulike tidsoppløsninger	29
3.6.1	Temporal nedskalering av eksisterende serier	29
3.6.2	Simuleringer	31
3.7	Statistikk	32
3.7.1	Signifikanstest	32
3.7.2	Boksplott	32
II	Resultater og diskusjon	35
4	Resultater	37
4.1	T_2^* -effekt	37
4.1.1	Analyse av middelerdi	37
4.1.2	Analyse av pikselforhold	38
4.1.3	Sammenlikning med beregninger gjort med nordicICE	38
4.2	Tidsoppløsning	43
4.2.1	Simulering	43
4.2.2	Nedskalerte DCE-serier	48
5	Diskusjon	57
5.1	Diskusjon av resultatene	57
5.1.1	T_2^* -effekt i AIF	57
5.1.2	Effekten av ulike tidsoppløsninger	59
5.2	Diskusjon av metodene	61
5.2.1	Undersøkelse av T_2^* -effekt i AIF på kinetiske parametre	61
5.2.2	Undersøkelse av ulike tidsoppløsninger	63
5.3	Konklusjoner	64

III Tillegg	65
A Figurer	67
A.1 AIF-sammenlikninger	67
B Matlab-kode	73
B.1 Utregning av parametre fra DICOM-serier	73
B.1.1 Funksjonen DCEutregning	79
B.2 Simulering av ulike tidsoppløsninger	82
Referanseliste	85

Liste over forkortelser og begreper

AIF	Arteriell inputfunksjon
baseline	Tidsperioden i en DCE-serie før kontrastopptak finner sted.
DCE-MRI	Dynamisk kontrastforsterket MRI
EES	Ekstravaskulært, ekstracellulært rom
GBM	Glioblastoma multiforme
Gd	Gadolinium grunnstoff brukt i kontrastmidler
GRE	Gradientekko
KM	Kontrastmiddel
Metningspuls	Engelsk: saturation pulse 90°-puls som typisk etterfølges av utlesning under gjenoppbyggingen av M_z
MR	Magnetisk resonans
MRI	Magnetic resonance imaging Magnetresonanstomografi
PVE	Partiell volumeffekt
RF-puls	Radiofrekvent puls som brukes til eksitasjon
SNR	Engelsk: signal-to-noise ratio Signal-til-støyforhold
SS	Engelsk: steady state Stabil tilstand

TD	Engelsk: time delay Tidsopphold mellom metningspuls og første eksitasjonspuls
TE	Ekkotid
TR	Repetisjonstid
utvasking	Engelsk: spoiling Destruering av den transversale magnetiseringen
voksel	3-dimensjonalt bildeelement

Kapittel 1

Innledning

Magnetresonanstomografi (MRI) er avbildningsteknikk som brukes innen medisinsk diagnostikk og forskning til kartlegging av anatomi. Bildene skapes ved at et objekt plasseres i et sterkt magnetfelt og deretter blir utsatt for radiobølger som forstyrrer magnetiseringen til objektet. Det er de etterfølgende prosessene som er kilden til bildeinformasjonen. Dette står i kontrast til den andre bildemodaliteten som er mest utbredt i diagnostikken, nemlig røntgen og avarter derav som for eksempel CT (*computed tomography* eller på norsk: datatomografi). MRI får i praksis sitt signal fra vannmolekyler og er derfor mer egnet til å avbilde bløtvev som muskler, hjerte og hjerne enn hva de røntgenbaserte metodene er. Det er en relativt ny teknikk sett med medisinske øyne; mens det første røntgenbildet ble tatt i 1895, snarlig etterfulgt av anvendelse innen diagnostikk, så klinisk bruk av MRI dagens lys på begynnelsen av 1980-tallet. Etter en rivende utvikling er MRI i dag uunnværlig i mange sammenhenger, og det finnes magneter i de aller fleste sykehus. Blant de mer sofistikerte anvendelsene av MRI finner vi diffusjonstensoravbildning, der bevegelsen til vannmolekyler brukes til å kartlegge nervefiberbaner i hjernen. Videre brukes MR angiografi til å visualisere blodsystemet, og funksjonell MRI anvendes på hjernen for å måle aktivitet under forskjellige omstendigheter.

Tema for denne oppgaven er den metoden som kalles dynamisk kontrastforsterket MRI, forkortet DCE-MRI etter engelsk *dynamic contrast-enhanced MRI*. Som navnet antyder innebærer dette å ta en serie bilder etter hverandre mens et kontrastmiddel traverserer det som avbildes. Kontrastmiddelet injiseres i blodet og virker på de omkringliggende vannmolekylene slik at disse avgir ekstra sterkt signal. På denne måten kan man følge bevegelsen til kontrastmiddelet og således avdekke hvordan blodet interagerer med vevet. Dette er av særlig nytte blant annet i

hjernen, der det eksisterer en barriere mellom blodet og vevet rundt som gjør at kontrastmiddel normalt ikke kan trenge ut dit. Ved kreft vil derimot svulsten anlegge sine egne blodbaner som ikke har denne barrieren, slik at kontrastmiddelet vil trenge ut i svulstvevet og gjøre dette synlig på MR-bildene. Poenget med DCE-MRI er imidlertid naturligvis å hente nyttig informasjon fra kontrastmiddelets *dynamikk*, som kan fortelle noe om svulstvevets beksaffenheter. DCE-MRI anvendes i dag som diagnostisk verktøy, men metoden har ikke noen fast standardprosedyre, så direkte sammenlikning av resultater mellom ulike MRI-sentre er fortsatt ikke mulig. En av opptaksparametrene det ikke finnes noen entydig konsensus om er tidsoppløsningen som behøves for å få verdifull informasjon fra opptakene. Det har vært en tendens til at høyest mulig tidsoppløsning har vært ettertraktet, noe som går på bekostning av andre kvaliteter i bildene. I tillegg er det vanlig å se bort fra et fenomen som kalles T_2^* -effekt og potensielt kan medføre signaltap, og anta at dette ikke har noen signifikant påvirkning på resultatene. Disse to aspektene ved DCE-MRI vil bli forsøkt belyst i denne oppgaven.

Del I

Teori og metoder

Kapittel 2

Teori

Teorien i dette kapittlet er inspirert av “Magnetic Resonance Imaging: Theory and Practice” av Vlaardingerbroek og den Boer [1] og “The Physics of Magnetic Resonance Imaging” av Bjørnerud [2] der ikke annet er spesifisert.

2.1 Grunnleggende MR-teori

Magnetresonanstomografi (MRI¹) er en avbildningsteknikk der de magnetiske egenskapene til bestemte atomkjerner benyttes til å visualisere et objekt. Alle kjerner der summen av antall protoner og nøytroner blir et oddetall besitter det som kalles for spinn, og det er spinnenes oppførsel i et eksternt magnetfelt som danner grunnlaget for magnetresonanstomografi. I menneskekroppen er det en overvekt av hydrogenatomer, som med sitt ene proton i kjernen har spinn $\frac{1}{2}$. Med dette spinn er det forbundet et dipolart magnetisk moment $\vec{\mu}$ som er orientert parallellt eller antiparallellt med det magnetiske feltet \vec{B} kjernen opplever. Dette betegnes henholdsvis som “spinn opp” og “spinn ned”. Disse to tilstandene er forbundet med en energi gitt ved:

$$\varepsilon = \gamma \hbar \vec{I} \vec{B} \quad (2.1)$$

der γ er den gyromagnetiske ratio som angir forholdet mellom kjernens magnetiske og angulære moment, \hbar er Plancks konstant dividert med 2π og \vec{I} er spinnoperatoren. γ er bestemt og verdier finnes i litteraturen for de kjerner som innehar spinn. For protonet har vi $\gamma/2\pi = 42,6$ MHz/T.

¹Av englesk *magnetic resonance imaging*.

Av dette følger det at et proton i et eksternt magnetfelt B kan anta energinivåene:

$$\varepsilon^\uparrow = -1/2\gamma\hbar B \quad (2.2a)$$

$$\varepsilon^\downarrow = 1/2\gamma\hbar B \quad (2.2b)$$

der ε^\uparrow er energien til en kjerne med spinn rettet parallellt med B og ε^\downarrow er energien til et antiparallellt rettet spinn.

Kjernespinnet kan anskueliggjøres ved å betrakte hver atomkjerne som en preseserende magnetstav. Under påvirkning av et magnetfelt vil presesjonshastigheten ω være gitt ved De Broglie-bølgelengden av energidifferansen:

$$\Delta\varepsilon = \hbar\omega$$

$$\omega = \gamma B$$

som i sin mest kjente form skrives som:

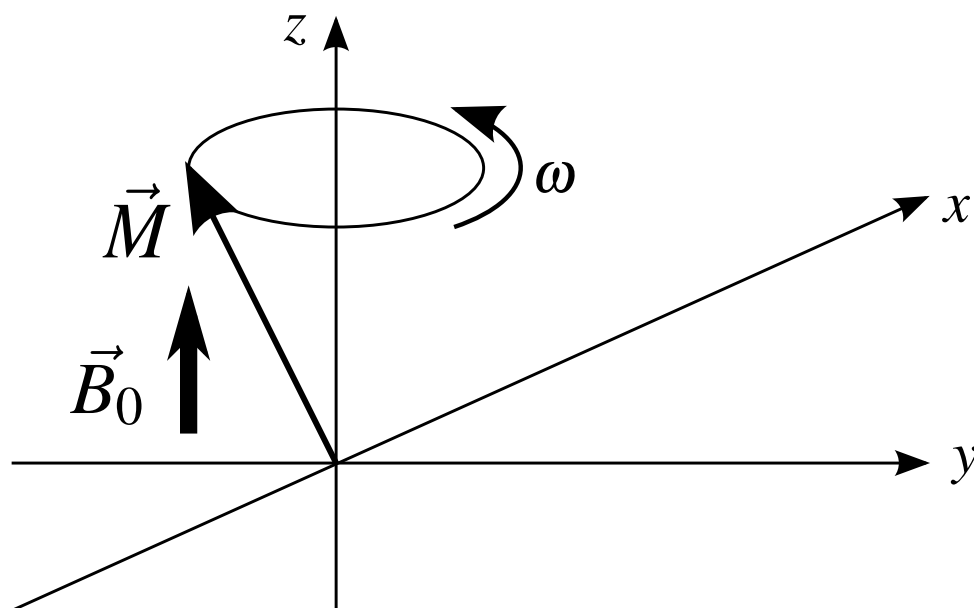
$$\vec{\omega}_0 = \gamma\vec{B}_0 \quad (2.3)$$

og kalles Larmor-ligningen etter den irske vitenskapsmannen Joseph Larmor. $\vec{\omega}_0$ er resonansfrekvensen til spinn som opplever den magnetiske flukstettheten \vec{B}_0 , og omtales ofte som Larmorfrekvensen. Dette fører til en nettomagnetisering $\sum \vec{\mu} = \vec{M}$ i retningen til \vec{B}_0 ved termisk likevekt, fordi noen flere spinn vil være orientert parallellt med feltet enn antiparallellt som følge av Boltzmanns lov. I en samling hydrogenkjerner vil forholdet mellom antall spinn rettet parallellt N^\uparrow og antiparallellt N^\downarrow være gitt ved:

$$\frac{N^\uparrow}{N^\downarrow} = \frac{\exp\left(-\frac{\varepsilon^\uparrow}{kT}\right)}{\exp\left(-\frac{\varepsilon^\downarrow}{kT}\right)} = \exp\left(\frac{\Delta\varepsilon}{kT}\right) \quad (2.4)$$

hvor k er boltzmannkonstanten og T er temperaturen. For å få en indikasjon på hvor stort overskudd av spinn i feltretningen vi kan forvente benytter vi at $kT \gg \varepsilon$, og bruker kroppstemperatur $T = 310\text{K}$ og $B_0 = 1,5\text{T}$ (vanlig feltstyrke på kliniske MR-systemer), som gir:

$$\frac{N^\uparrow}{N^\downarrow} \approx 1 + \frac{\Delta\varepsilon}{kT} \approx 1 + 10^{-5}, \quad (2.5)$$



Figur 2.1: Presesjonen til nettomagnetiseringen \vec{M} rundt \vec{B}_0 -feltet.

altså at av hundre tusen spinn vil det være ett mer som er orientert i felretningen og som således bidrar til nettomagnetiseringen. Fordi det er omkring 10^{22} hydrogenatomer per cm^3 biologisk vev er dette nok til å gi nyttig informasjon om det avbildede objektet.

2.2 Bloch-ligningen

Et objekt plassert i et magnetisk felt, for eksempel en pasient i en MR-scanner, vil som beskrevet over ha en nettomagnetisering \vec{M} i feltets retning som preseserer med frekvens $\vec{\omega}_0$. Den klassiske beskrivelsen av denne bevegelsen er gitt av Bloch-ligningen [3]:

$$\frac{d\vec{M}}{dt} = \gamma (\vec{M} \times \vec{B}) \quad (2.6)$$

Denne forteller oss at forandringen til \vec{M} er perpendikulær på både magnetiseringen og magnetfeltet, hvilket betyr at presesjonen til nettomagnetiseringen er rundt feltlinjene. Dette er illustrert i figur 2.1. Ved likevekt vil komponentene til \vec{M} i xy -planet annulleres på grunn av symmetri slik at nettomagnetiseringen peker i z -retning.

2.2.1 Eksitasjon

For å få signal fra objektet må magnetiseringen skiftes ned og oscillere i xy -planet. Dette oppnås ved å påføre et nytt magnetfelt \vec{B}_1 som er perpendikulært på \vec{B}_0 . Dette feltet er den magnetiske komponenten til en radiofrekvensbølge som følgelig roterer i rommet. Bloch-ligningen tar nå formen:

$$\frac{d\vec{M}}{dt} = \gamma\vec{M} \times (\vec{B}_0 + \vec{B}_1). \quad (2.7)$$

Hvis vi nå betrakter systemet i et koordinatsystem (x', y', z') som roterer om z -aksen med samme vinkelfart $\vec{\Omega}$ som \vec{B}_1 -feltet vil både \vec{B}_0 og \vec{B}_1 opptre som statiske felt, og det effektive magnetfeltet blir:

$$\vec{B}_{\text{eff}} = \vec{B}_0 + \vec{B}_1 + \frac{\vec{\Omega}}{\gamma}. \quad (2.8)$$

Dersom vi lar \vec{B}_1 rotere med samme vinkelfrekvens som \vec{B}_0 og i motsatt retning, det vil si $\vec{\Omega} = -\gamma\vec{B}_0 = -\vec{\omega}_0$, reduseres ligning 2.7 i det roterende aksesystemet til:

$$\frac{d\vec{M}'}{dt} = \gamma\vec{M}' \times \vec{B}_1, \quad (2.9)$$

som fører til at magnetiseringen \vec{M}' roterer rundt \vec{B}_1 med larmorfrekvensen $\vec{\omega}_0$. I det stasjonære systemet betyr dette at \vec{M} roterer i transversalplanet. Hvor mye av den opprinnelige magnetiseringen M_0 i z -retning som flyttes til xy -planet avhenger av B_1 -feltets varighet t_{B_1} og dets vinkelhastighet. Vinkelen α mellom \vec{M} og z -aksen etter at \vec{B}_1 er slått av kalles flippvinkelen og er gitt ved:

$$\alpha = \omega_0 t_{B_1}. \quad (2.10)$$

Magnetiseringen i transversalplanet er nå $M_{xy} = M_0 \sin \alpha$, og siden den roterer vil den indusere en målbar strøm i en spole plassert i samme plan. Fordi t_{B_1} i et MRI-opptak er svært lav betegnes B_1 som en RF-puls, der RF kommer av at B_1 er en radiofrekvent bølge.

2.3 Relaksasjon

Etter RF-pulsens opphør befinner systemet seg ute av likevekt, og det vil begynne å gå tilbake mot tilstanden det hadde før eksitasjonen. Dette skyldes flere ting. Spinnene endrer energitilstand under påvirkning av lokalt fluktuerende felter med frekvens omkring larmorfrekvensen.

Dessuten opplever spinnene små forskjeller i magnetfeltstyrke på grunn av vekselvirkninger med nærliggende makromolekyler, hvilket medfører at de preseserer med litt forskjellig frekvens som igjen gir faseforskjeller. Disse prosessene kalles henholdsvis T_1 - og T_2 -relaksasjon.

2.3.1 T_1 -relaksasjon

T_1 -relaksasjon, også kalt longitudinell relaksasjon eller spinn-gitter-relaksasjon, skyldes at spinnene reorienterer seg med \vec{B}_0 -feltet ved å avgi energi til omgivelsene eller *gitteret*. Magnetiseringen i z -retningen M_z øker dermed mot den opprinnelige $M_z(0)$ fra før eksitasjonspulsen som:

$$M_z(t) = M_0 \left(1 - e^{-t/T_1} \right) + M_z(0)e^{-t/T_1}. \quad (2.11)$$

Som vi ser av ligning 2.11 er T_1 et mål på hvor fort det eksiterte objektet gjenvinner sin longitudinelle magnetisering. En tid T_1 etter eksitasjonspulsen vil M_z være $1 - \exp(-1) \approx 67\%$ av den opprinnelige verdi. I mennesket finner vi vev med T_1 -verdier fra noen hundre millisekunder i fett til flere sekunder i cerebrospinalvæske. Et typisk forløp for den longitudinelle magnetiseringen etter en 90° -puls er gitt i figur 2.2a.

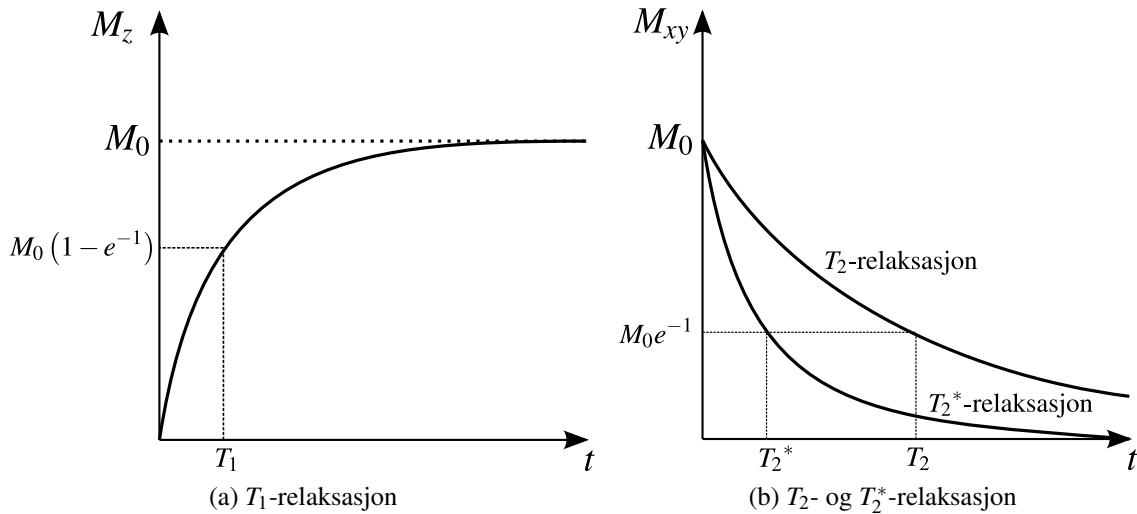
2.3.2 T_2 -relaksasjon

T_2 -relaksasjon kalles også transversal relaksasjon eller spinn-spinn-relaksasjon og er et mål på hvor fort magnetiseringen i det transversale plan avtar. Rett etter eksitasjonen preseserer spinnene i fase, men denne koherensen opphører etterhvert som de lokale feltvariasjonene, som forårsakes av påvirkning fra det molekylære miljøet, gir spinnene forskjellig larmorfrekvens. Dette gjør at den transversale magnetiseringen avtar som:

$$M_{xy}(t) = M_{xy}(0)e^{-t/T_2}. \quad (2.12)$$

I praksis vil B_0 -feltet som følge av objektets nærvær aldri være helt homogent, hvilket gir en ytterligere faktor som påvirker fasen. Den effektive relaksasjonstiden i det transversale planet kalles T_2^* og er relatert til den vevspesifikke T_2 ved:

$$1/T_2^* = 1/T_2 + \gamma\Delta B_0, \quad (2.13)$$



Figur 2.2: Longitudinell og transversal relaksasjon etter at en eksitasjonspuls med filppvinkel $\alpha = 90^\circ$ har flyttet hele magnetiseringen ned i xy -planet.

der ΔB_0 er B_0 -feltets avvik i det aktuelle bildeelementet. Av dette fremgår det at T_2^* er kortere enn ren T_2 , hvilket er vist i figur 2.2b.

2.4 Bildedannelse

I det foregående er det diskutert hvordan signaler kan frembringes fra et objekt ved bruk av magnetisk resonans. Det vil i det følgende bli belyst hvordan man i et eksperiment kan manipulere objektet slik at signalet kan brukes til å fremskaffe en visuell fremstilling av objektets struktur.

Det er vanlig å dele objektet opp i skiver kalt *snitt* i retningen til B_0 -feltet, som herved er definert som z -retningen i koordinatsystemet. Fra hvert snitt får vi et bilde bestående av et gitt antall piksler som inneholder informasjon om objektet i dette snittet. Dette krever at informasjon om posisjon er inneholdt i signalet, hvilket er tema for de neste avsnitt.

2.4.1 Snittseleksjon

Dersom B_0 er det eneste eksterne magnetfeltet som oppleves av objektet følger det at alle spinene i volumet vil eksiteres av en RF-puls med larmofrekvensen til dette feltet. For å oppnå

at kun et snitt eksiteres må derfor et nytt posisjonsavhengig felt legges til mens RF-pulsen er aktiv. Et slikt felt kalles en gradient, og for utvelgelsen av snitt anvender vi et felt δB_z kalt snittseleksjonsgradient som varierer lineært med z -posisjon:

$$\delta B_z = G_z z. \quad (2.14)$$

Magnetfeltet i z -retning er nå gitt ved $B(z) = B_0 + G_z z$ hvilket betyr at larmorfrekvensen varierer med z , slik at vi ved bruk av RF-pulser med forskjellig frekvens kan eksitere ulike snitt i volumet.

2.4.2 Koding i transversalplanet

For å inndele det eksiterte snittet i vokslers² påføres ytterligere to gradientfelt i x - og y -retning. Det førstnevnte av disse påfører snittet en forandring i magnetfeltstyrke langs x -aksen under utlesningen i det som kalles frekvenskoding, mens det andre forårsaker variasjon av spinnenes fase i y -retning. Dette kalles fasekoding, og det er vanlig å omtale x - og y -retningene som henholdsvis frekvens- og faseretning.

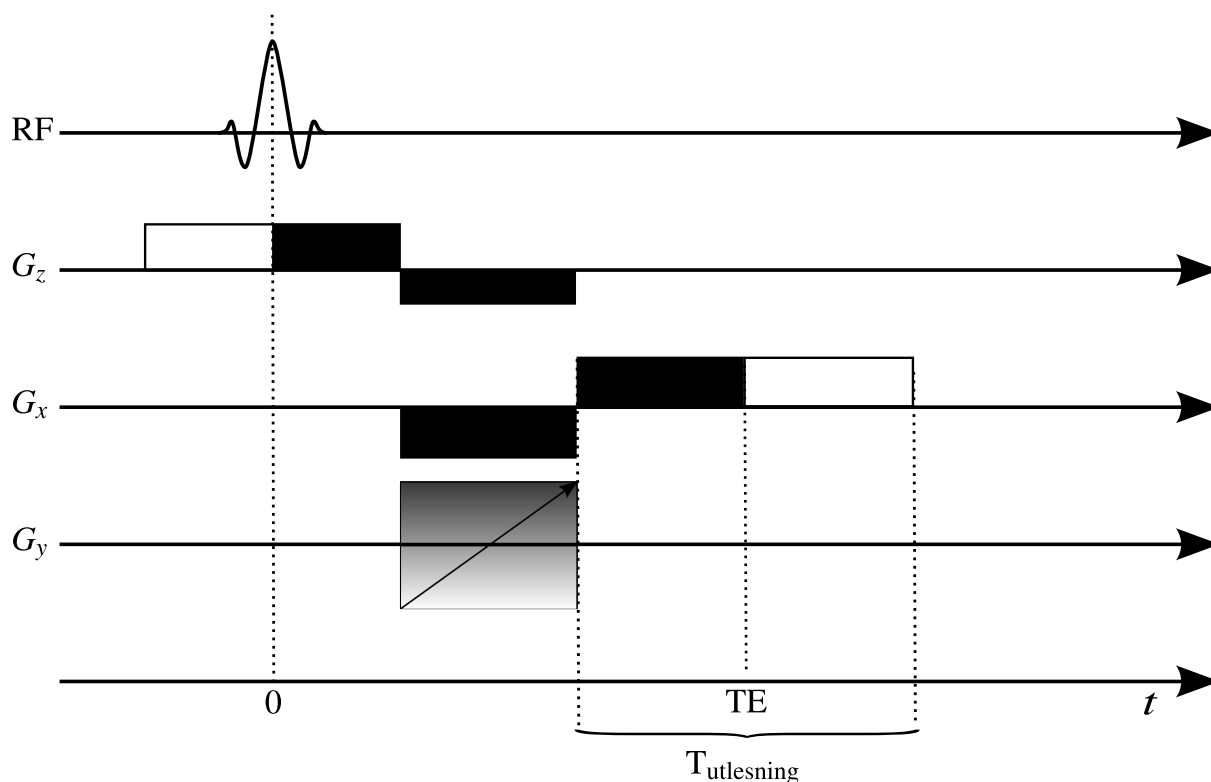
2.4.3 Gradientekkoekvensen

Figur 2.3 viser en pulssekvens for avbildning kalt gradientekko (GRE). Eksitasjonspulsen påføres mens snittseleksjonsgradienten G_z er aktiv for å eksitere spinn i det valgte snittet. Deretter skrues frekvens- og fasekodingsgradientene G_x og G_y på i det som kalles defaseringsperioden. G_y gir en lineært varierende faseforskjell i y -retningen, mens den dipolare frekvensgradienten defaser for så å refase spinnene, hvilket resulterer i et ekkosignal som har sterkest amplitude etter full refasing. Tidspunktet dette inntreffer på kalles ekkotiden (TE), og utlesningen av signal foregår samtidig med den refasende gradienten.

2.4.4 Vekting

Ved valg av forskjellige kombinasjoner av sekvensparametre kan det resulterende bildet reflektere ulike egenskaper ved det avbildede objektet. Jo lengre tid det går fra eksitasjonspulsen til signalet leses ut, jo mer vil magnetiseringen i transversalplanet ha avtatt. På samme måte vil

²En voksel er et 3-dimensjonalt bildeelement.



Figur 2.3: Grunnleggende gradientekosekvens. Etterfølgende skraverte felt indikerer at tidsintegralet over gradienten er null, som har til hensikt å reversere faseforskjellene forårsaket av gradienten.

gjenetableringen av longitudinell magnetisering avhenge av tiden mellom eksitasjonspulsene, kalt repetisjonstiden (TR).

For å oppnå maksimal T_1 -vektning er det derfor hensiktsmessig å bruke lav TR, slik at vev med lave T_1 -verdier vil ha gjenvunnet mer av sin longitudinelle magnetisering enn vev med høy T_1 ved neste eksitasjonspuls. Ved bruk av lav TE vil man samtidig minimere effekten av T_2 -relaksasjon, hvilket fører til at kontrasten i bildet i størst mulig grad skyldes forskjeller i T_1 . Et slikt bilde kalles et T_1 -vektet bilde.

Dersom det er ønskelig å fremheve T_2 -forskjeller i vevet benytter man TR i størrelsesorden tre ganger de høyeste T_1 -verdiene i objektet. Dette gjør at magnetiseringen i transversalplanet er nogenlunde den samme etter hver eksitasjonspuls. Kombinert med TE som er tilstrekkelig høy for å skille mellom vev med forskjellig T_2 gir dette et T_2 -vektet bilde.

2.5 Kontrastmidler

Kontrasten i MR-bilder avhenger av forskjeller i relaksasjonstider i det avbildede volumet. I mange tilfeller er denne forskjellen ikke stor nok til at sekvensparameterene alene kan benyttes for å gi tilstrekkelig informasjon fra bildet. Det er da ofte hensiktsmessig å benytte et kontrastmiddel (KM) som selektivt reduserer T_1 og T_2 til protonspinnene i vannmolekyler via vekselvirkninger mellom uparede elektroner i KMet og spinnene.

2.5.1 Ulike typer kontrastmidler

Det finnes forskjellige kommersielt tilgjengelige KMer som dekker ulike behov innen MRI. Det skilles mellom paramagnetiske og superparamagnetiske KMer, deres dominante virkning på MR-signalet og hvordan de fordeler seg i kroppen.

Paramagnetiske varianter er mest brukt, og disse er ofte gadoliniumchelater. Gadoliniumionet (Gd^{3+}) er meget anvendelig fordi det har syv uparede elektroner. Gadoliniumionets dipolmoment er 657 ganger så høyt som protonets, hvilket gir et sterkt varierende magnetisk felt som dersom variasjonen er nær larmofrekvensen betydelig reduserer protonets relaksasjonstid. Paramagnetiske KMer er som regel begrenset til det vaskulære volum (blodkar) og det ekstracellulære volum. De penetrerer ikke cellene og inngår dermed ikke i deres metabolisme, men filtreres ut av kroppen gjennom nyrene. Det er også mulig å knytte kontrastmiddelet til et bestemt stoff for å lede det til et spesifikt organ.

Superparamagnetiske KMer er basert på nanopartikler bestående av jernoksider som har langt større magnetisk moment enn de paramagnetiske KMer. Nanopartiklenes størrelse hindrer dem i å forlate blodkarene, og fordi ikke kan skilles ut renalt ledes de alltid til leveren og kan dermed brukes som vevsspesifikk markør til dette organet.

2.5.2 Relaksasjonsrate

Relaksasjonsrate er en størrelse som sier hvor fort magnetiseringen gjenopprettes i longitudinell retning eller utslettes i det transversale plan, og er gitt ved den inverse av relaksasjonstiden:

$$R_1 = 1/T_1 \quad (2.15a)$$

$$R_2 = 1/T_2 \quad (2.15b)$$

KMets virkning er som nevnt å redusere relaksasjonstiden, hvilket betyr en økning i relaksasjonsraten. Hvert KM har relaksivitetskonstanter r_1 og r_2 som er konstant ved gitt feltstyrke og temperatur. Når kontrastmiddelet finnes i en konsentrasjon C er relaksasjonsratene gitt ved:

$$R_1 = R_{1,0} + r_1 C \quad (2.16a)$$

$$R_2 = R_{2,0} + r_2 C \quad (2.16b)$$

der $R_{1,0}$ og $R_{2,0}$ er henholdsvis longitudinell og transversal relaksasjonsrate uten nærvær av kontrastmiddel. Den lineære sammenhengen er en tilnærming som blir ugyldig ved høye KM-konsentrasjoner, men den er vist å holde mål for konvensjonelle paramagnetiske kontrastmidler ved de konsentrasjoner som er vanlige i klinisk bruk [4].

2.6 Dynamisk kontrastforsterket MRI

Dynamisk avbildning av menneskekroppen er av stor nytte til å kartlegge enkelte typer patologi samt normal kroppsfunksjon. Dynamisk kontrastforsterket MRI (DCE-MRI³) er en avbildningsteknikk hvor bilder tas fortløpende under tilførsel av et KM i pasienten, og hensikten er å samle informasjon om vevets funksjon med utgangspunkt i KMets dynamikk. De fleste anvendelser av DCE benytter T_1 -vektede bilder.

2.6.1 Fysiologisk grunnlag for DCE-MRI i onkologi

Kreft oppstår når genetiske mutasjoner i en celle fører til dårlig kontroll over mekanismene som regulerer celledeling. En kreftcelle kan imidlertid ikke gi opphav til en svulst større enn noen få millimeter i diameter uten at nye blodkar dannes [5]. Denne prosessen kalles angiogenese, og er resultatet av nok en mutasjon i en kreftcelle som medfører produksjon av angiogenesestimulerende stoffer. Disse påvirker endotelcellene i det nærliggende vevet til å lage sylindriske utskudd som vokser inn i svulsten og knytter seg til blodbanen [6]. På denne måten får svulsten tilførsel av næring fra blodet, hvilket muliggjør videre vekst. Det kan gå atskillige år fra dannelsen av den avaskulære svulsten til den er i stand til å vokse.

DCE-MRI har vist seg godt egnet til å måle tumorvekst og terapierespons [7], hvilket følger av at tumorindusert angiogenese som regel gir opphav til mer kaotiske karsystemer med høyere

³Fra engelsk *dynamic contrast-enhanced MRI*.

permeabilitet i blodkarene enn i normalt vev. I tilfeller med mindre aggressiv angiogenese kan DCE-MRI avdekke om svulsten er mottagelig for kjemoterapi og/eller strålebehandling [8]. Disse behandlingsformene er avhengig av at henholdsvis cytostatika og tilstrekkelige mengder med oksygen er tilgjengelig for svulstvevet.

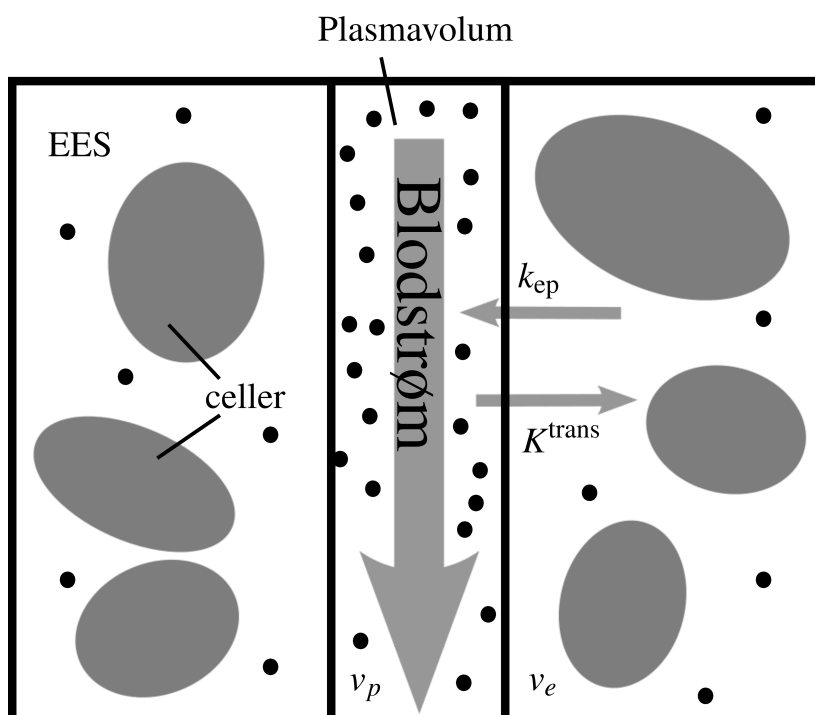
2.6.2 Glioblastoma multiforme

I Europa og Nord-Amerika er glioblastoma multiforme (GBM) den hyppigst forekommende primære hjernesvulst hos voksne, og det oppdages 2-3 nye tilfeller per 100.000 innbyggere hvert år [9]. Behandlingen av GBM består av kirurgi etterfulgt av stråleterapi. Kjemoterapi har ikke vært forbundet med særlig suksess [10], men nylig har det kommet indikasjoner på at angiogenesehemmende varianter som bevacizumab kan bedre prognosen [11]. Forventet levetid etter stilt diagnose har de siste årene økt fra 9-10 måneder til 14 måneder [9, 12, 13]. I kliniske studier er overlevelsen noe lengre fordi pasientene som deltar ikke inkluderer de med mest nedsatt funksjonsevne. Behandling av GBM er et aktivt forskningsfelt, og er per i dag av palliativ snarere enn kurativ art. Fordi svulsten infiltrerer normalt hjernevev er radikal kirurgi ikke gjennomførbart, og tilbakevekst vil alltid forekomme. Etter at så mye som mulig av svulstvevet er fjernet kan postoperativ strålebehandling forlenge levetiden med 4-7 måneder [14]. Ulike metoder er ofte effektive på noen pasienter, mens andre viser liten eller ingen respons. Da behandlingen kan medføre en vesentlig tilleggsbelastning for pasienten, er det ønskelig å kunne avdekke så tidlig som mulig i behandlingsforløpet hvorvidt den er egnet i hvert enkelt tilfelle.

2.6.3 Farmakokinetikk

Beskrivelsen av tidsforløpet til et stoff i kroppen kalles farmakokinetikk og er viktig for forståelsen av legemidlers virkning. For å få nyttig fysiologisk informasjon fra DCE-opptak brukes farmakokinetiske modeller anvendt på den observerte bevegelsen til KMet. Dette har til hensikt å gi en beskrivelse av blodtilførselen til svulsten og permeabiliteten i det omkringliggende kapillærnett. I denne oppgaven benyttes de navn på størrelser og parametre som ble foreslått av de ledende forskere på feltet i 1999 [15].

Som beskrevet i seksjon 2.5.1 benyttes i hovedsak ekstracellulære KMer, hvilket gjør det hensiktsmessig å dele vevet inn i to adskilte rom som KMet har adgang til. Disse er det vas-



Figur 2.4: To-roms farmakokinetisk modell. De svarte prikkene representerer KMet.

kulære rom og det ekstravaskulære, ekstracellulære rom (EES⁴). Figur 2.4 illustrerer en slik to-roms modell. Plasmavolumet v_p er andelen av totalvolumet som utgjøres av plasma og er gitt ved:

$$v_p = (1 - \text{Hct})v_b \quad (2.17)$$

der v_b er andelen blod og Hct er blodets hematokrittverdi (fraksjon av blodvolumet som utgjøres av de røde blodcellene). Fra plasmavolumet kan KMet trenge gjennom kapillærveggene ut til EES. Forholdet mellom volumet av EES og hele vevet betegnes v_e . Av dette følger at:

$$v_p + v_e < 1 \quad (2.18)$$

der restvolumet består av de områder som er utilgjengelig for KMet. Hvor hurtig denne transporten foregår representeres ved overføringskonstanten K^{trans} , som blant annet avhenger av kapillærenes permeabilitet og effektive overflate. Når kontrastmiddelet beveger seg ut av plasmavolumet forandres konsentrasjonsgradienten, hvilket gjør at kontrastmiddelet begynner å returnere

⁴Av englesk *extravascular, extracellular space*.

til blodplasmaet. Dette beskrives ved tilbakeføringskonstanten k_{ep} som er gitt ved:

$$k_{ep} = \frac{K^{\text{trans}}}{v_e}. \quad (2.19)$$

Av dette fremgår det at k_{ep} alltid er større enn K^{trans} såfremt det er celler tilstede i EES.

Tidsutviklingen til vevskonsentrasjonen C_t er i følge den standardiserte Tofts-modellen [15]:

$$\frac{dC_t(t)}{dt} = K^{\text{trans}} \cdot C_p(t) - k_{ep} \cdot C_t(t) \quad (2.20)$$

der C_p er konsentrasjonen i blodplasma. Dette uttrykket antar at konsentrasjonen i vaskulærvolumet kan neglisjeres, hvilket har vist seg å føre til for høye verdier av K^{trans} i områder der det ikke er gyldig å anta at $v_p \approx 0$ [16], hvilket ofte er tilfelle i svulster. For å ta hensyn til dette inkluderes et vaskulært ledd som gir det nye uttrykket [17]:

$$\frac{d[C_t(t) - v_p \cdot C_p(t)]}{dt} = K^{\text{trans}} \cdot C_p(t) - k_{ep} \cdot [C_t(t) - v_p \cdot C_p(t)]. \quad (2.21)$$

Ved å sette initialbetingelsene i ligning 2.21 til null og løse for C_t fåes:

$$C_t(t) = K^{\text{trans}} \cdot C_p(t) \otimes \exp(-k_{ep} \cdot t) + v_p \cdot C_p(t) \quad (2.22)$$

der \otimes er konvolusjonsoperatoren. For å kunne gjøre en kvantitativ analyse er det nødvendig å bestemme kontrastmiddelkonsentrasjonen i både vev (C_t) og i en tilførende arterie i nærheten av vevet som studeres (C_p). Sistnevnte kalles arteriell input-funksjon (AIF) og er ofte vanskelig å estimere, blant annet fordi bildenes romlige oppløsning i DCE-MRI ofte er så lav at det er problematisk å finne piksler som kun inneholder arterie.

Gyldigheten av informasjonen fra farmakokinetiske modeller hviler på en del antagelser om vevets kinetiske egenskaper og den anvendte MR-teorien. Blant de viktigste er:

1. KMet er jevnt fordelt i de rommene det har tilgang til.
2. KMets fluks mellom rommene er proporsjonal med konsentrasjonsforskjellen mellom rommene.
3. EES (v_e) lar seg betrakte som ett enkelt rom som utgjør hele volumet som er tilgjengelig for KMet utenfor blodbanen.

4. Lineært forhold mellom konsentrasjon og relaksivitet.
5. Vannutvekslingen er hurtig⁵ i vevet som avbildes, inkludert mellom blodplasma og EES.

2.6.4 Beregning av konsentrasjon fra DCE-serie

For å bestemme kontrastforløpet fra DCE-serier er det nødvendig å relatere intensiteten i bildene til konsentrasjon av kontrastmiddel. Før DCE-opptaket gjøres derfor en måling av T_1 i det interessante vevet ved bruk av en Look-Locker-sekvens. Kontrastmiddelet injiseres i pasienten en liten tid etter at DCE-sekvensen har startet, slik at intensiteten i de første bildene representerer samme T_1 -verdier som de funnet fra Look-Locker-sekvensen. Disse første bildene kalles baseline-bilder og blir bestemt ved manuell inspeksjon av konsentrasjonskurvene. Gjennomsnittet av baseline-bildene gir baseline-intensiteten $SI(0)$. De mest brukte DCE-metodene benytter hurtige GRE-sekvenser med utvasking⁶ av den transversale magnetiseringen. Disse sekvensene går under samlebetegnelsen FLASH⁷. Verdiene $T_1(t)$ i de påfølgende bildene kan så finnes ved innsettelse av sekvensparameterene TR og flippvinkel α i FLASH-ligningen[18]:

$$\frac{SI(t)}{SI(0)} = \frac{\left(1 - e^{-TR/T_1(t)}\right)}{\left(1 - e^{-TR/T_1(t)} \cdot \cos \alpha\right)} \cdot \frac{\left(1 - e^{-TR/T_1(0)} \cdot \cos \alpha\right)}{\left(1 - e^{-TR/T_1(0)}\right)} \cdot \frac{e^{-TE/T_2^*(t)}}{e^{-TE/T_2^*(0)}} \quad (2.23)$$

der $SI(t)$ er signalintensiteten i DCE-bildene en tid t etter kontrastmiddelets ankomst, $T_1(0)$ er den tidligere bestemte prekontrast T_1 -verdi og $T_2^*(0)$ og $T_2^*(t)$ er T_2^* -verdier henholdsvis før og en tid t etter kontrastmiddelets ankomst. I konvensjonelle DCE-sekvenser gjøres ingen måling av T_2^* , da denne antas å være mye større enn TE slik at $e^{-TE/T_2^*} \approx 1$. Konsentrasjon ved tidspunkt t kan så finnes ved innsettelse av $T_1(t)$ i ligning 2.16a.

For kroppstemperatur og feltstyrke 3T er $r_1 = 3,6 \text{ mM}^{-1} \text{ s}^{-1}$ for gadobutrol (Gd-BT-DO3A, Gadovist; Schering AG, Berlin, Tyskland) som er det KMet som anvendes i dette studiet .

2.6.5 Bestemmelse av T_2^* fra opptak med dobbelt ekko

Når det er gjort opptak av to etterfølgende ekkoer lar det seg gjøre å estimere T_2^* ved å anta en monoeksponentiell funksjon. Hvis intensiteten til det første ekkoet ved tiden TE_1 er $SI(TE_1)$

⁵Dette fenomenet omtales som *fast exchange* i den engelskspråklige litteratur.

⁶I den engelskspråklige litteratur kalt *spoiling*.

⁷Fast Low Angle SHot.

og intensiteten til det andre ekkoet ved tiden TE_2 er $SI(TE_2)$ vil T_2^* og dermed R_2^* være gitt ved:

$$\frac{e^{-TE_2/T_2^*}}{e^{-TE_1/T_2^*}} = \frac{e^{-TE_2 \cdot R_2^*}}{e^{-TE_1 \cdot R_2^*}} = \frac{SI(TE_2)}{SI(TE_1)}$$
$$R_2^* = \frac{\ln \left[\frac{SI(TE_1)}{SI(TE_2)} \right]}{TE_2 - TE_1}. \quad (2.24)$$

Kapittel 3

Metode

3.1 Introduksjon

Formålet med denne oppgaven er å utforske feilkilder og mulige optimaliseringsmetoder i DCE-MRI. Det vil undersøkes hvilke konsekvenser feil som følge av T_2^* -effekter i den anvendte AIF har for beregningen av kinetiske parametre, samt effekten av tidsoppløsning på nøyaktigheten i estimering av de kinetiske parametre.

Metodene ble utført i programvarene nordicICE (NordicNeuroLab AS, Bergen) og Matlab (versjon 7.10.0 R2010a, The MathWorks, Natick, MA, USA). nordicICE er et grafisk bildeprosessering og -analyseprogram spesielt beregnet på funksjonell avbildning som benyttes ved sykehus og forskningsinstitusjoner verden over. Matlab er et programmeringsspråk som brukes til numeriske beregninger i naturvitenskap.

3.2 Pasientgrunnlag

Det er i denne oppgaven brukt data fra en pågående studie av pasienter diagnostert med glioblastom ved Intervensjonssenteret, Rikshospitalet. Grunnlaget for studien er data fra totalt 27 undersøkelser av åtte pasienter, hvorav to kvinner og seks menn i alderen 41-66 år med gjennomsnitt 64 år. Alle pasientene ga skriftlig samtykke til å delta i studien.

3.3 Opptaksprotokoll

Alle opptak ble gjort på en Philips Achieva 3T-scanner (Philips Medical Systems, Best, Nederland) ved Intervensjonssenteret, Rikshospitalet. I studien dette arbeidet tar sine data fra ble det brukt flere sekvenser. Av relevans for denne oppgaven er:

- T_1 prekontrast
- Look-Locker
- T_1 -DCE
- T_1 postkontrast

T_1 pre- og postkontrast består av en T_1 -vektet 3D turbo field echo¹-sekvens som starter med en 180°-puls, og deretter måler magnetiseringen mens den vender tilbake til likevekt. Sekvensen benyttes før og etter DCE-sekvensen for å finne hvor KM_{et} akkumuleres. Look-Locker-sekvensen benyttes til å generere T_1 -kart, se seksjon 3.4.1. DCE-sekvensen utføres ved at KM injiseres i pasienten etter at selve scanningen har startet for å etablere baseline-nivå. Injeksjonsdosen som ble brukt var 0,1 mM/kg gadobutrol gitt i én porsjon² etterfulgt av isoton saltvannsløsning. Pasientene ble scannet hver 14. dag fra og med dagen stråleterapibehandlingen begynte, og deretter hver tredje måned etter endt stråleterapi.

Bildene lagres i filformatet DICOM³ som er standarden innen medisinsk bildediagnostikk. En DICOM-fil inneholder foruten selve bildedataene også informasjon om sekvensen som ble brukt, pasientens orientering og en mengde annen informasjon vedrørende opptaket. Dette gjør det enkelt å kombinere bilder fra forskjellige opptak som kan ha forskjellig oppløsning og/eller orientering.

3.4 Analyse av data

3.4.1 Beregning av T_1 -kart

For å estimere T_1 -verdier før tilførselen av KM ble det benyttet en Look-Locker-sekvens. Denne bruker en teknikk utarbeidet av Look og Locker på slutten av 60-tallet[19, 20]. En inversjons-

¹Field echo er Philips' betegnelse på gradientekko.

²I den engelskspråklige litteratur kalt *bolus*.

³Digital Imaging and Communications in Medicine.

puls flipper magnetiseringen 180° . Deretter måles signalet med RF-pulser med lav flippvinkel α en rekke ganger mens den longitudinale magnetiseringen M_z bygger seg opp. Man bruker lav flippvinkel for å forstyrre M_z så lite som mulig og trenger derfor flere målinger for å oppnå akseptabelt signal-til-støyforhold (SNR⁴). Etter hver puls fåes et signal som er proporsjonalt med M_z rett før pulsen. Dette fører imidlertid til at M_z taper litt størrelse, hvilket må kompenseres for ved neste puls. For hvordan dette gjøres i praksis henvises leseren til den gode beskrivelsen gitt av Kay og Henkelman[21]. Produksjonen av T_1 -kart ble gjort i nordicICE.

3.4.2 Beregning av T_1 -forløp og konsentrasjon

For DCE-opptaket ble det brukt en SR-SPGRE-sekvens[22], som står for *saturation recovery spoiled gradient echo*. Dette betyr at sekvensen starter med en 90° -puls (kalt metningspuls⁵) etterfulgt av utvasking av magnetiseringen i transversalplanet. Etter at M_z har fått bygge seg opp en tid TD ⁶ = 80 ms starter signalutlesningen med flippvinkel 30° , ekkotider $TE_1 = 2,5$ ms og $TE_2 = 5,6$ ms, repetisjonstid $TR = 3,3$ s og romlig oppløsning $1,8 \times 1,8 \times 4$ mm³. Å starte signalutlesningen såpass tidlig etter metningspuls har vist seg å minimere effekten av vannutveksling mellom de ulike rommene[23]. Sekvensen har blitt brukt i tidligere studier for måling av perfusjon i hjernen[24, 25].

T_1 -tidene finnes fra FLASH-ligningen (ligning 2.23) med $\alpha = 90^\circ$, TD i stedet for TR og antagelsen $TE/T_2^* \approx 0$:

$$\frac{SI(t)}{SI(0)} = \frac{1 - e^{-TD/T_1(t)}}{1 - e^{-TD/T_1(0)}} \quad (3.1)$$

$$T_1(t) = \frac{-TD}{\ln \left[1 - \frac{SI(t)}{SI(0)} (1 - e^{-TD/T_1(0)}) \right]}. \quad (3.2)$$

Konsentrasjonen $C(t)$ finnes så fra ligningene 2.15a og 2.16a:

$$C(t) = \frac{R_1(t) - R_1(0)}{r_1}. \quad (3.3)$$

⁴Av engelsk *signal-to-noise ratio*.

⁵I den engelske litteratur brukes begrepet *saturation pulse*.

⁶*Time delay*.

Beregningen av konsentrasjon fra DCE-seriene ble gjort i Matlab, og koden er gjengitt i seksjon B.1 på side 73.

3.4.3 Beregning av kinetiske parametre

Etter at konsentrasjonskurver er funnet for hver vokal kan ligning 2.22 løses. $C_p(t)$ er konsentrasjonsforløpet i plasma i en arterie (AIF), og er gitt ved:

$$C_p = \frac{C_a}{1 - Hct}$$

der C_a er konsentrasjonen i hele arteriepikselen. Hematokritnivået kan måles ved hver undersøkelse, men i denne oppgaven ble Hct satt til 0,45 for enkelhets skyld. En beskrivelse av hvordan AIFen beregnes er gitt i seksjon 3.5.1.

Ved å integrere begge sider av ligning 2.21 fåes:

$$[C_t(t) - C_t(0)] = (K^{\text{trans}} + k_{\text{ep}} \cdot v_p) \int_0^t C_p(t) dt - k_{\text{ep}} \int_0^t C_t(t) dt + v_p \cdot [C_p(t) - C_p(0)], \quad (3.4)$$

som på diskret form og med initialbetingelser $C_t(0) = C_p(0) = 0$ gir:

$$C_t(t_i) = (K^{\text{trans}} + k_{\text{ep}} \cdot v_p) \int_0^{t_i} C_p(u) du - k_{\text{ep}} \int_0^{t_i} C_t(u) du + v_p C_p(t_i) \quad (i = 1, 2, \dots, n), \quad (3.5)$$

der t_i representerer tiden ved det i 'te bildet. Ligning 3.5 kan skrives på matrisform [26] som:

$$\vec{C} = \vec{A} \cdot \vec{B} \quad (3.6)$$

med

$$\vec{A} = \begin{pmatrix} \int_0^{t_1} C_p(u) du & - \int_0^{t_1} C_t(u) du & C_p(t_1) \\ \int_0^{t_2} C_p(u) du & - \int_0^{t_2} C_t(u) du & C_p(t_2) \\ \vdots & \vdots & \vdots \\ \int_0^{t_n} C_p(u) du & - \int_0^{t_n} C_t(u) du & C_p(t_n) \end{pmatrix},$$

$$\vec{B} = \begin{pmatrix} K^{\text{trans}} + k_{\text{ep}} \cdot v_p \\ k_{\text{ep}} \\ v_p \end{pmatrix}$$

og

$$\vec{C} = \begin{pmatrix} C_t(t_1) \\ C_t(t_2) \\ \vdots \\ C_t(t_n) \end{pmatrix}.$$

Elementene i \vec{B} kan så finnes ved lineære minste kvadaters metode (LLSQ⁷-metoden) eller singularverdioppdeling (SVD⁸). I denne oppgaven ble LLSQ-metoden anvendt ved bruk av funksjonen `mldivide` i Matlab. Koden til funksjonen som regner ut de kinetiske parametrene er gitt i seksjon B.1.1 på side 79.

3.4.4 Bestemmelse av ROIer

Svulstens utbredelse ble definert ut fra de T_1 -vektede postkontrastbildene ved halvautomatisk segmentering i nordicICE. Postkontrastbildene ble først skalert ned til DCE-bildenes oppløsning og pikslene som inneholdt svulst ble lagret som ROI⁹-buffer. En ROI-buffer inneholder en ROI for alle snitt der svulsten er tilstede. Segmenteringen ble gjort i et manuelt valgt område som tydelig omsluttet hele svulsten samtidig som ødem ble utelatt. Intensitetsgrensen ble satt til 1,5 ganger intensiteten i hvit hjernesubstans. På denne måten ble områder med høyt KM-opptak inkludert, hvilket antas å omfatte områder med høy tumoraktivitet.

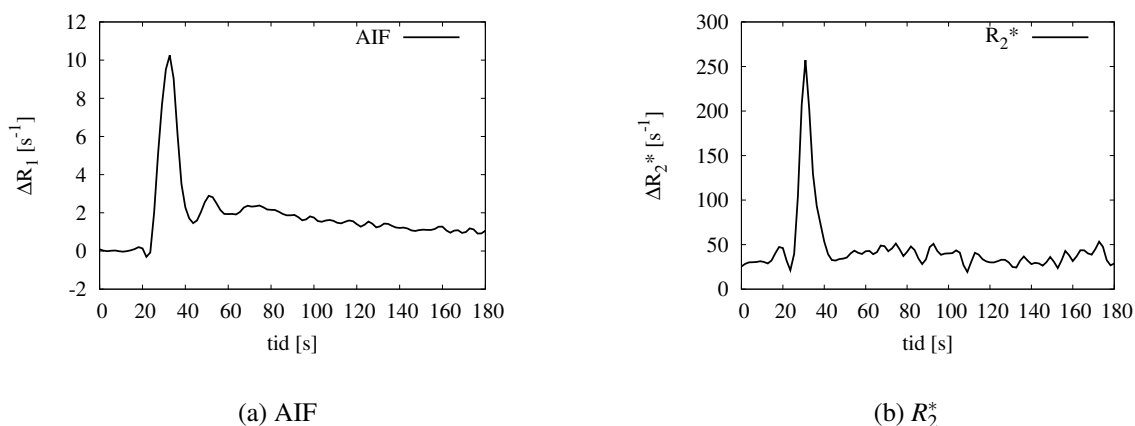
3.5 Undersøkelse av T_2^* -effekt

For å undersøke virkningen T_2^* -effekter har på de beregnede kinetiske parametrene, ble det gjort analyse med og uten korreksjon for disse i den anvendte AIFen på totalt 27 DCE-serier.

⁷Linear least square.

⁸Singular value decomposition.

⁹Region of interest.



Figur 3.1: Eksempel på AIF og R_2^* -kurve fra samme vokslers de tre første minuttene.

3.5.1 Beregning av AIFer

For å undersøke forskjellene i de utregnede parametrene K^{trans} , k_{ep} , v_e og v_p ved bruk av T_2^* -korrigeret og ikke-korrigeret AIF, ble de doble ekkoopptakene brukt til å estimere R_2^* -forløpet i vokslene AIFen ble målt i. Dette ble gjort ved at DCE-seriene ble lastet inn i nordicICE hvor først intensitetskurver i kjente arterier i de T_1 -vektede bildene ble vurdert. Det ble i første omgang forsøkt å benytte A. carotis interna der dette var praktisk mulig, og tumor lå tilstrekkelig nær til at det var fornuftig å anta at den fikk det meste av sin blodtilførsel herfra. Minst tre piksler ble anvendt til bestemmelsen av AIF. Kriteriene var at kurven måtte ha en fornuftig form, det vil si en markant topp ved KMets første passasje, etterfulgt av en mindre topp ved andre passasje og deretter jevn utvasking. For å unngå at de valgte pikslene inneholdt en vene og ikke arterie ble det identifisert en vene og forsikret om at dennes kurve var noe forsinket i forhold til den valgte AIF. Etter at piksler med en tilfredsstillende AIF var funnet, ble det undersøkt om disse ga en brukbar kurve også for bestemmelse av R_2^* -forløpet. Dette var ikke alltid tilfelle fordi de utregnede R_2^* -kartene ofte var belemret med en del støy. Et eksempel på AIF og R_2^* -kurve fra samme vokslers er gitt i figur 3.1.

En AIF som er beregnet uten hensyn til T_2^* -effekter kan korrigeres ved å benytte det målte R_2^* -forløpet. Den ukorrigerete AIF_0 inkluderer i realiteten den neglisjerte faktoren $e^{-TE \cdot R_2^*(t)}$, slik at den korrigerete AIF_{korr} finnes ved:

$$AIF_{\text{korr}} = AIF_0 \cdot e^{TE \cdot R_2^*(t)}. \quad (3.7)$$

3.5.2 Sammenlikning av beregnede parametre

DCE-analyse som beskrevet i seksjon 3.4 ble gjennomført for alle undersøkelsene uten og med T_2^* -korrigert AIF. Analysen ble utført i Matlab og koden er gjengitt i B.1. For alle undersøkelsene ble gjennomsnittsverdien av hver parameter i hele ROI sammenliknet for de forskjellige AIFene, og forholdet mellom parameterene med og uten T_2^* -korreksjon ble fremstilt som boksplokk (se avsnitt 3.7.2).

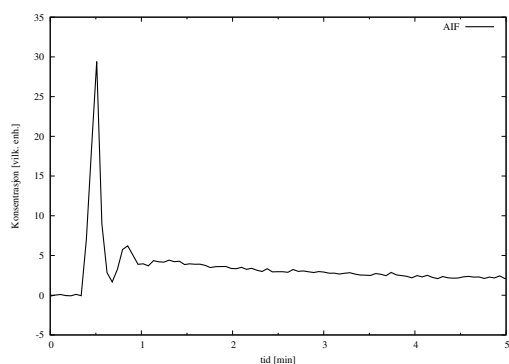
Som en validering av Matlab-programmet ble analysen også foretatt i nordicICE og resultatene sammenliknet.

3.6 Undersøkelse av effekten av ulike tidsoppløsninger

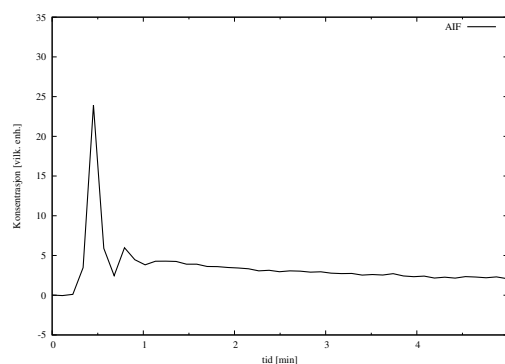
For å undersøke effekten av å gjøre DCE-opptak med forskjellige tidsoppløsninger ble eksisterende serier nedskalert til nye serier med færre bilder. I tillegg ble det gjort datasimuleringer for å teste et større spekter av tidsoppløsninger enn hva som var praktisk gjennomførbart med de kliniske seriene. Hensikten med dette var å kartlegge hvor hyppig bilder må tas for å få pålitelige resultater i ulike scenarier. I DCE-MRI som i MRI for øvrig gjøres det alltid et kompromiss mellom akvisisjonstid og andre kvaliteter ved bildene. Lavere tidsoppløsning åpner for høyere romlig oppløsning, som bedrer det diagnostiske potensialet til bildene, og det vil kunne oppnås høyere SNR.

3.6.1 Temporal nedskalering av eksisterende serier

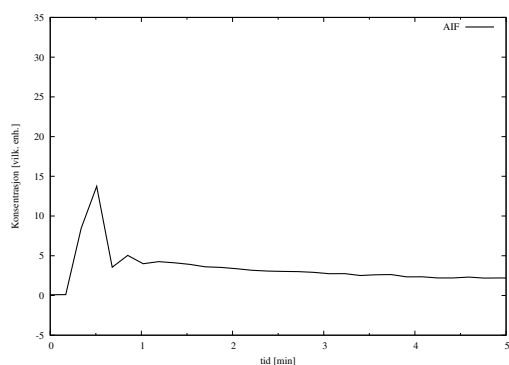
6 DCE-opptak fra én pasient med tidsoppløsning 3,4 s ble nedskalert 2, 3, 10 og 20 ganger, til tidsoppløsningene 6,8 s, 10,2 s, 34 s og 68 s. Nedskaleringen startet etter den definerte baselineperioden slik at samme baseline ble brukt for alle seriene. For hver nedskalering ble bildene i hvert intervall midlet for å simulere effekten lengre akvisisjonstid har på SNR. Det samme ble gjort med AIFen for hver nedskalering. Kinetiske parametre ble så beregnet i nordicICE, og sammenliknet med verdiene fra den originale serien. Et eksempel på vevsresponskurve og nedskalerte AIFer er gitt i figur 3.2. Av praktiske årsaker ble ikke AIFene i denne delen av studiene korrigert for T_2^* -effekter.



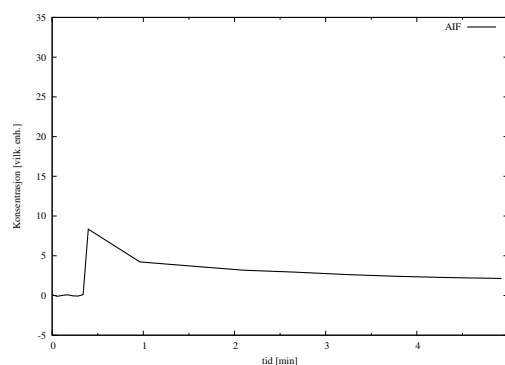
(a) AIF, 3,4 s (original serie)



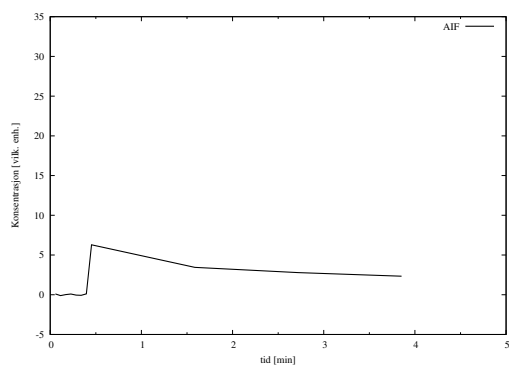
(b) AIF, 6,8 s



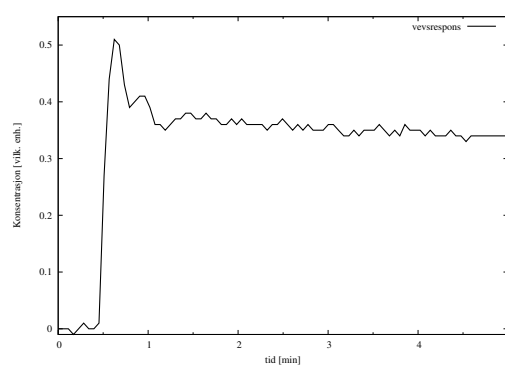
(c) AIF, 10,2 s



(d) AIF, 34 s



(e) AIF, 68 s



(f) Vevsrespons, 3,4 s.

Figur 3.2: En AIF og dens nedskaleringer (a-e) og den tilhørende vevsresponsen (f). Merk at nedskaleringen ikke begynner før etter den definerte baselineperioden, slik at de første punktene til og med det første etter baseline er identiske for alle tidsoppløsninger.

3.6.2 Simuleringer

Simuleringene ble gjort i Matlab. Som referanse-AIF ble det benyttet en gammavariatfunksjon med et stabil tilstandsledd på formen [27]:

$$C_p(t) = (t - T_0)^a \exp\left(-\frac{t - T_0}{b}\right) + C_{p,ss} \left(1 - \exp\left(-\frac{t - T_{0,ss}}{\beta}\right)\right) \exp\left(-\frac{t - T_{0,ss}}{T_{el}}\right) \quad (3.8)$$

der a , b og β er kurvekonstanter, T_0 er KMets ankomsttid, $T_{0,ss}$ er tiden stabil tilstand inntreffer, $C_{p,ss}$ er konsentrasjonen i den stabile tilstanden (SS¹⁰) og T_{el} er KMets halveringstid i plasma. SS-leddet tilfører AIFen en hale slik dens form blir mer lik den man kan observere i en målt AIF. Kurvekonstantene ble valgt slik at maksimal konsentrasjon ble 11 mM. En referansekurve for vevsresponsen C_t ble så generert med tilfeldig valgte verdier av parameterene K^{trans} , v_e og v_p fra ligning 2.22. Referansekurvene ble generert med tidsoppløsning 0,1 s. Disse ble så nedskalert til tidsoppløsninger tilsvarende de brukt for de nedskalerte seriene. For hver tidsoppløsning ble kurvene tilsatt normalfordelt støy som ga SNR= 5 i vevsresponskurven etter to og et halvt minutt, det vil si etter at kurvene har stabilisert seg. Dette oppnås ved at støyvektorer S med samme lengde som C_p og C_t adderes til kurvene:

$$\begin{aligned} C_p &= C_p + S_1 \\ C_t &= C_t + S_2 \end{aligned} \quad (3.9)$$

der C_p og C_t er referansekurvene til henholdsvis AIFen og vevsresponsen, og $S_{1,2}$ er vektorer generert med Matlab-funksjonen `normrnd`. Denne funksjonen gir normalfordelte tilfeldige tall som skaleres for å gi ønsket SNR.

Det ble også gjort simuleringer med valgte verdier for parametrene for å få et tydeligere bilde av hvordan estimatet av faste parameterverdier avhenger av tidsoppløsningen. For hver nedskalering ble det gjort 1000 beregninger med forskjellige støyvektorer. Dette ble gjort for forskjellige kombinasjoner av parameterverdier, og de estimerte verdiene ble fremstilt i bok-splott. Matlab-koden som er brukt i simuleringen er gjengitt i seksjon B.2 på side 82.

¹⁰Steady state.

3.7 Statistikk

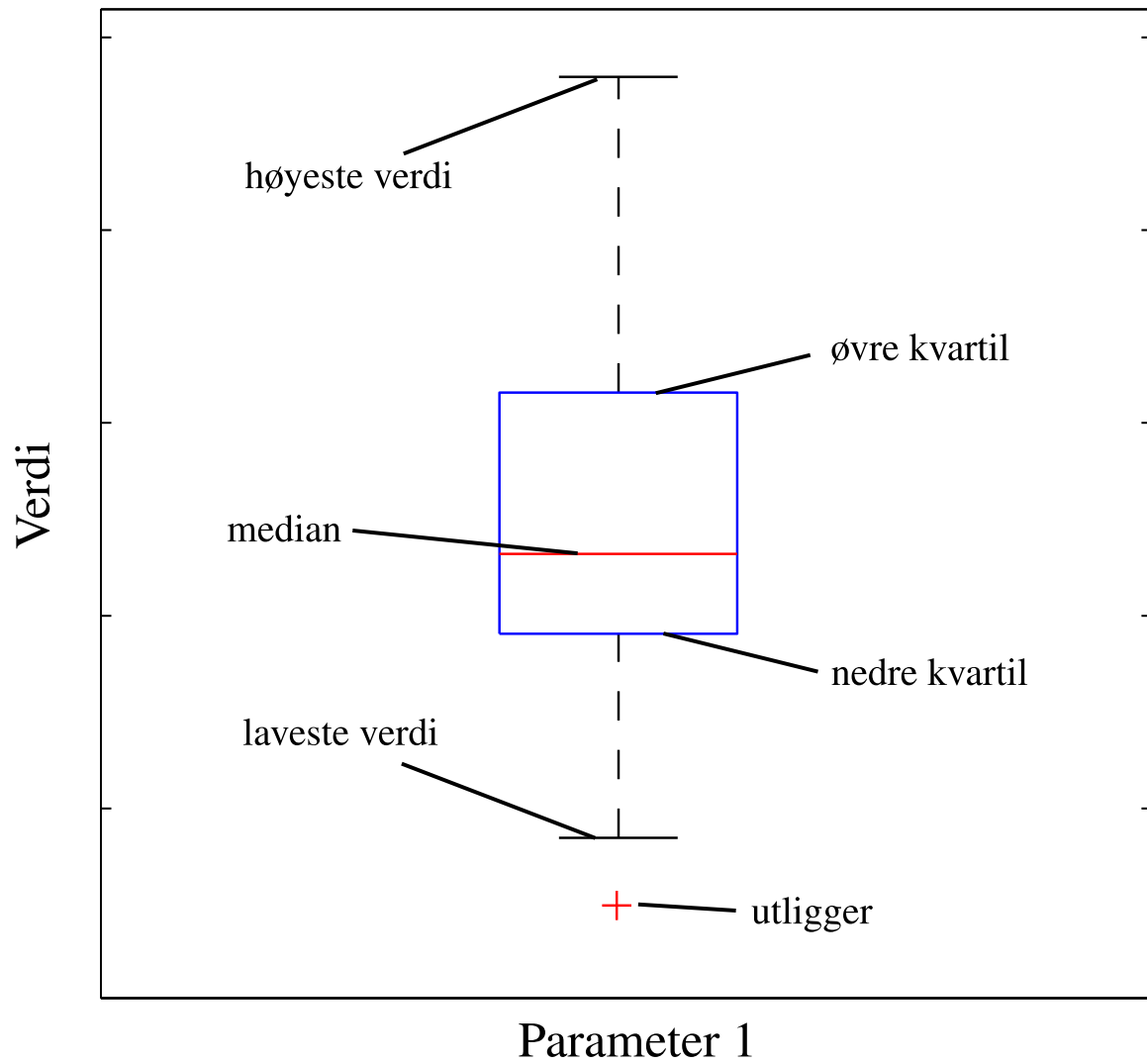
3.7.1 Signifikanstest

Resultatene i to sett målinger kalles statistisk signifikant dersom det ikke er sannsynlig at de innbyrdes forskjellene skyldes tilfeldigheter. I denne oppgaven estimeres kinetiske parametre fra samme datasett, men med forskjellig AIF. Det benyttes derfor rangtest med fortegn¹¹[28] på seriene av estimerte parametre fra alle undersøkelsene. Denne testen tar utgangspunkt i nullhypotesen om at de to måleresultatene kommer fra samme distribusjon. Nullhypotesen forkastes dersom sannsynligheten for dette er lavere enn et bestemt signifikansnivå. Det er fra gammelt av vanlig praksis å benytte signifikansnivå $p < 0.05$ [29], hvilket betyr at forskjellene målingene anses som signifikante dersom det er mindre enn 5% sjanse for at variasjonene er tilfeldige.

3.7.2 Boksplott

Et boksplott viser fordelingen av verdiene til ett sett med data. Selve boksen avgrensner nedre og øvre kvartil, som også kalles 25-persentilen og 75-persentilen. 25% av dataene har verdier lavere enn nedre kvartil, og 75% har verdier under øvre kvartil. Av dette følger at halvparten av dataene har verdier avgrenset av boksen. Medianen er tegnet som en strek inne i boksen slik at like mange datapunkter ligger over som under. Medianen kalles derfor også 50-persentilen. I tillegg er den høyeste og laveste verdien i datasettet merket med linjer over og under boksen. Dersom det er verdier i settet som avviker i stor grad fra resten defineres disse som utliggere og merkes som kryss. Et eksempel på et boksplott med forklaringer er gitt i figur 3.3.

¹¹Kjent i den engelskspråklige litteratur som Wilcoxon signed rank test.



Figur 3.3: Forklaring av boksplott

Del II

Resultater og diskusjon

Kapittel 4

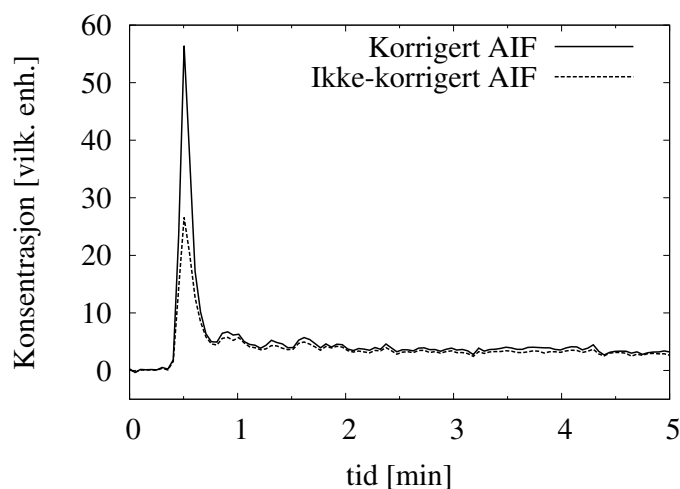
Resultater

4.1 T_2^* -effekt

Det ene målet med denne oppgaven var å undersøke om bruk av konvensjonelle DCE-MRI-metoder som ikke inkluderer estimering av T_2^* -effekter gir vesentlige feil i de beregnede parametrene. For å gjøre dette ble DCE-analyse som beskrevet i seksjon 3.4.3 på side 26 utført to ganger på hver serie; en gang med AIF som estimert fra de T_1 -vektede bildene (AIF_0) og en gang med den samme AIF korrigert for T_2^* -effekter (AIF_{korrr}). Figur 4.1 viser en ukorrigert AIF sammen med den korrigerte versjonen. Parameterkart av K^{trans} og v_p beregnet med disse er vist i figur 4.2. Det ble funnet at neglisjering av T_2^* -effekter medfører en signifikant overestimering av K^{trans} ($p < 10^{-4}$), k_{ep} ($p < 0,001$) og v_p ($p < 10^{-5}$), mens det ikke ble funnet noen signifikant forskjell i v_e -estimatene.

4.1.1 Analyse av middelverdi

Ved å sammenligne middelverdien i hele ROI fra parameterkartene med og uten T_2^* -korreksjon utjevnes ekstremverdier som kan oppstå som følge av lav absolutt, men stor relativ endring på vokselnivå. Imidlertid vil middelverdien fra alle ROIene telle likt uansett størrelse. Boksplokk av forholdet mellom gjennomsnittsverdiene i hele ROI for beregning med ikke-korrigert og korrigert AIF er vist i figur 4.3. K^{trans} er tydelig overestimert når ikke-korrigert AIF er brukt. For v_p ses en enda tydeligere overestimering, men også et større standardavvik. v_e er i mindre grad overestimert, og det ble ikke funnet en statistisk signifikant forskjell for denne parameteren.



Figur 4.1: Eksempel på AIF før og etter T_2^* -korreksjon. Disse AIFene ble brukt til å produsere parameterkartene vist i figur 4.2. Samtlige benyttede AIFer er vist i tillegg A.1 på side 67.

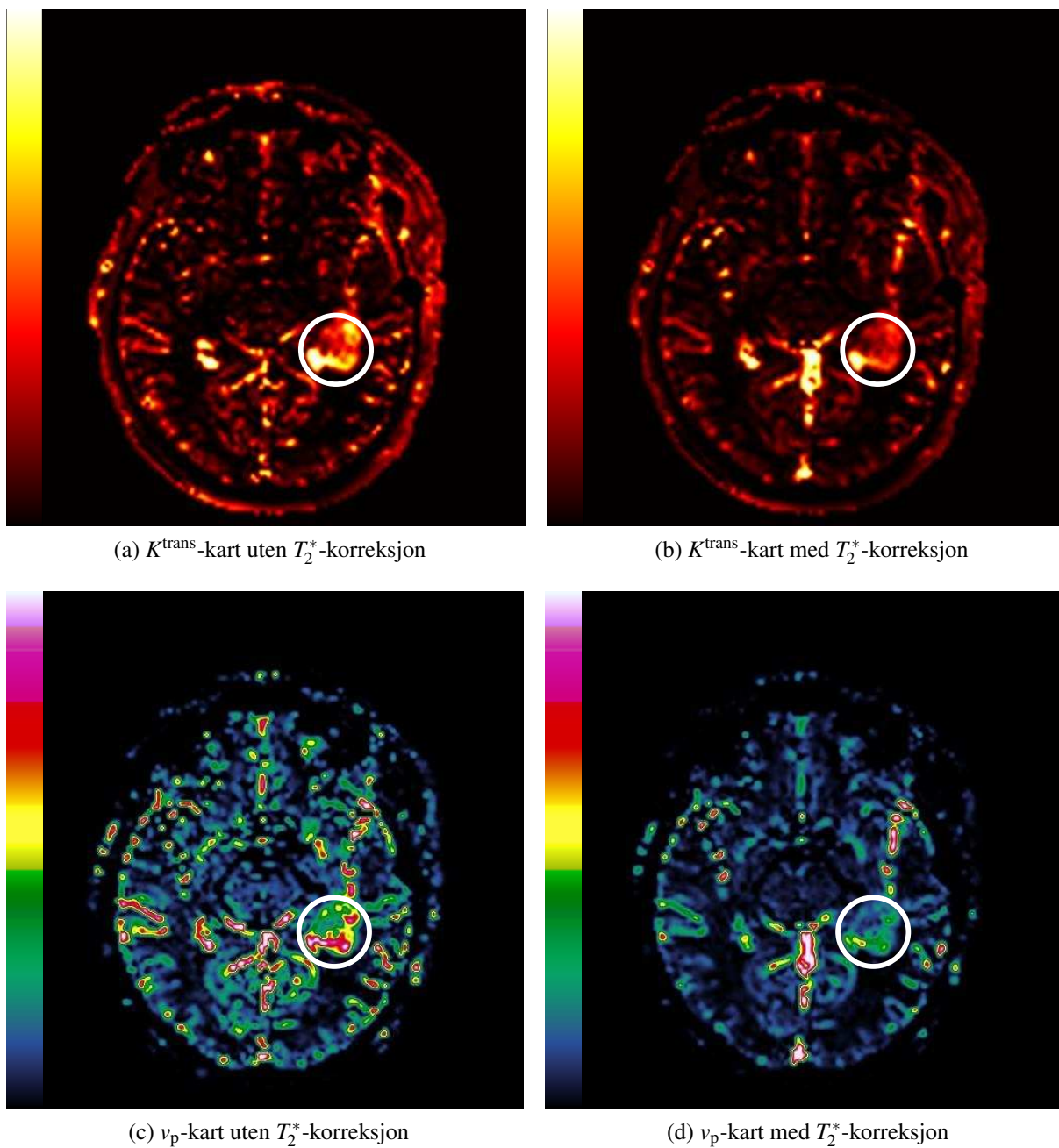
4.1.2 Analyse av pikselforhold

Fordelingen av forholdet mellom verdien i hver piksel etter beregning med de to AIFene kan gi en ytterligere innsikt i effekten av å neglisjere T_2^* -effekter. Figur 4.4 viser at K^{trans} -forholdene ligger fordelt med hovedtyngden rundt 120%. v_e er fordelt rundt 1, altså ved ingen endring. Figur 4.5 viser at over 60% av pikselverdiene beregnet uten T_2^* -korrigert AIF ligger mellom 95% og 105% av verdiene beregnet med korrigert AIF. v_p gir en annerledes fordeling med et skarpt fall for forhold lavere enn ca. 1,2, og en stor konsentrasjon rundt 2 som faller eksponentielt for høyere verdier (se figur 4.6).

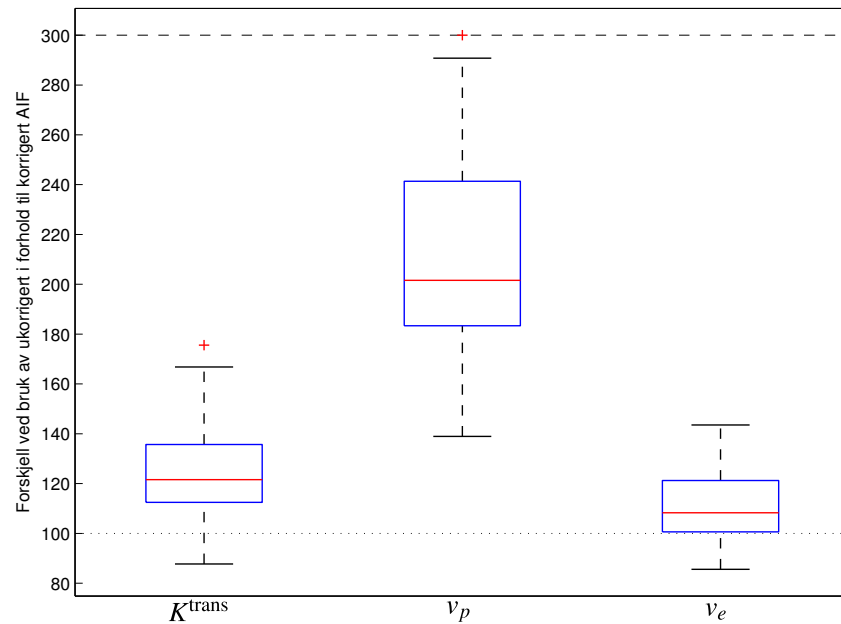
4.1.3 Sammenligning med beregninger gjort med nordicICE

Den samme analysen som presentert over ble også gjort i nordicICE for å sjekke riktigheten av beregningene til Matlab-metoden. Det antas at nordicICE gir tilfredsstillende nøyaktige resultater som følge av at det er et kvalitetssikret kommersielt produkt. Matlab-programmet bruker samme kinetiske modell og utregningsmetode som nordicICE, slik at avvik i resultatene i hovedsak vil kunne tilskrives svakheter i Matlab-programmet.

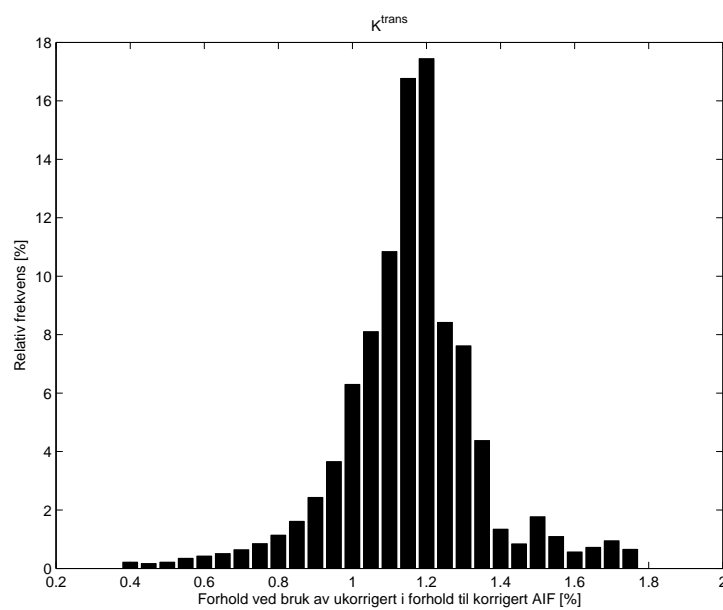
Figur 4.7 viser boksplokk av den relative forskjellen mellom gjennomsnittsverdier av kinetis-



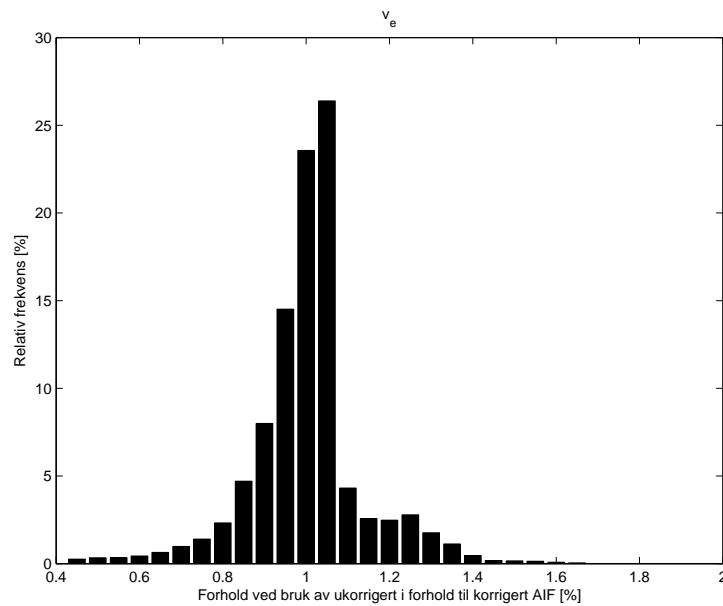
Figur 4.2: K^{trans} - og v_p -kart generert uten og med korreksjon av T_2^* -effekter (se figur 4.1). Den hvite sirkelen indikerer svulstens posisjon.



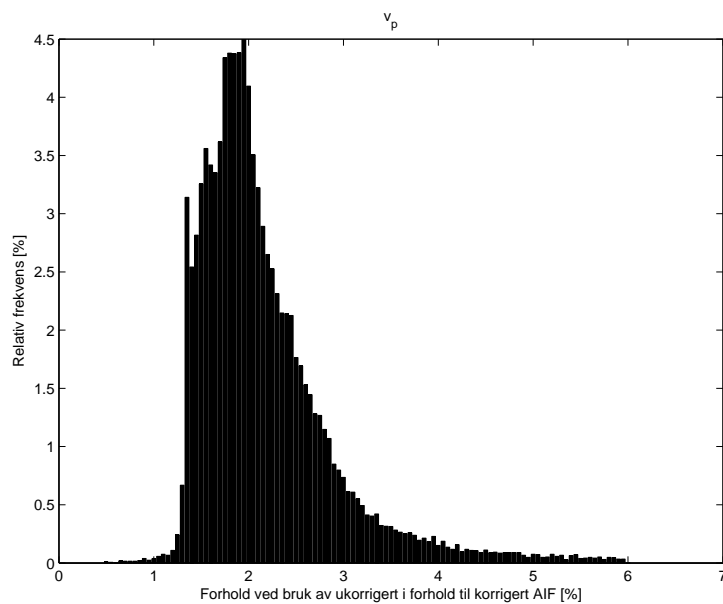
Figur 4.3: Boksploott av forholdet mellom gjennomsnittet av parameterverdiene i hele ROI beregnet uten og med T_2^* -korreksjon. Statistisk informasjon er gitt i Matlab-delen av tabell 4.1 på side 42.



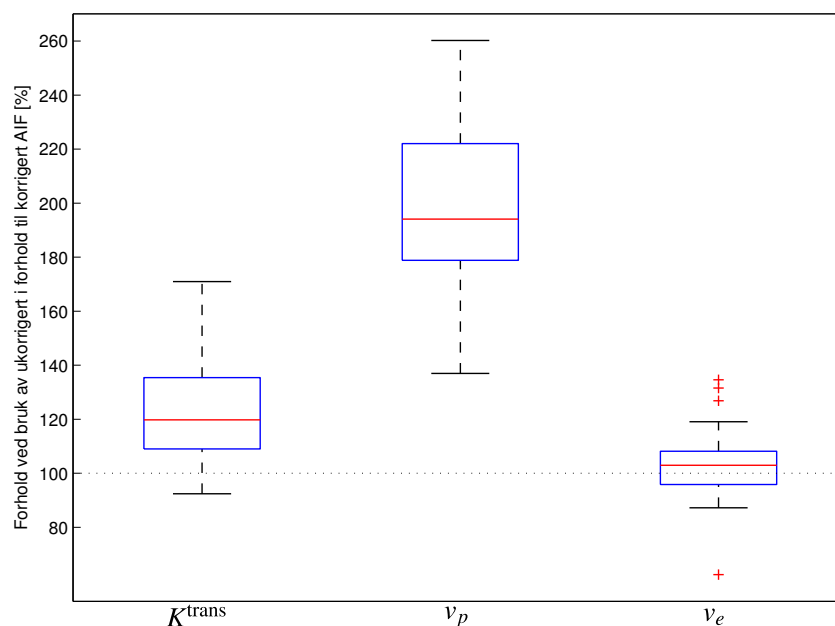
Figur 4.4: Histogram av forholdet mellom piksel for piksel av K^{trans} beregnet uten og med T_2^* -korrigeret AIF. Histogrammet er laget fra totalt 37120 piksler med nedre og øvre grense henholdsvis 0,4 og 1,8. Dette medfører at de laveste 1,0% og høyeste 0,7% er utelatt.



Figur 4.5: Histogram som viser fordelingen av de pikselvise forhold mellom v_e beregnet uten og med T_2^* -korrigert AIF. Histogrammet inkluderer forhold mellom 0,45 og 1,70, hvilket ekskluderer de 1,0% laveste og 1,7% høyeste verdiene av totalt 35012 piksler.



Figur 4.6: Histogram av forholdet mellom v_p -verdier i 34023 piksler beregnet uten og med T_2^* -korrigert AIF. Grensene er satt ved 0,5 og 6,0, som fører til at de 0,06% laveste og 6,0% høyeste verdiene er utelatt.



Figur 4.7: Boksploott tilsvarende figur 4.3 med verdier fra parameterkart beregnet i nordicICE.

	gj.snitt [%]	SD [%]	maks [%]	min [%]	median [%]
Matlab					
K^{trans}	127	22,8	176	87,7	122
v_p	215	50,6	376	139	202
v_e	111	14,7	144	85,6	108
nordicICE					
K^{trans}	125	22,1	171	92,4	120
v_p	200	32,2	260	137	194
v_e	103,5	14,4	135	62,5	103

Tabell 4.1: Sammenlikning av forhold mellom gjennomsnittsverdier av kinetiske parametre beregnet uten og med T_2^* -korreksjon ved bruk av Matlab-programmet og nordicICE. Tabellen viser gjennomsnitt av forholdet fra alle undersøkelser (gj.snitt), standardavvik (SD), maksimumverdi (maks), minimumsverdi (min) og median. Resultatene for Matlab-programmet og nordicICE er fremstilt som boksploott i henholdsvis figur 4.3 og figur 4.7.

ke parametre ved bruk av ikke-korrigerede og korrigerede AIFer beregnet i nordicICE. Sammenlignet med figur 4.3 som viser tilsvarende for beregninger gjort i Matlab ser vi at plottene er temmelig like og viser samme tendenser. Det er verdt å merke seg at nordicICE gir v_e -forhold nærmere 1, hvilket betyr at forandringen i k_{ep} -estimatene er tilsvarende forandringen i K^{trans} . Et statistisk sammendrag av resultatene fra de to metodene er gitt i tabell 4.1.

4.2 Tidsoppløsning

Effekten av ulike tidsoppløsninger ble undersøkt ved kunstig nedskalering av et utvalg av de eksisterende DCE-seriene og ved datasimulering. Hensikten var å finne hvor lav tidsoppløsning man kan bruke uten å forringe resultatene.

4.2.1 Simulering

Det ble gjort simulering med tilfeldig valgte verdier av de kinetiske parametrene som vist i koden på side 82, og den samme koden ble modifisert for å gjøre simuleringen med faste verdier.

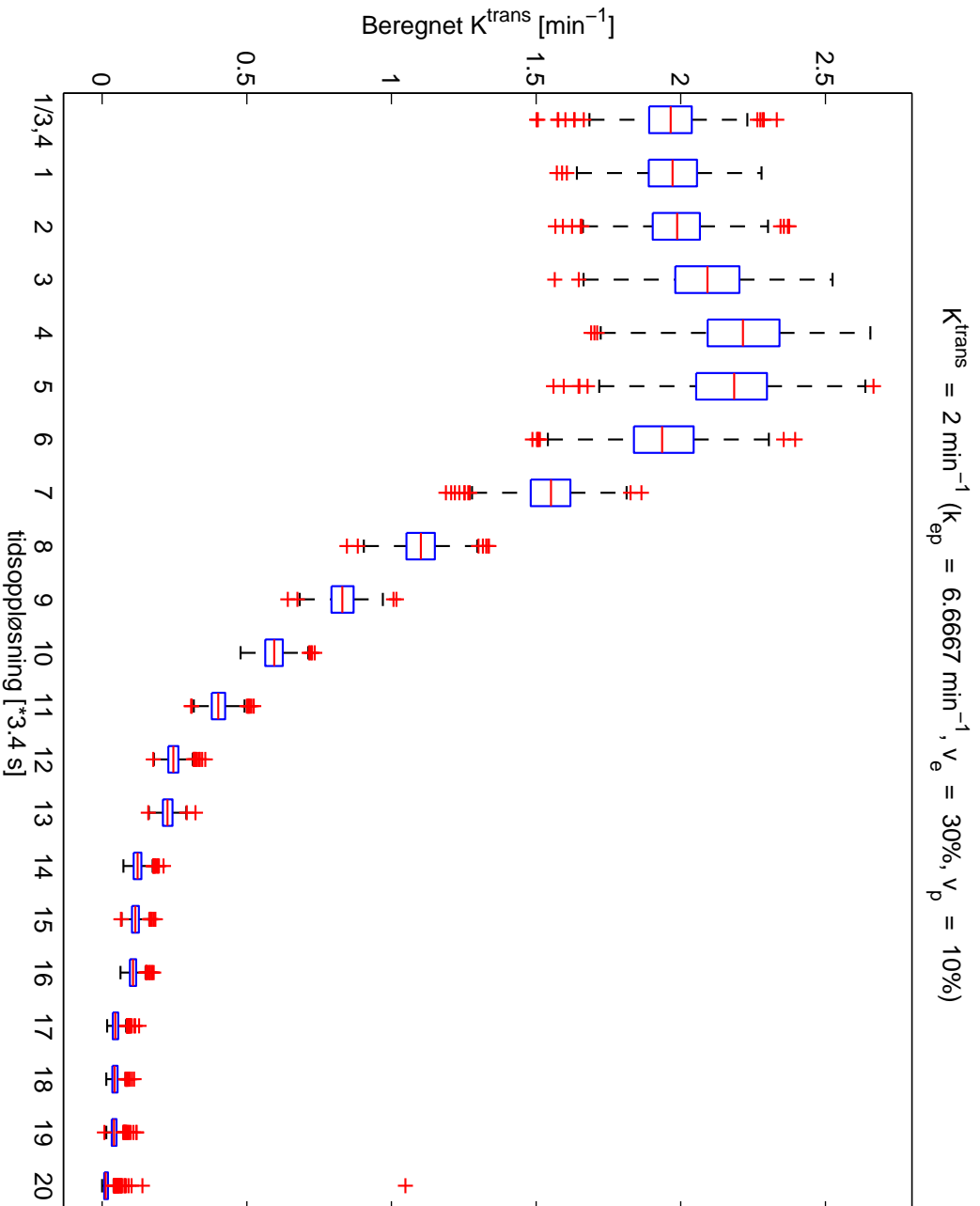
4.2.1.1 Simulering med faste verdier

Det ble gjort en simulering med parameterverdiene $K^{\text{trans}} = 2 \text{ min}^{-1}$, $v_e = 30\%$ og $v_p = 10\%$, som gir $k_{ep} = K^{\text{trans}}/v_e = 6,67 \text{ min}^{-1}$. Volumverdiene ble valgt fra resultater i kliniske data, mens K^{trans} og k_{ep} er valgt noe høyere enn hva vi observerer fra de kliniske billedseriene for å få frem effekt av for lav tidsoppløsning. Boksplokk av distribusjonen av verdier beregnet med 1000 ulike støyprofiler per tidsoppløsning er gitt for K^{trans} i figur 4.8 på neste side, for v_p i figur 4.9 på side 45, for v_e i figur 4.10 på side 46 og for k_{ep} i figur 4.11 på side 47. Med unntak av plasmavolumet viser alle parametrene samme trend med svak overestimering fra 10,2 s og deretter sterk overestimering ved lavere tidsoppløsning. v_p viser omvendt oppførsel.

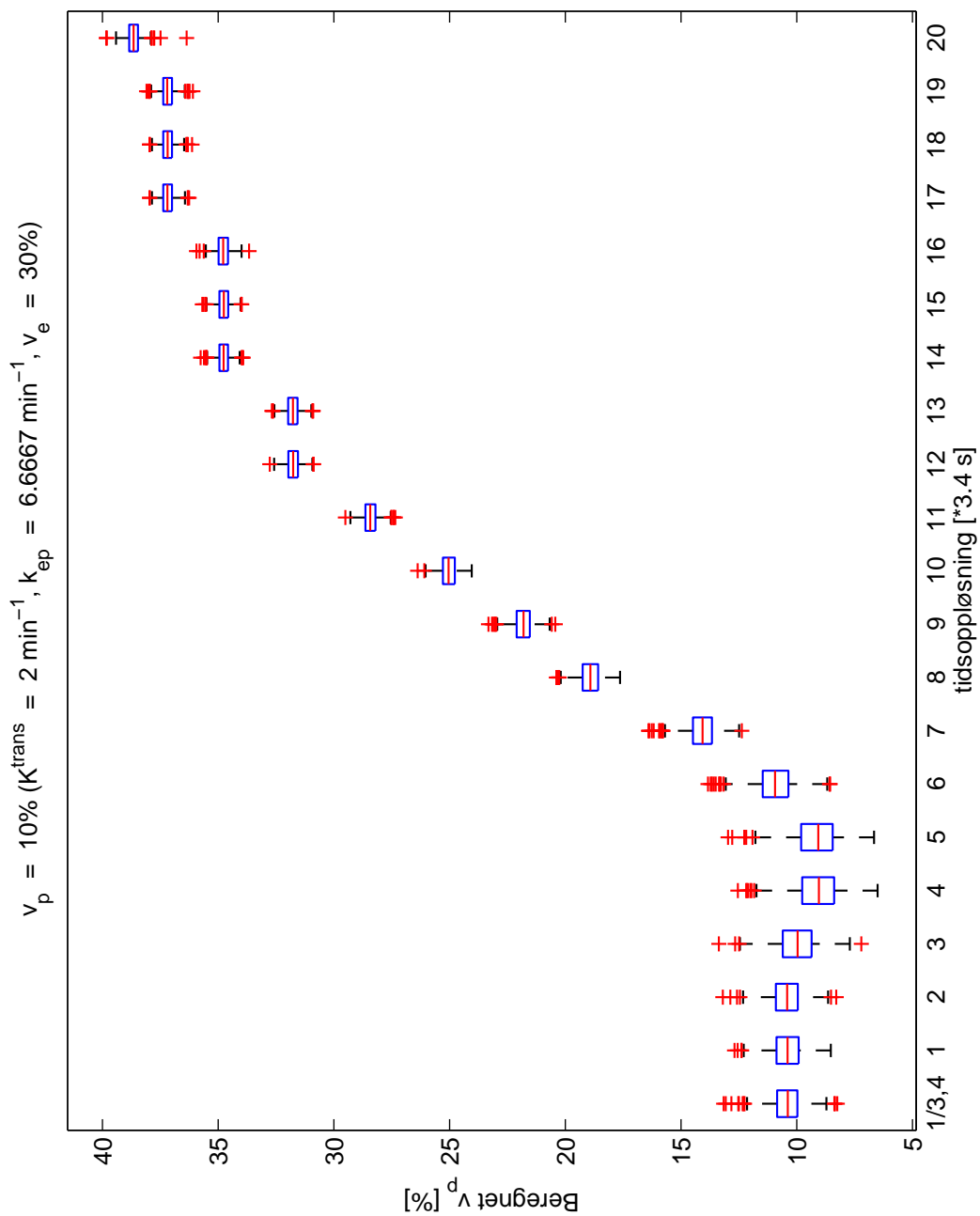
4.2.1.2 Simulering med tilfeldig valgte verdier

For å få simuleringsresultater som er mer sammenliknbare med kliniske data ble det beregnet parameterverdier fra 5000 referansekurver, hver med kinetiske parametre valgt tilfeldig fra gitte intervaller og tillagt støy. De brukte intervallene var:

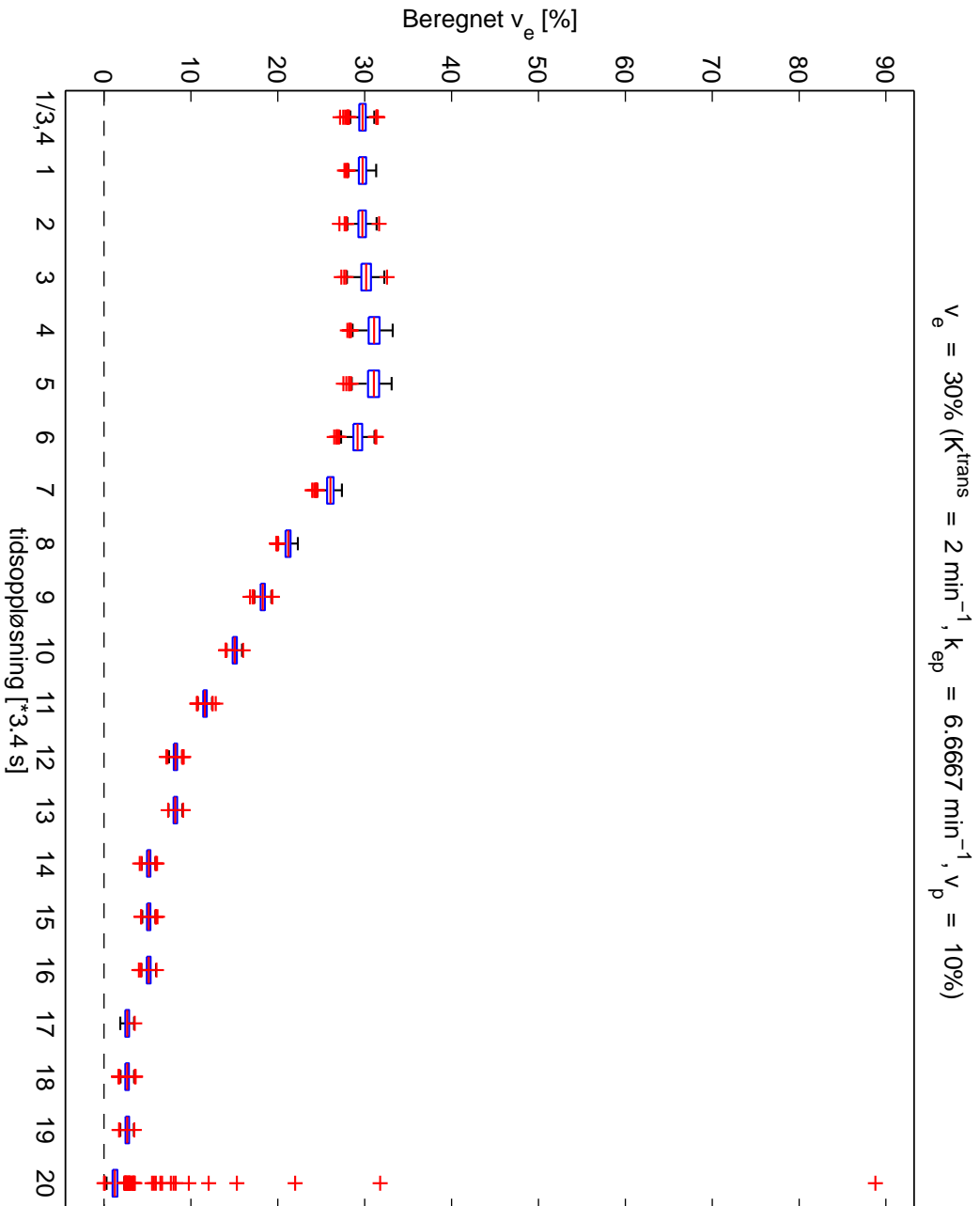
- $0 \leq K^{\text{trans}} \leq 2 \text{ min}^{-1}$



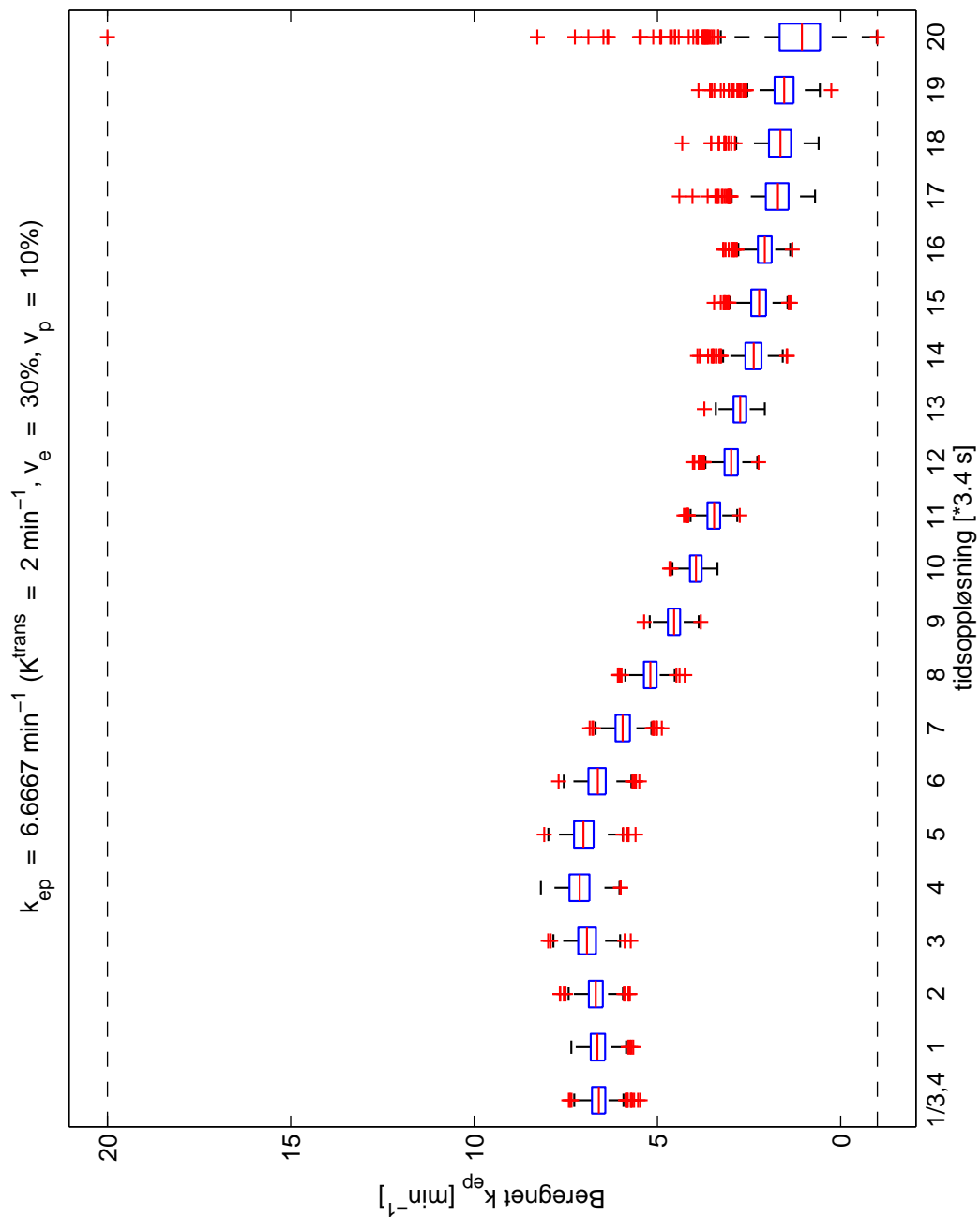
Figur 4.8: Simulerte beregninger av K^{trans} fra referansekurver med faktisk $K^{\text{trans}} = 2 \text{ min}^{-1}$ tillagt støy. Beregningene er gjort for tidsoopløsning 1 s og for 20 multiplum av 3,4 s, som er den benyttede oppløsningen i de kliniske seriene.



Figur 4-9: Simulerte beregninger av v_p med tidsoppløsning 1 s og 20 multiplum av 3,4 s. Referansekurvene ble generert med $v_p = 10\%$.



Figur 4.10: Simulerte beregninger av v_e for ulike tidsopløsninger. Referansekurvene ble generert med $v_e = 30\%$.



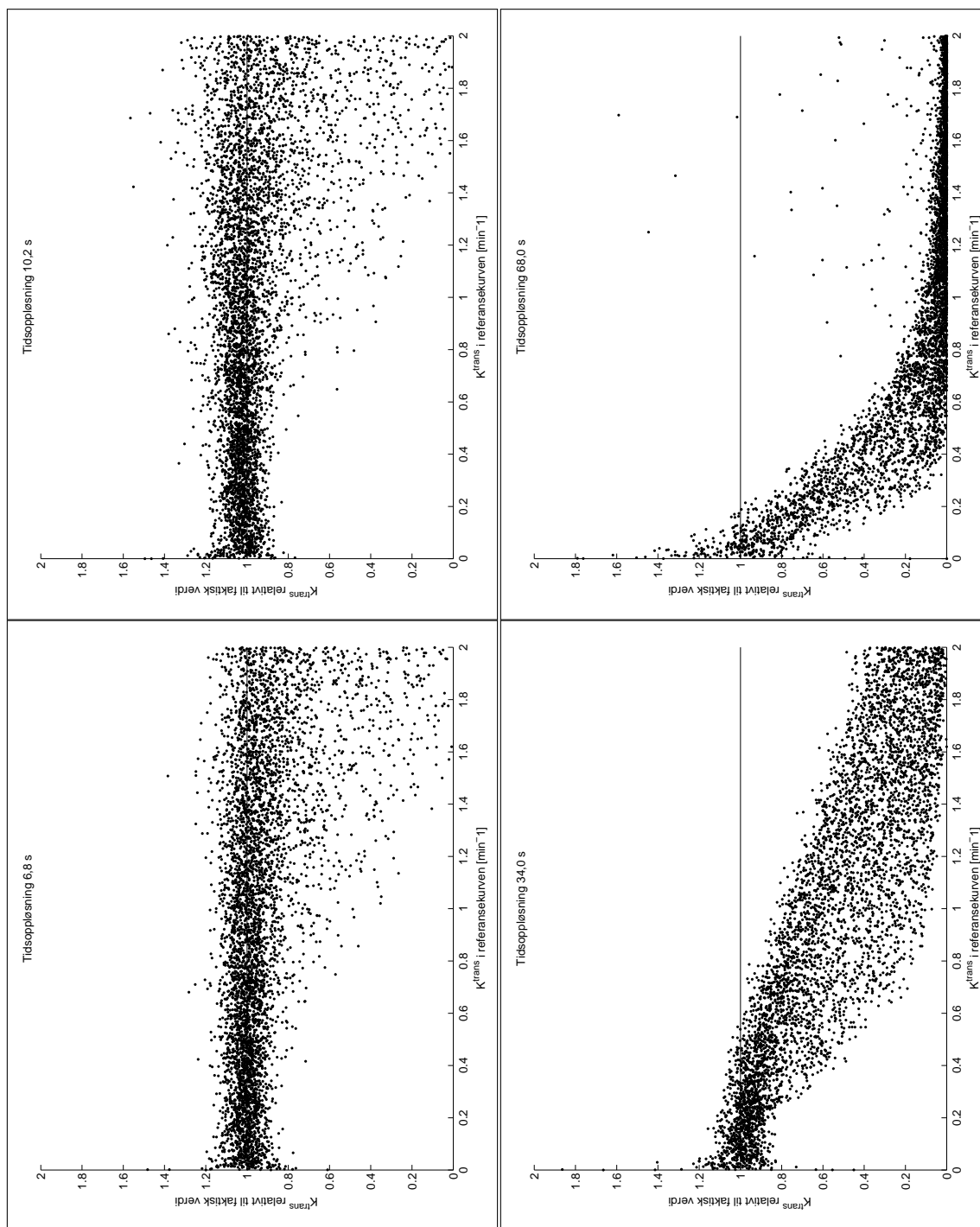
Figur 4.11: Beregnede verdier av k_{ep} ved ulike tidsoppløsninger. Referansekurvene ble generert med $k_{ep} = 6,67 \text{ min}^{-1}$.

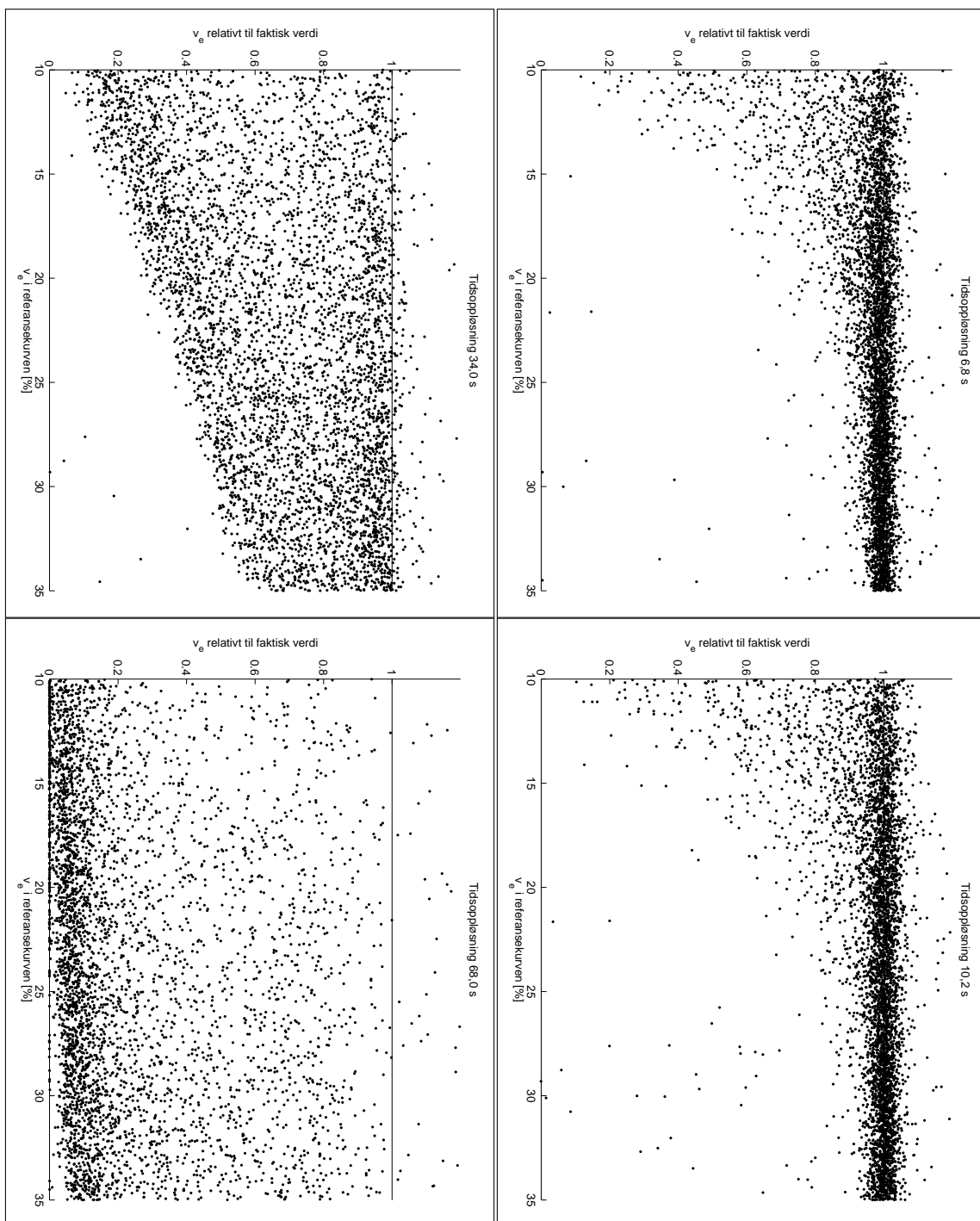
- $10\% \leq v_e \leq 35\%$
- $3\% \leq v_p \leq 12\%$

Dette ble gjort for tidsoppløsningene 6,8 s, 10,2 s, 34 s og 68 s. Resultatene for K^{trans} , v_e , v_p og k_{ep} er gitt henholdsvis i figur 4.12 på neste side, figur 4.13, figur 4.14 og figur 4.15 på de etterfølgende sidene.

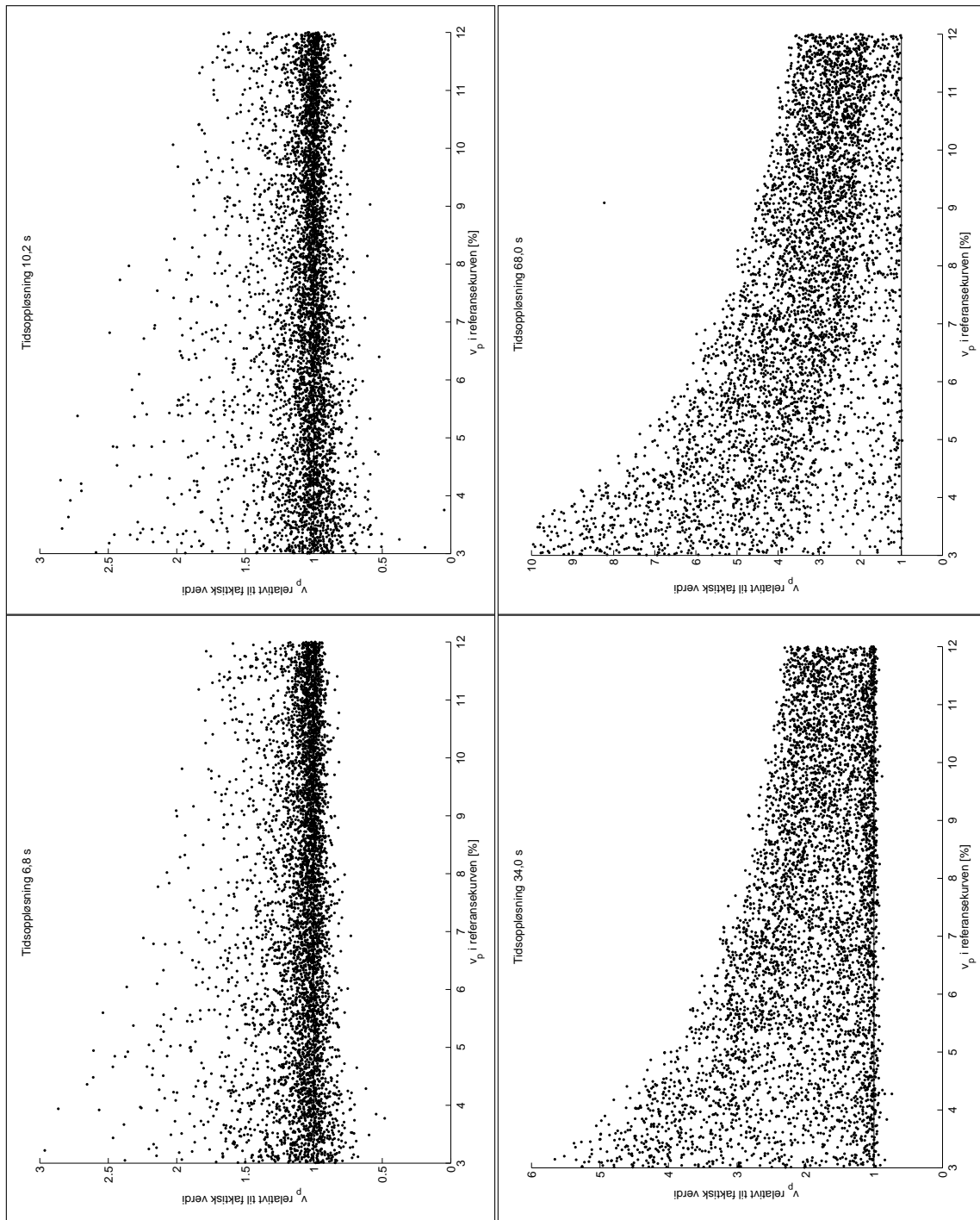
4.2.2 Nedskalerte DCE-serier

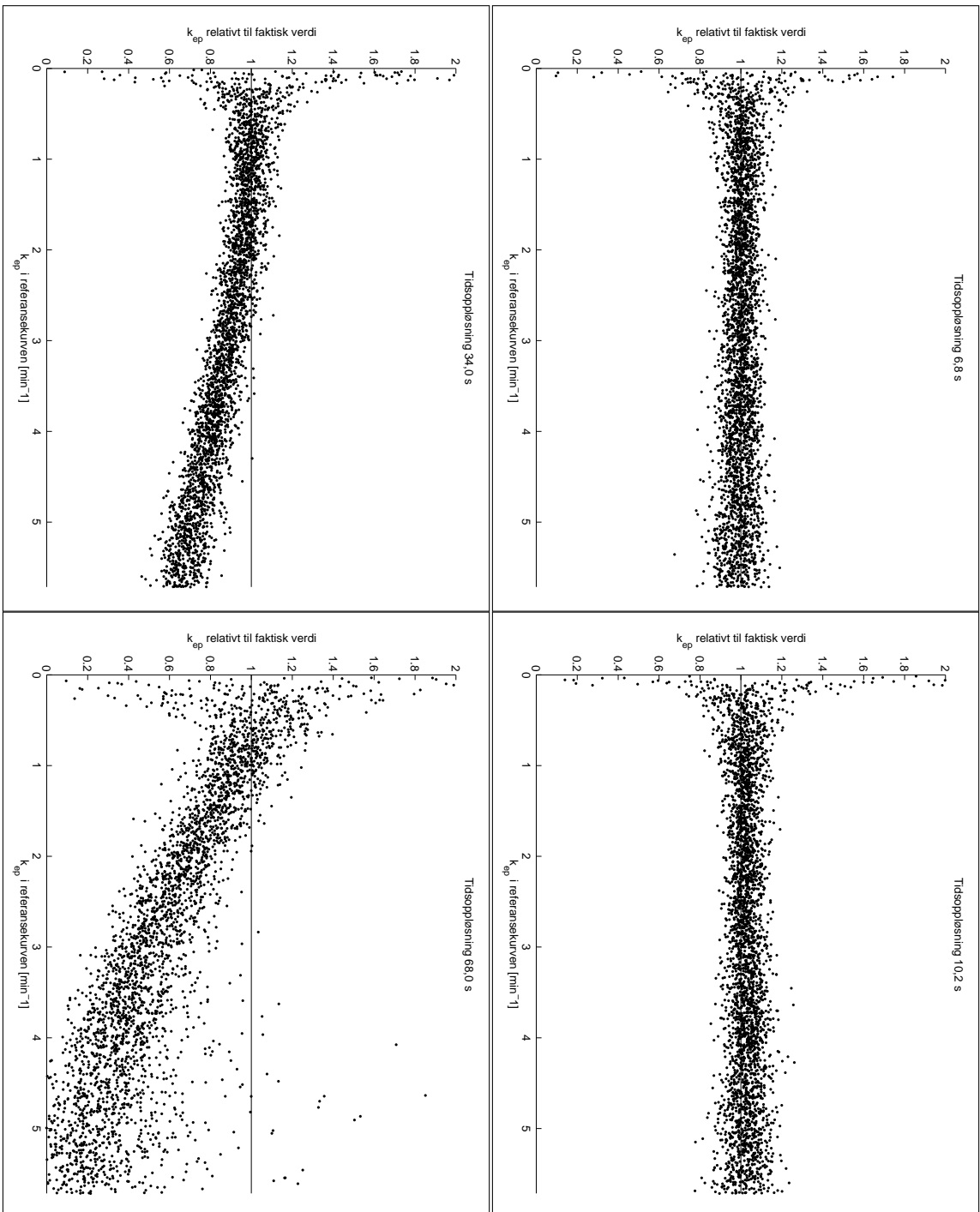
Opprinnelige DCE-serier fra 6 undersøkelser ble nedskalert fra tidsoppløsning 3,4 s til 6,8 s, 10,2 s, 34 s og 68 s. Til sammen ble 5300 piksler vurdert, og forholdet mellom verdien fra den nedskalerte serien til verdien i den originale serien er plottet for K^{trans} i figur 4.16 på side 53 og v_e i figur 4.17, v_p i figur 4.18 og k_{ep} i figur 4.19 på de etterfølgende sidene.

Figur 4.12: Simulering av K^{trans} -beregninger for fire tidsoppløsninger.

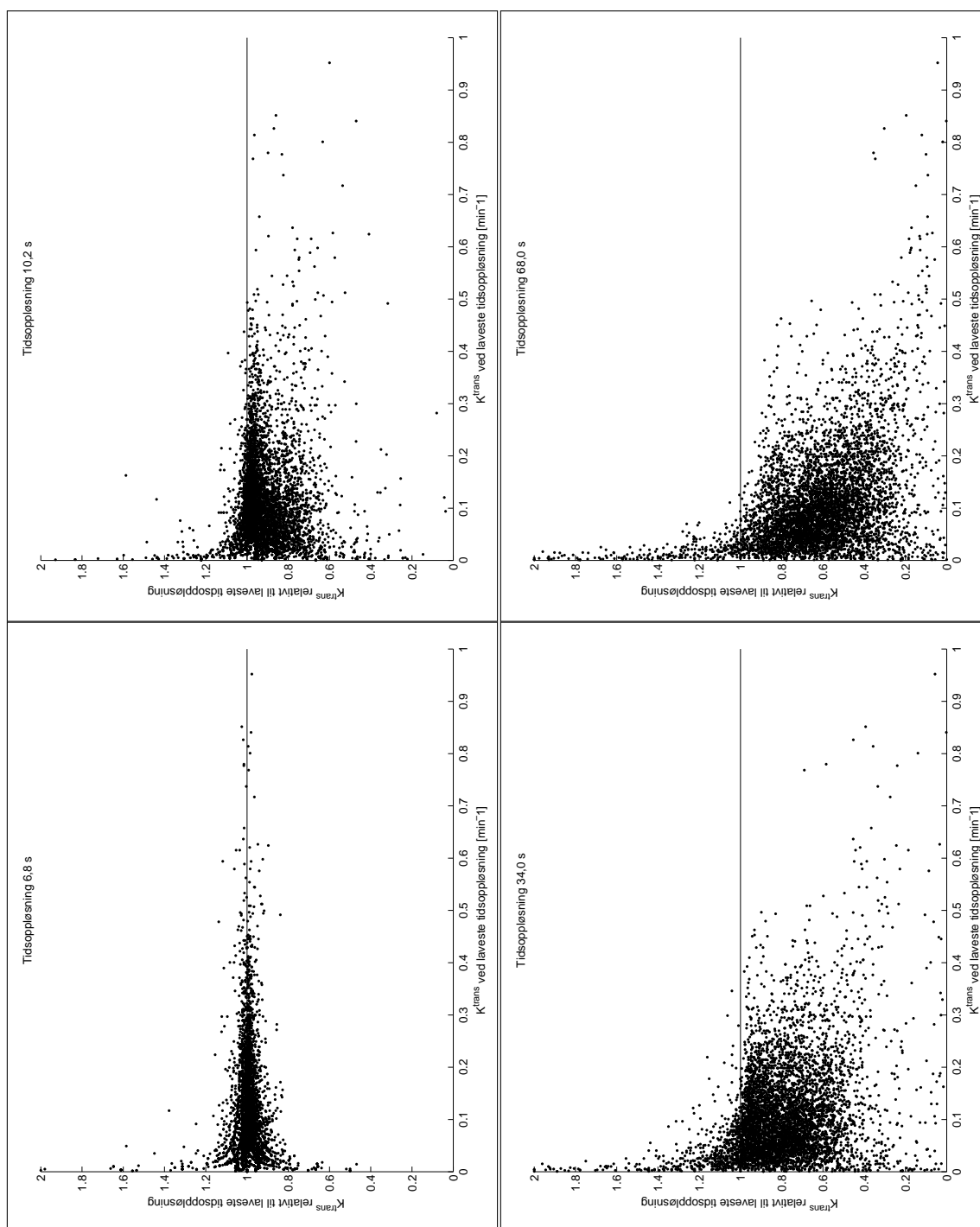


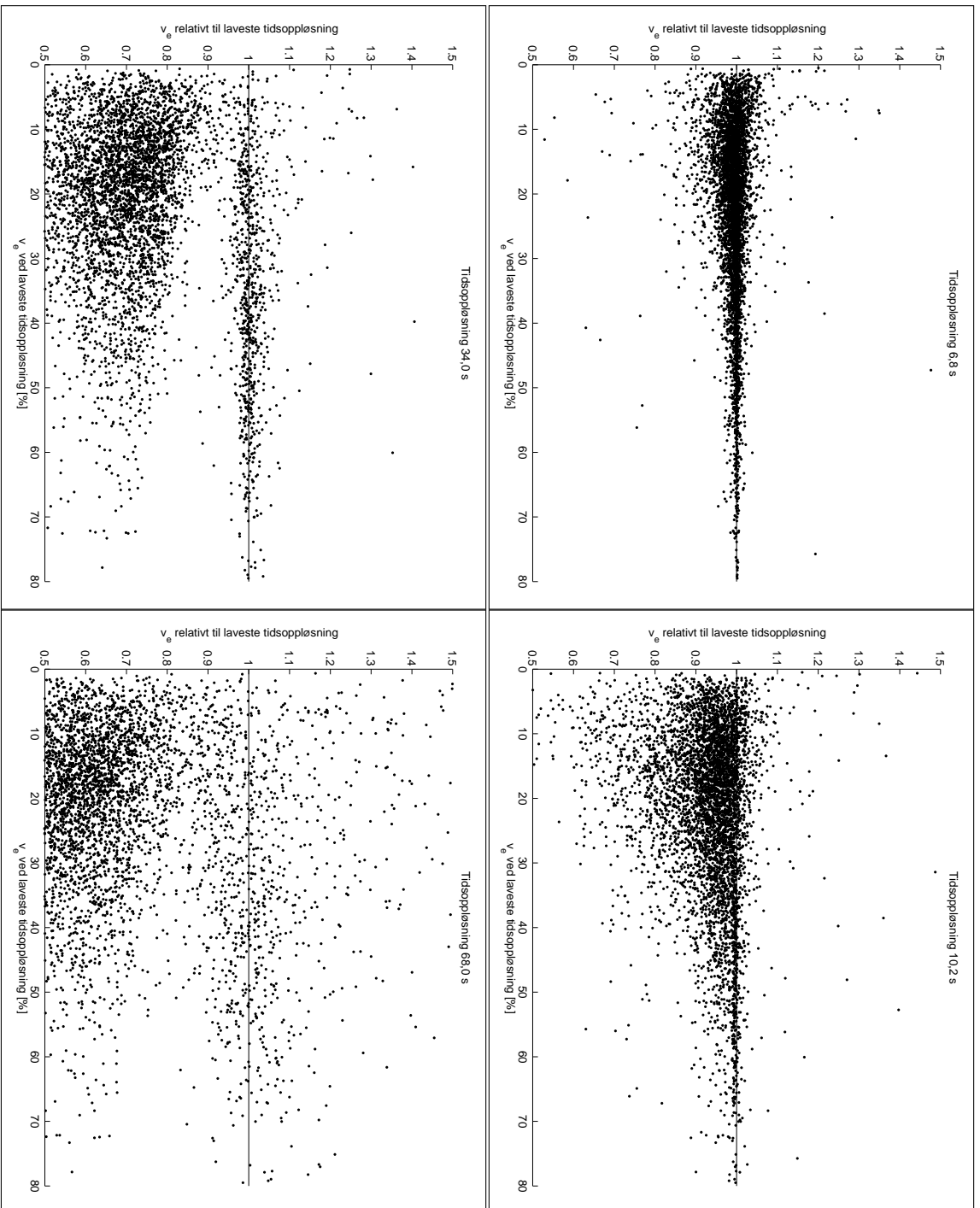
Figur 4.13: Simulering av v_e -beregninger for fire tidsoppløsninger.

Figur 4.14: Simulering av v_p -beregninger for fire tidsoppløsninger.

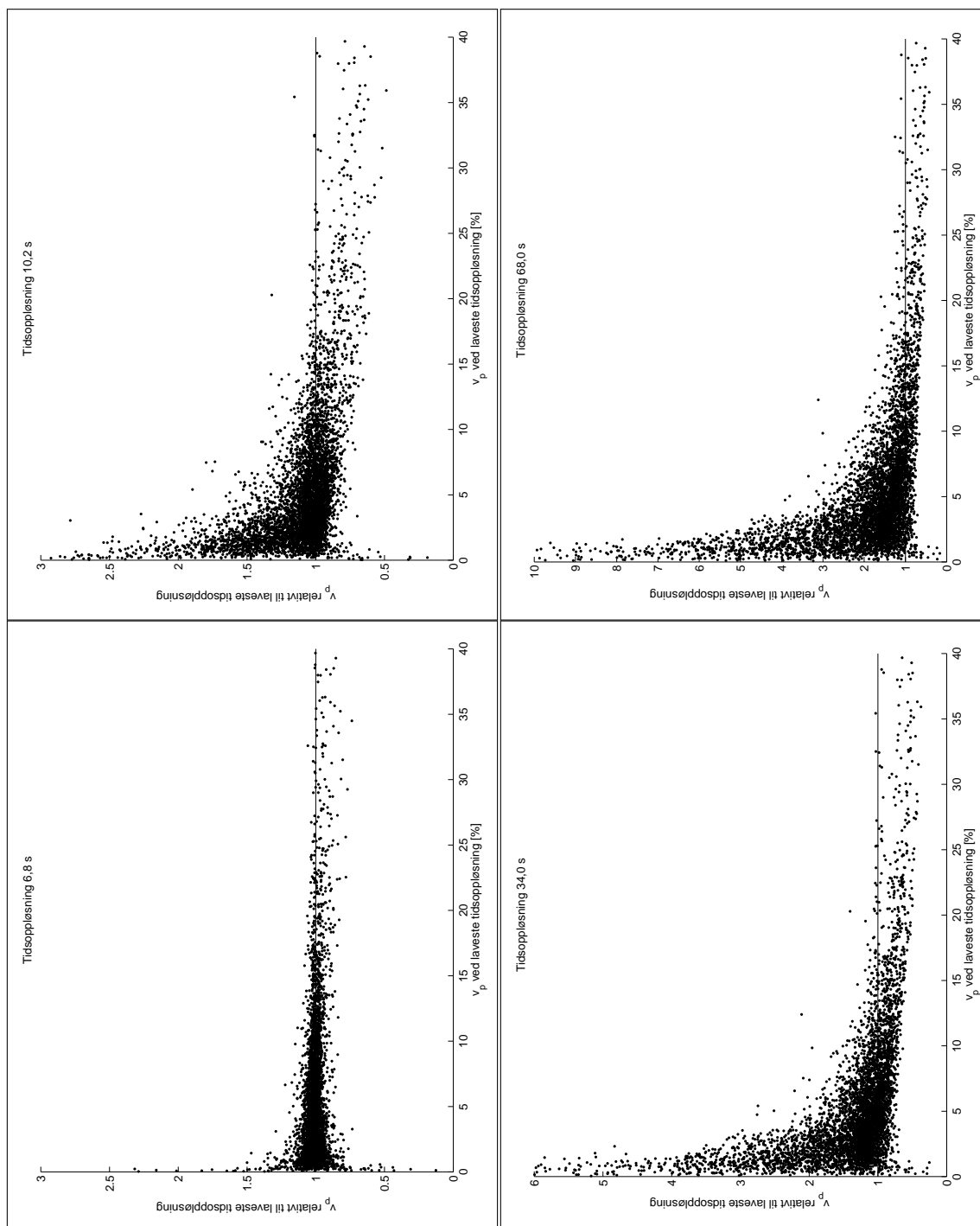


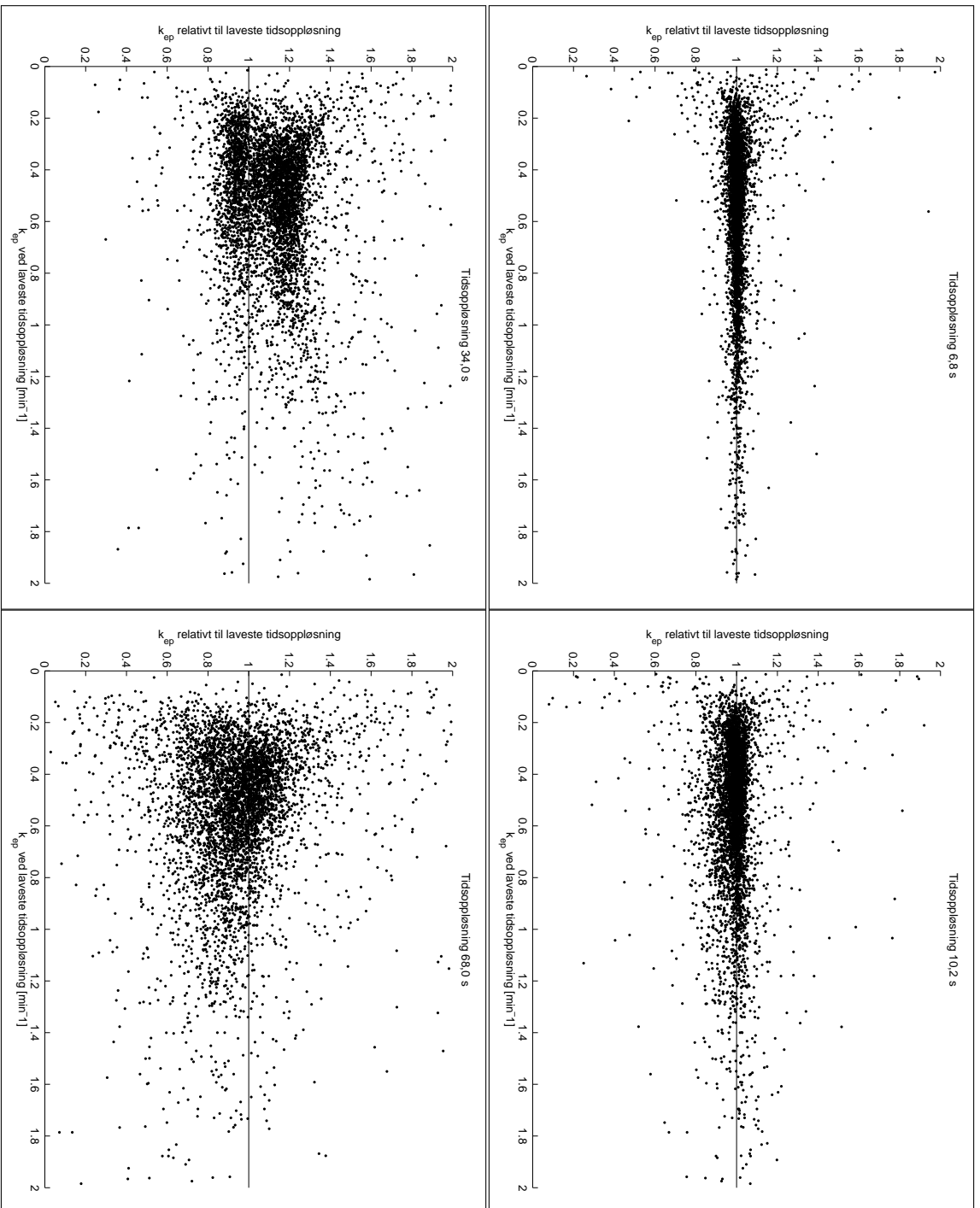
Figur 4.15: Simulering av k_{ep} -beregninger for fire tidsoppløsninger.

Figur 4.16: Beregninger af K^{trans} for fire temporale nedskaleringer i forhold til beregningene fra den originale serien.



Figur 4.17: Beregninger av v_{θ} for fire temporale nedskaleringer i forhold til beregningene fra den originale serien.

Figur 4.18: Beregninger af v_p for fire temporale nedskaleringer i forhold til beregningene fra den originale serien.



Figur 4.19: Beregninger av k_{sp} for fire temporale nedskaleringer i forhold til beregningene fra den originale serien.

Kapittel 5

Diskusjon

Undersøkelsene som er gjort i denne oppgaven omhandler aspekter ved DCE-MRI som er lite utforsket tidligere. Datagrunnlaget utgjøres av totalt 27 undersøkelser av åtte pasienter. Dette gir ikke solid nok grunnlag til å komme med definitive konklusjoner, men resultatene viser tydelige tendenser og det er grunn til å tro at de er representative for gliompatienter.

5.1 Diskusjon av resultatene

5.1.1 T_2^* -effekt i AIF

Det ble gjort undersøkelser av hvilken virkning den vanligvis neglisjerte T_2^* -effekten i AIF-beregningene har for den kinetiske analysen av DCE-MRI-opptak. Som vist i figur 4.1 på side 38 og tillegg A.1 er det særlig i første passasje av KM at feilestimering av AIFen skjer. Dette skyldes at konsentrasjonen blir såpass høy at det lineære forholdet mellom konsentrasjon og R_1 ikke lenger holder. Den underestimeringen av AIFen som skjer har en direkte virkning på estimatet av v_p . Leddet $v_p \cdot C_p(t)$ i likning 2.22, vist igjen her:

$$C_t(t) = K^{\text{trans}} \cdot C_p(t) \otimes \exp(-k_{ep} \cdot t) + v_p \cdot C_p(t) ,$$

gjør at modellen kompenserer for underestimeringen av AIFen (C_p) ved å overestimere v_p . Dette vises tydelig både i boksplottet av gjennomsnittsverdier (figur 4.3 på side 40) og histogramfordelingen av pikselvise forhold (figur 4.6 på side 41). Begge disse viser en entydig overestimering av v_p ved neglisjering av T_2^* -effekter. I figur 4.3 ser man at også K^{trans} overestimeres,

gjennomsnittlig med 127% av den T_2^* -korrigerede verdien. Sammen med den ikke-signifikante forandringen i v_e sier dette at også k_{ep} er tilsvarende overestimert. Fra histogrammene over pikselvise forhold ser man at K^{trans} (figur 4.4) og v_e har en skarp fordeling rundt henholdsvis 120% og 105%, mens det for v_p er en mye bredere fordeling. Det fremstår som tydelig at v_p er mest sensitiv for forandringer i AIFen, og den store spredningen som følge av T_2^* -korreksjon antyder at denne parameteren er avhengig av en svært presis AIF, hvilket er et problem også uavhengig av T_2^* -effekter.

En fristende metode til å begrense T_2^* er å bruke enda lavere TE . Ser man imidlertid på eksempelet på R_2^* -forløp som er gitt i figur 3.1 på side 28 der R_2^* har maksimalverdi på ca. 250 s^{-1} , og krever at amplituden ved første passering i den ukorrigerede AIFen skal være minst 90% av den korrigerede, får vi:

$$\begin{aligned} AIF_0 &\geq 0,9 \cdot AIF_{\text{kor}} \\ AIF_0 &\geq 0,9 \cdot AIF_0 \cdot e^{TE \cdot \max(R_2^*(t))} \\ TE &\leq \frac{\ln(1/0,9)}{\max(R_2^*(t))} \approx 0,42 \text{ ms} \end{aligned} \quad (5.1)$$

Dette er åpenbart mye lavere TE enn hva som i dag er praktisk mulig.

5.1.1.1 Sammenlikning med annen forskning

En nærliggende undersøkelse å sammenlikne med er den av de Bazelaire et al. [30] som gjorde DCE-MRI-forsøk i svulster på en 3T-scanner. De brukte en dobbel-ekkosekvens og brukte T_2^* -signalet til å estimere AIF under KMets første passasje, det vil si ved dens høyeste amplitude. Det ble imidlertid ikke korrigeret for T_2^* -effekter etter dette. Det ble i denne undersøkelsen funnet at bruk av ukorrigeret AIF førte til vesentlig overestimering av K^{trans} (58%) og k_{ep} (52%), mens v_e ble funnet økt med 8%. Disse resultatene viser høyere overestimering enn undersøkelsen gjort i denne oppgaven, men tendensene er de samme. de Bazelaire et al. brukte Tofts-modellen uten vaskulært ledd og har derfor ingen estimering av v_p . Dette kan også være noe av forklaringen på de høyere K^{trans} -verdiene.

Studien av Heilmann et al. [31] så på svulster i mus i en 4,7T dyrescanner, og kom frem til at ukorrigerede AIFer ga K^{trans} -verdier som var 89% av de fra korrigerede AIFer, altså en underestimering. De fant også en ikke signifikant underestimering av v_e på 8%. Dette er ikke i samsvar med denne oppgaven eller de Bazelaire et al., men studien bruker AIFer målt i musehjerte og

gjør ikke detaljert rede for den kinetiske modellen som ligger til grunn for analysen.

5.1.1.2 Forslag til videre arbeid

I ettertid er det noen momenter som synes verdt nærmere undersøkelser. Denne studien viser sterke tendenser til at neglisjering av T_2^* -effekter gir feilestimering av de kinetiske parametrene, men det er ikke gjort analyse av hvordan feilene avhenger av egenskaper ved den ukorrigerede AIFen. Underestimeringen av AIF skjer som en følge av at den lineære relasjonen mellom signal og konsentrasjon (ligning 2.16a) ikke holder for de konsentrasjonene som observeres særlig ved KMets første passasje. Det bør gjøres forsøk på å finne sammenhengen mellom konsentrasjon og signal i svulstvev når konsentrasjonen er over det lineære gyldighetsområdet. Dette vil kreve en mer nøyaktig bestemmelse av R_2^* -forløpet enn hva som er gjort her. Figur 3.1b på side 28 viser at det målte R_2^* -forløpet består av for det meste støy etter KMets første passasje. Det kan derfor stilles spørsmålsteget om AIF-korreksjonene gjort i denne oppgaven introduserer en ytterligere feil ved å justere også etter første passering. En mer nøyaktig estimering av R_2^* -forløpet kan gjøres ved å benytte flere ekkoer, med den konsekvens at akquisisjonen tar lengre tid.

5.1.2 Effekten av ulike tidsoppløsninger

Det ble også studert hvilke konsekvenser variasjon av anvendt tidsoppløsning i DCE-opptakene har for de estimerte kinetiske parameterene. Boksplokk fra simuleringer er gitt for K^{trans} i figur 4.8 på side 44 og for v_p i figur 4.9, v_e i figur 4.10 og k_{ep} i figur 4.11 på de påfølgende sidene. Disse simuleringene ble gjort med faste parameterverdier $K^{\text{trans}} = 2 \text{ min}^{-1}$, $v_e = 30\%$ og $v_p = 10\%$. Dette er en relativt høy verdi av K^{trans} . Samtlige parametre viser samme resultater for oppløsningene 1 s, 3,4 s og 6,8 s. For lavere tidsoppløsninger blir K^{trans} , k_{ep} og v_e noe overestimert før tiltagende underestimering skjer fra tidsoppløsning 20,4 s. v_p viser motsatt oppførsel. Disse funnene gjentar seg for simuleringene med varierende parameterverdier i figurene 4.12, 4.13, 4.14 og 4.15 på side 49 og utover, men her ses ikke overestimering ved tidsoppløsning 10,2 s. Grunnen til at dette observeres for de faste parameterverdiene kan være den kunstige konstante kombinasjonen av parametrene. Ved bruk av tilfeldige verdier ses heller en svak underestimering av K^{trans} ved 10,2 s, mens de øvrige parametrene viser samme fordeling som ved 6,8 s.

Ved sammenligning med resultatene fra de kliniske seriene i figurene 4.16, 4.17, 4.18 og

4.19 på side 53 og utover kan man se en lignende utvikling. Det er viktig å merke seg at simuleringen bruker jevnt fordelte parameterverdier, mens de kliniske resultatene har en stor overvekt av verdier i det lavere området for alle parametrene. For K^{trans} er utviklingen sterkere i de kliniske seriene, der man ser en tydelig underestimert allerede ved 10,2 s. Simuleringsresultatene gir lite feil for de laveste K^{trans} -verdiene selv ved den laveste tidsoppløsningen, hvilket kan være fordi frekvensene disse verdiene representerer bevares fra referansekurvene. At dette ikke skjer for de kliniske seriene kan skyldes at disse frekvensene ikke er like sterkt til stede i de originale opptakene, som følge av at de er tatt opp med tidsoppløsning 3,4 s mot simuleringenes 0,1 s.

En interessant observasjon er at estimatene av k_{ep} både fra kliniske serier og simulering ikke viser feilestimering i entydig retning for de verdiene som observeres i de kliniske undersøkelsene, selv ved laveste tidsoppløsning. Dette har sammenheng med at k_{ep} ikke avhenger av AIFens amplitude (se seksjon 5.1.2.1 under), men kun dens form. En viktig konsekvens av nedskalering til lavere tidsoppløsninger er nettopp fall i AIFens amplitude (se figur 3.2), hvilket påvirker K^{trans} og i enda større grad v_p .

5.1.2.1 Sammenlikning med annen forskning

Det ble funnet av Lopata et al. [32] at den begrensende parameteren for hvilken tidsoppløsning som er nødvendig er k_{ep} . Dette faller naturlig da denne er den høyeste frekvensparameteren. De viste at Tofts-modellen (ligning 2.22) kan betraktes som et lavpassfilter der k_{ep} representerer cutoff-verdien¹, hvilket fordrer at systemet samples med en frekvens over denne. Ved å beskrive systemet i frekvensdomenet som:

$$\frac{C_t(\omega)}{C_p(\omega)} = \frac{v_p(i\omega + k_{\text{ep}}) + K^{\text{trans}}}{i\omega + k_{\text{ep}}} \quad (5.2)$$

der ω er vinkelfrekvensen, anskueliggjøres dette.

I simuleringene gjort i denne oppgaven med $k_{\text{ep}} = 6,67 \text{ min}^{-1}$ ser man (figurene 4.8-4.11) at nøyaktigheten i estimeringene er gode til og med 6,8 s og deretter blir dårligere, hvilket er i samsvar med Lopata et al.. Det er imidlertid ikke like åpenbart i de kliniske undersøkelsene (figurene 4.16-4.19). k_{ep} har her verdier for det meste konsentrert mellom 0,2 og 1,2 min^{-1} , men nøyaktigheten faller fra og med tidsoppløsning 10,2 s.

Henderson et al. [33] gjorde simuleringer av DCE i bryst, og kom fram til at det for nøyak-

¹Et lavpassfilters cutoff-verdi er den frekvensen der dempingen starter og tiltar med økende frekvens.

tige estimeringer av v_p er nødvendig med svært hurtig sampling av AIF (hvert sekund), mens vevsresponsen kan samples sjeldnere (hvert 4. s). For nøyaktig estimering av $K^{\text{trans}} \leq 1 \text{ min}^{-1}$ ble det funnet at en tidsoppløsning på 4 s for både AIF og vevsrespons var nødvendig. Dette er noe strengere enn hva som antydes av funnene i denne oppgaven.

5.1.2.2 Forslag til videre arbeid

Resultatene i denne oppgaven tyder på at tidsoppløsning på 3,4 s er noe høyere enn hva som er nødvendig i de vurderte undersøkelsene. en tidsoppløsning på ca. 7 sekunder kan virke som en fornuftig løsning. Fordi en slik oppløsning ville tillatt mindre støy i bildene og dermed mer nøyaktig estimering av parametre, er ikke nedskalering av høyoppløselige bilder alene en ideell fremgangsmåte. En mer naturtro simulering og/eller fantomstudie kan bidra til et helhetlig bilde av kravene til tidsoppløsning.

5.2 Diskusjon av metodene

Det vil i dette delkapitlet bli presentert iboende begrensninger ved metodene som er brukt. Resultatene tas ikke med i betraktningen, med unntak av vurderingen av Matlab-metoden.

5.2.1 Undersøkelse av T_2^* -effekt i AIF på kinetiske parametre

For å undersøke hvordan de estimerte kinetiske parametrene påvirkes av T_2^* -effekter i den anvendte AIFen ble det anvendt en dobbel-ekko DCE-sekvens som beskrevet i seksjon 3.4.2 på side 25 som tillot beregning av T_2^* -forløp. T_2^* -forløpet ble så brukt til å produsere en korrigeret AIF, og resultatet av beregninger med disse to AIFene utført i Matlab ble sammenliknet. I tillegg ble utregningene fra Matlab sammenlignet med tilsvarende utregning i nordicICE.

5.2.1.1 Kritikk av Matlab-programmet brukt til estimering av kinetiske parametre fra DCE-serier

Det egenproduserte Matlab-programmet som ble brukt til å estimere kinetiske parametre er gjengitt i seksjon B.1 på side 73. Programmet utfører analysen beskrevet i metode-kapittelet på alle tilgjengelige DCE-serier.

Beregning av baseline-nivå Programmet bruker et fast antall bilder til å bestemme baseline-verdier, hvilket kan føre til at bilder med kontrastopptak kommer med, eller det kan gi et sub-optimalt estimat av baseline-nivået dersom flere bilder var tilgjengelig. I praksis ble det i dette studiet bestemt et antall baseline-bilder (6) etter manuell inspeksjon som var gyldig for samtlige serier. Det vil være mulig å implementere en algoritme for å bestemme fra bildene når KMet ankommer og velge antall baseline-bilder deretter.

Bevegelse og koregistrering For å bestemme konsentrasjon fra DCE-serien ble baseline-bildene sammenliknet med et tidligere produsert T_1 -kart uten at koregistrering fant sted. Imidlertid ble Look-Locker-sekvensen som T_1 -kartene er beregnet fra utført like før DCE-sekvensen, og det er derfor ikke urimelig å anta at det ikke forekom vesentlig bevegelse mellom dem. I løpet av de 5 minuttene DCE-sekvensen varte hendte det av og til at pasienten beveget seg så mye at kinetisk analyse ikke var gjennomførbart. I disse tilfellene, samt der hvor det ble funnet avvik mellom T_1 -kart og DCE-serie, ble serien utelatt fra analysen. Det finnes etablerte metoder for koregistrering av bilder fra forskjellige opptak og bevegelseskorreksjon innen en serie som gjør det mulig å utføre analyse på slike serier.

Validering mot nordicICE Resultatene vist i figurene 4.3 på side 40 og 4.7 på side 42 viser sammenfallende fordelinger av gjennomsnittlige forskjeller ved beregning i Matlab-programmet og nordicICE. I tabell 4.1 på side 42 ser man at det eneste signifikante avviket er i maksimalverdi av v_p , som er høyere i Matlab-beregningene (376% mot 260%). Dette tyder på at nordicICE gjør en bedre jobb med å filtrere ut ufysiologiske verdier som skyldes støy.

5.2.1.2 Kritikk av ROI-bestemmelse

ROIene der beregningene er gjort ble manuelt definert av forfatteren som beskrevet i seksjon 3.4.4 på side 27. Det ble kun lagt til grunn hvor postkontrastbildene viste oppsamling av KM, og det lå dermed ingen kvalifisert radiologisk vurdering bak. Selv om det ble lagt vekt på å unngå inkludering av ødem, var dette uunngåelig i en del tilfeller.

5.2.1.3 Kritikk av AIF-beregning

AIFene ble beregnet som beskrevet i seksjon 3.5.1 på side 28. Den begrensende faktoren var å finne arterielle piksler som ga anvendelig signal fra både DCE-serien og R_2^* -kart. Dette førte til

at AIFen ofte ble estimert i vokslar som ikke lå i umiddelbar nærhet til svulsten. På grunn av den lave romlige oppløsningen ($1,8 \times 1,8 \times 4 \text{ mm}^3$) er det mulig at de valgte vokslene inneholdt ikke-arterielt vev. Dette kalles partiell volumeffekt (PVE) og er vist å kunne påvirke den kinetiske analysen betraktelig [34]. PVE forventes dog ikke å påvirke forholdet mellom estimatene i nevneverdig grad siden de bruker AIF fra samme vokslar. Selve beregningen av R_2^* kan være unøyaktig fordi det kun brukes to ekkoer, og fordi SNR i hurtige GRE-sekvenser som den heri anvendte er lav.

5.2.2 Undersøkelse av ulike tidsoppløsninger

For å undersøke effekten av ulike tidsoppløsninger ble det foretatt nedskalering av de eksisterende DCE-seriene og gjort simuleringer.

5.2.2.1 Temporal nedskalering av eksisterende serier

Nedskaleringen ble gjort på en slik måte at forventede effekter ved lavere tidsoppløsning ble inkludert til en viss grad. Dette gjelder først og fremst midlingen av etterfølgende bilder for å bedre SNR. En svakhet ved metoden er at resultatene fra de nedskalerte seriene sammenliknes med de fra den opprinnelige serien, som naturligvis har feil som følge av dens eget støynivå, og ikke uten videre kan forventes å representere det avbildede vevets sanne verdier. Den mest verdifulle informasjonen fra de nedskalerte seriene vil derfor være tendenser til over- eller underestimering av parametre ved lavere tidsoppløsning snarere enn spredningen i estimatene.

5.2.2.2 Simulering

Simuleringer i sin allminnelighet utformes for å oppnå en kontroll over eksperimentet som ikke er mulig ved praktisk gjennomføring. Dette fører til at simuleringen gir en ideell, men forenklet beskrivelse av virkeligheten. Simuleringen i denne oppgaven emulerer vevsrespons etter tilførsel av kontrastmiddel representert ved en idealisert AIF. Støy legges så til for å tilføre usikkerhet i målingene. En svakhet i simuleringen er at etterfølgende punkter midles slik som for de kliniske seriene, hvilket med de høyoppløselige referansekurvene fører til at det midles svært mange punkter ved lave tidsoppløsninger. Dette gir en spredning i verdier som antageligvis er urealistisk lav.

5.3 Konklusjoner

Av de resultater som er frembrakt i denne oppgaven kan det trekkes noen veiledende konklusjoner:

1. T_2^* -effekter i estimerte AIFer i DCE-MRI fører til overestimering av K^{trans} , v_p og k_{ep} .
2. En lavere tidsoppløsning enn 3,4 s kan anvendes i DCE-MRI uten tap av nøyaktighet i de estimerte kinetiske parametrene; tidsoppløsning på 7 s foreslås.

Del III

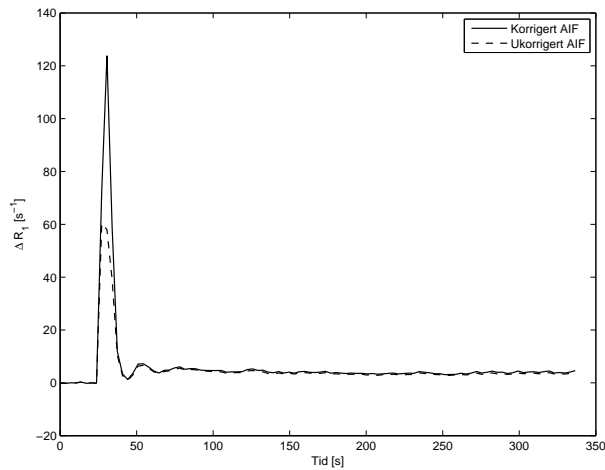
Tillegg

Tillegg A

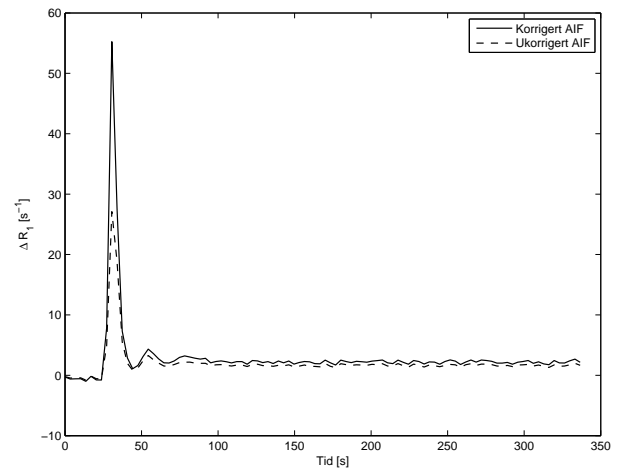
Figurer

A.1 AIF-sammenlikninger

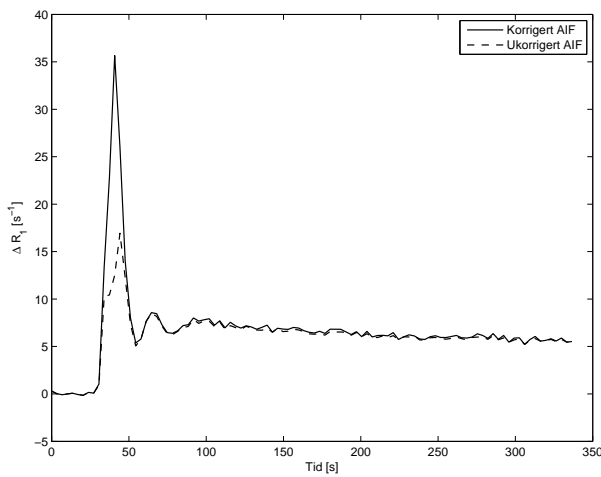
Det vises her de AIFer med og uten T_2^* -korreksjon som ble benyttet i analysen beskrevet i seksjon 3.5. Stripete kurve viser den ukorrigerede AIF, mens den korrigerede er tegnet med heltrukne linjer.



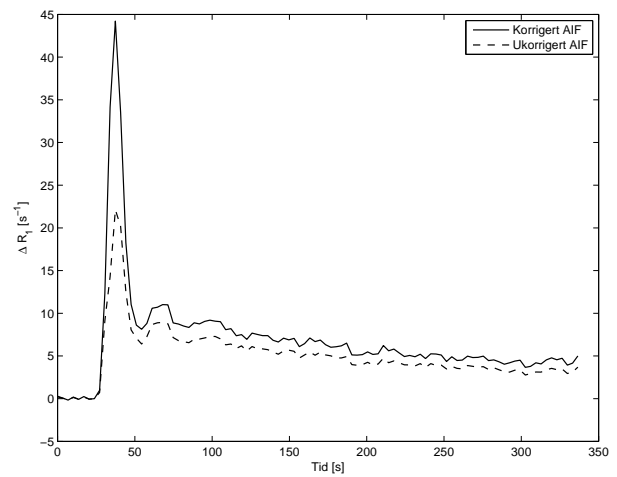
(a) Undersøkelse 1



(b) Undersøkelse 2

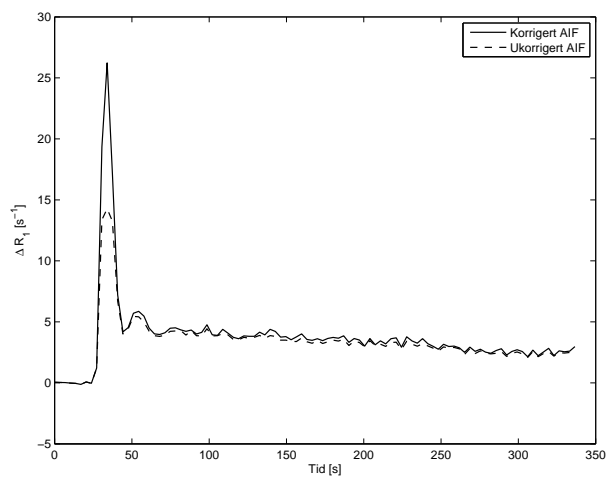


(c) Undersøkelse 4

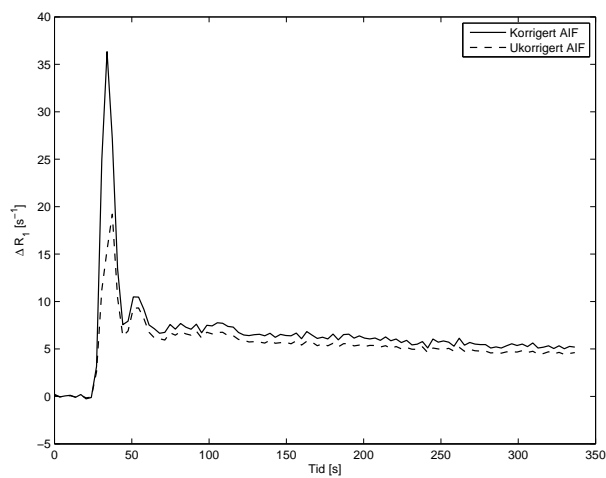


(d) Undersøkelse 6

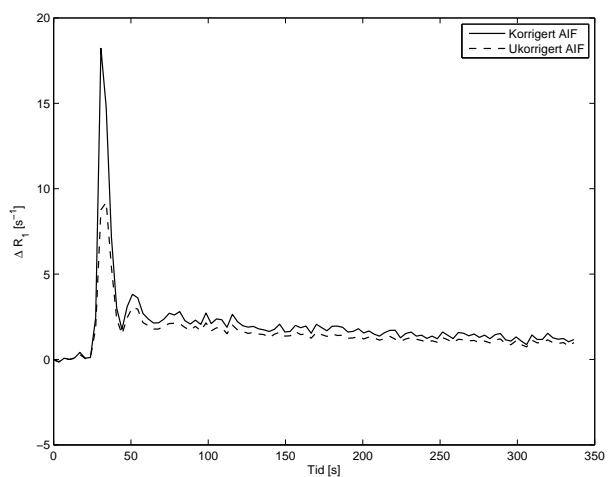
Figur A.1: Pasient 1



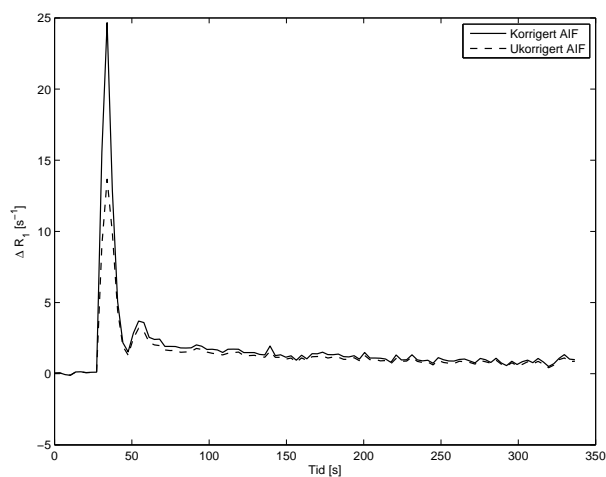
(a) Undersøkelse 1



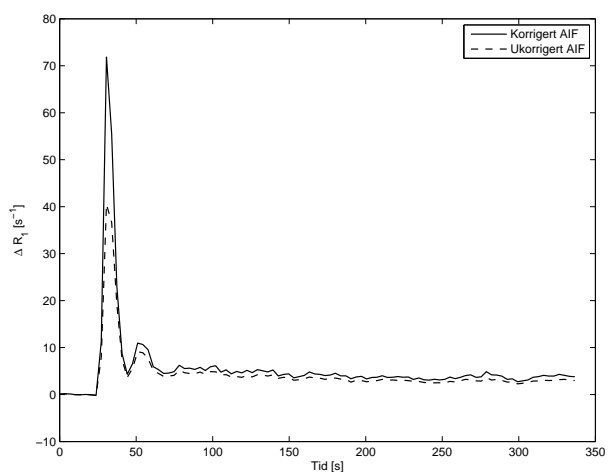
(b) Undersøkelse 2



(c) Undersøkelse 3

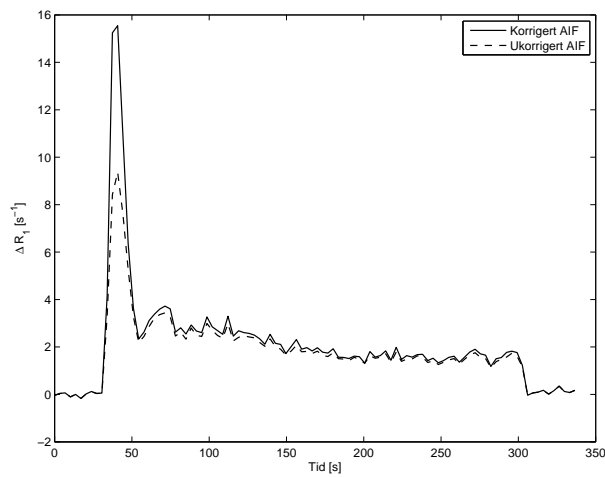


(d) Undersøkelse 5

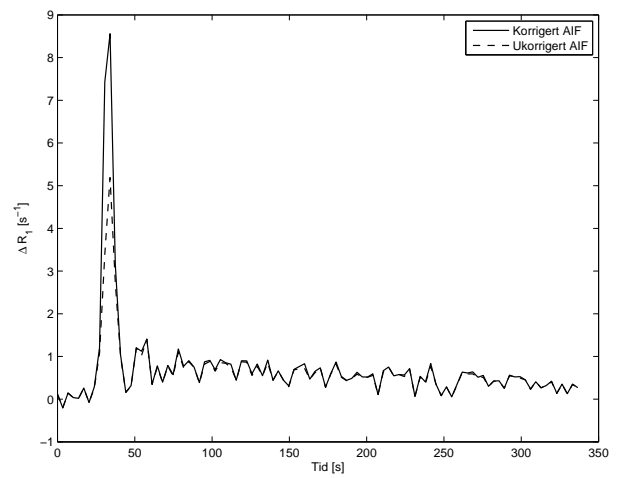


(e) Undersøkelse 6

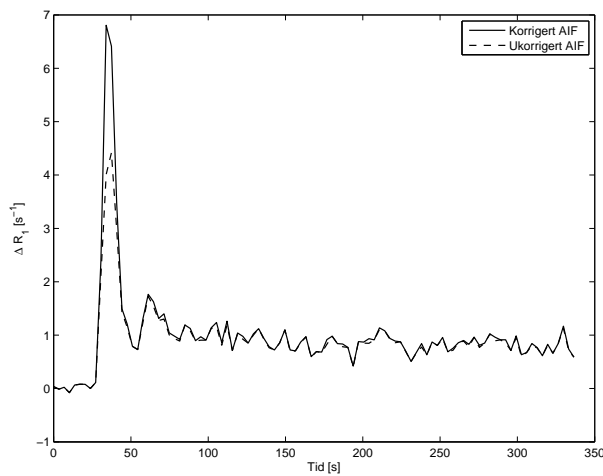
Figur A.2: Pasient 2



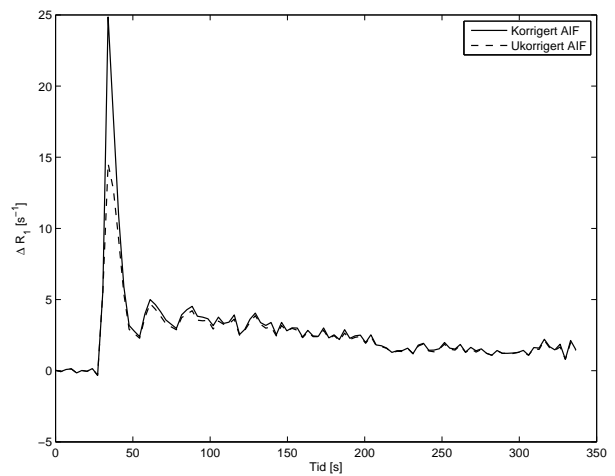
(a) Undersøkelse 1



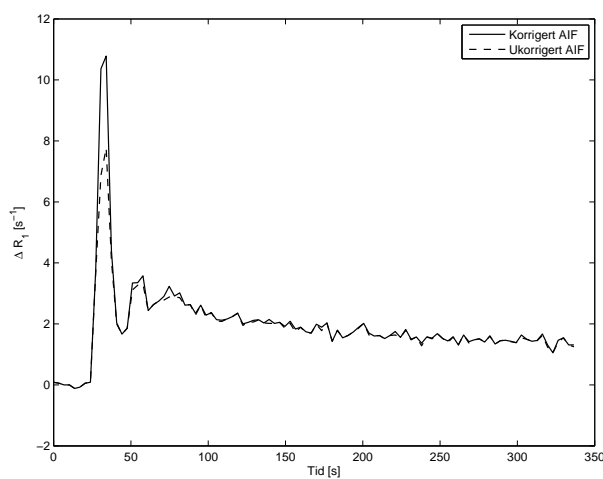
(b) Undersøkelse 2



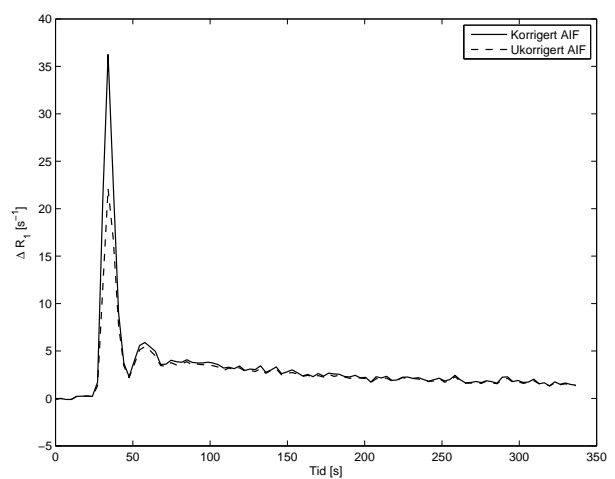
(c) Undersøkelse 3



(d) Undersøkelse 4

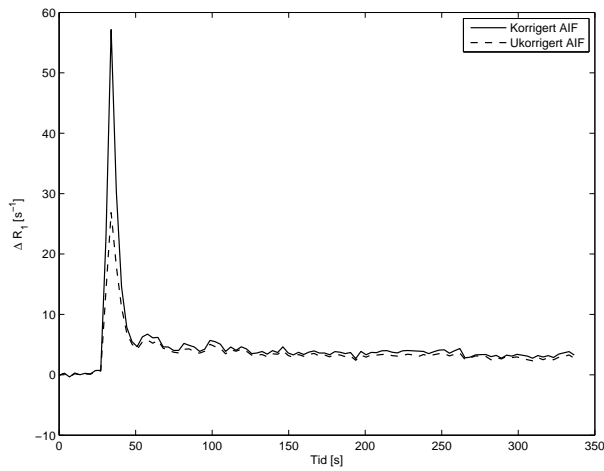


(e) Undersøkelse 5

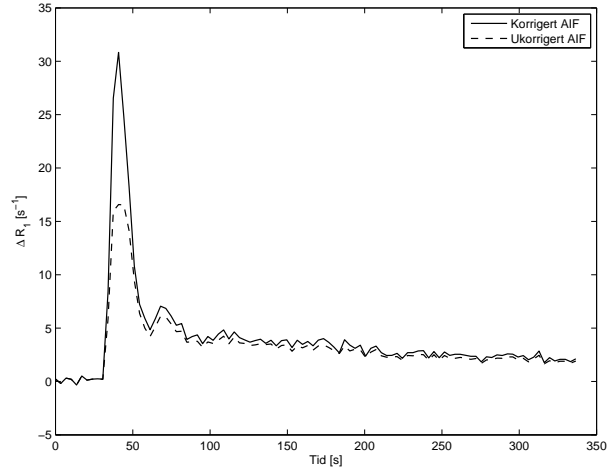


(f) Undersøkelse 2

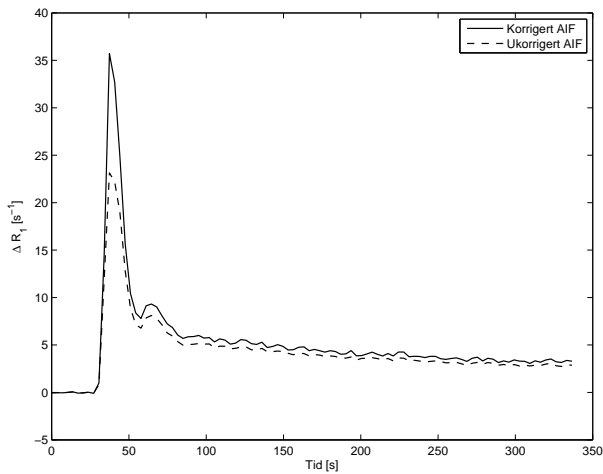
Figur A.3: Pasient 3 (a-e) og pasient 4 (f)



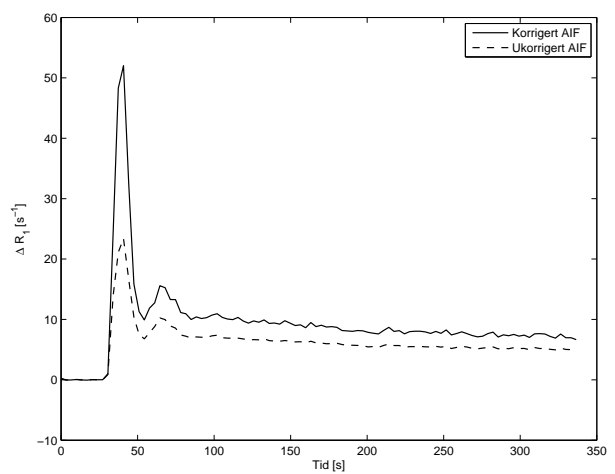
(a) Undersøkelse 1



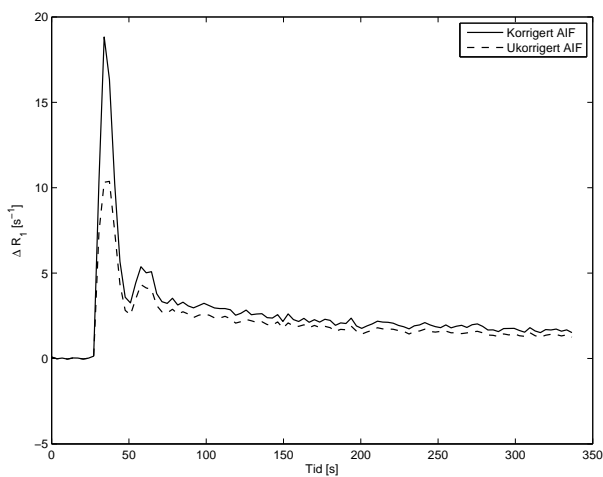
(b) Undersøkelse 2



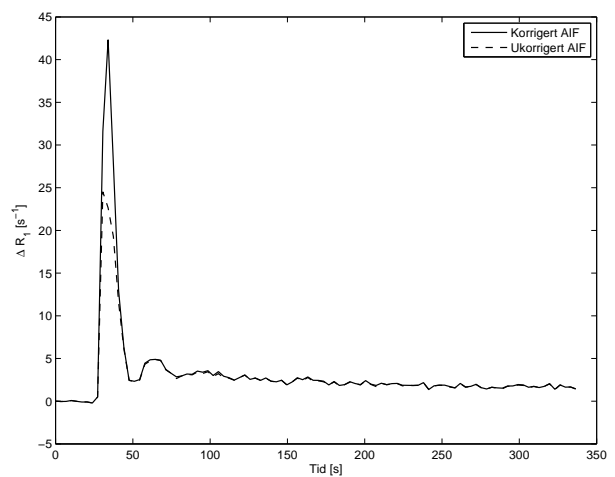
(c) Undersøkelse 3



(d) Undersøkelse 4

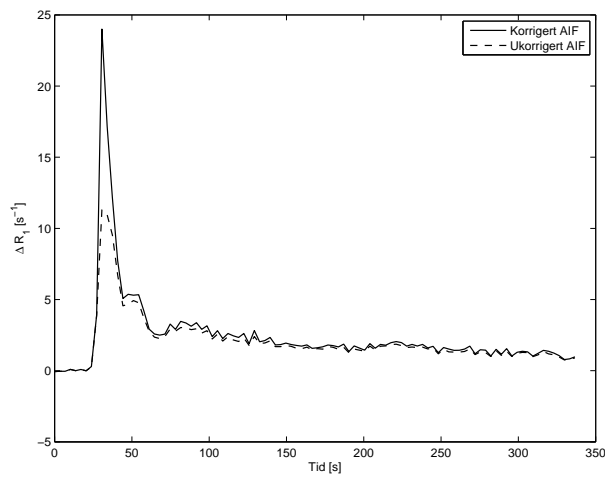


(e) Undersøkelse 5

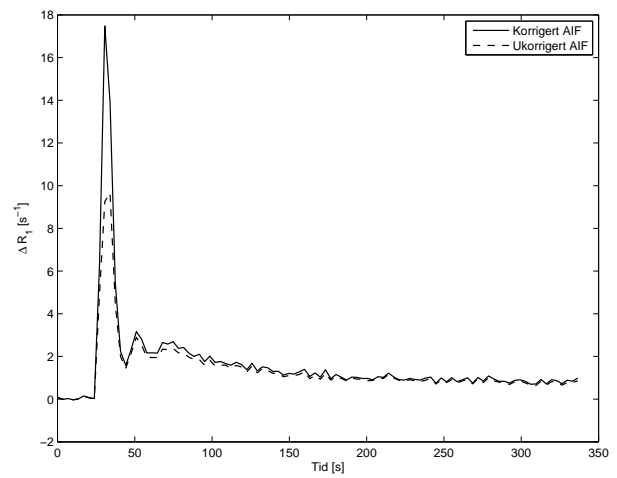


(f) Undersøkelse 6

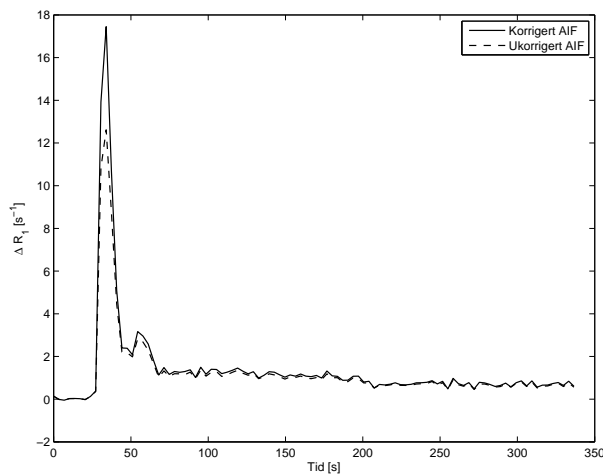
Figur A.4: Pasient 6



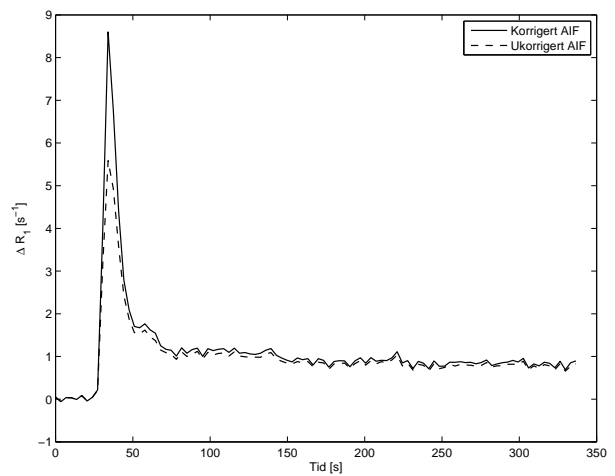
(a) Undersøkelse 1



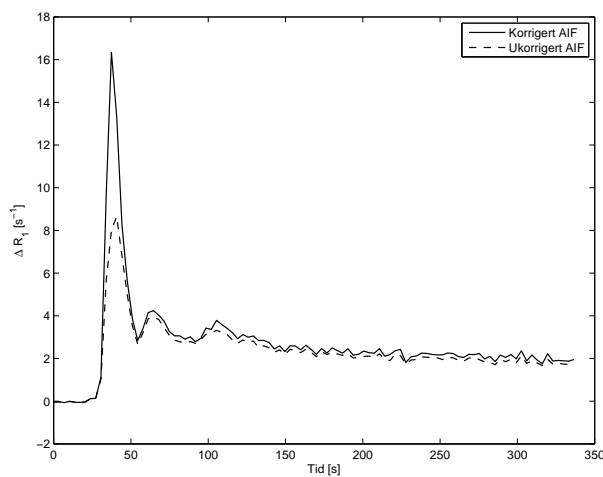
(b) Undersøkelse 2



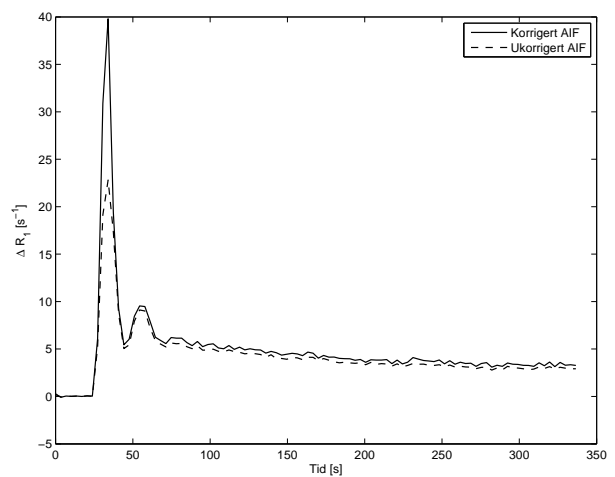
(c) Undersøkelse 4



(d) Undersøkelse 5



(e) Undersøkelse 6



(f) Undersøkelse 1

Figur A.5: Pasient 7 (a-e) og pasient 8 (f)

Tillegg B

Matlab-kode

B.1 Utregning av parametre fra DICOM-serier

Denne koden utfører DCE-analyse på DCE-serier i DICOM-format og produserer parameterkart som beskrevet i seksjon 3.4 på side 24.

```
0001 % DCE_T1utregning
0002 % Beregne T1-forløp fra DCE-serie.
0003 SailorDir = 'D:\Images\SAILOR\Sortert\';
0004 T2sDir = 'C:\Users\SAILOR\Documents\SAILOR-analyse\T2stjerneeffekt\';
0005 AnaDir = ...
0006     'C:\Users\SAILOR\Documents\SAILOR-analyse\Kinetiske parametre T2\';
0007
0008 Subjects = dir([SailorDir 'SAILOR#*']);
0009 for i = 1:length(Subjects)
0010     sNavn = Subjects(i).name;
0011     s = [SailorDir sNavn];
0012     % Hente ut pasientnummeret:
0013     sLength = length(s);
0014     nS = str2num(s(sLength-1:sLength));
0015     u = dir([s '\Study#*']); % undersøkelsesmappene
0016     for j=1:length(u)
0017         % Hente ut undersøkelsesnummeret:
0018         uLength = length(u(j).name);
0019         nU = str2num(u(j).name(uLength-1:uLength));
0020
```

```

0021     if SerienErUgyldig(nS, nU)
0022         disp([num2str(nS) '-' num2str(nU) ...
0023             ' er merket ugyldig, går videre...']);
0024         continue;
0025     end
0026     if nS < 10
0027         nSstr = ['0' num2str(nS)];
0028     else
0029         nSstr = num2str(nS);
0030     end
0031     T2sUdir = [T2sDir 'Subject#' nSstr '\undersøkelse ' ...
0032             int2str(nU) '\']; % path til T2s-und. mappe.
0033     AIFmedPath = [T2sDir 'Subject#' nSstr '\undersøkelse ' ...
0034                 int2str(nU) '\AIFmedT2.txt'];
0035     AIFutenPath = [T2sDir 'Subject#' nSstr '\undersøkelse ' ...
0036                  int2str(nU) '\AIFutenT2.txt'];
0037
0038     if ~exist(AIFmedPath, 'file') || ~exist(AIFutenPath, 'file')
0039         disp(['AIF-filer finnes ikke for ' sNavn '\ ' u(j).name]);
0040         continue; % finnes ikke AIF (og R2), så kan en ikke fortsette
0041     end
0042
0043     %Sjekk om T1-kart finnes og hopp videre hvis ikke:
0044     T1kartPath = [T2sUdir 'Bilder\T1kart.nii'];
0045     if ~exist(T1kartPath, 'file')
0046         disp(['T1-kart finnes ikke for ' sNavn '\ ' u(j).name]);
0047         continue;
0048     else %last inn T1-kartet
0049         T1kartNii = load_untouch_nii(T1kartPath);
0050         T1kart = T1kartNii.img;
0051         for snitt = 1:11 %Roter
0052             T1kart(:,:,snitt) = rot90(T1kart(:,:,snitt),3);
0053         end
0054     end
0055
0056     %Sjekke om DCE-data finnes:
0057     dce_mappe = dir([s '\ ' u(j).name '\*DCE*']);
0058     if min(size(dce_mappe)) == 0
0059         %det finnes ikke mappe med DCE i navnet
0060         %Forsøker å finne mappe med 1100 eller 2200 filer
0061         SekvensMapper = dir([s '\ ' u(j).name]);
0062         k=1; MappeFunnet = false;

```

```
0063         while ~MappeFunnet && k <= length(SekvensMapper)
0064             nElementer = length(dir([s '\ ' u(j).name '\ ' ...
0065                 SekvensMapper(k).name '\*.dcm']));
0066             if nElementer == 1100 || nElementer == 2200
0067                 dce_mappe = dir([s '\ ' u(j).name '\ ' ...
0068                     SekvensMapper(k).name '*']);
0069                 MappeFunnet = true;
0070             end
0071             k = k+1;
0072         end
0073     end
0074     if isfield(dce_mappe, 'isdir') && dce_mappe.isdir == 0
0075         disp(['Finner ikke DCE-mappe i ' s '\ ' u(j).name ...
0076             ', hopper over.']);
0077         continue; %hopper ut dersom det ikke er noen DCE-mappe
0078     end
0079     dce_mappe_path = [s '\ ' u(j).name '\ ' dce_mappe.name];
0080     % Lese inn alle DCE-data og finne format (dobbel/singel):
0081     DCEfiler0 = dir([dce_mappe_path '\*.dcm']);
0082     nFiler = length(DCEfiler0);
0083     DobbelEkko = false;
0084     if nFiler == 2200
0085         DobbelEkko = true;
0086     elseif nFiler == 1100
0087         DobbelEkko = false;
0088     else
0089         %Veit ikke hvordan dette skal håndteres enda
0090         disp(['Ugyldig mengde DCE-filer i ' s '\ ' u(j).name '.']);
0091         continue;
0092     end
0093
0094     % Må sortere i tilfelle filene ikke har ledende nuller:
0095     [NavneVektor, NavneIndeks] = sort_nat({DCEfiler0.name});
0096
0097     % kan nå regne ut T1-forløp
0098     % DCEserie skal fylles med alle DCE-bildene, en celle per snitt,
0099     % R1Serie skal inneholde de under utregnede R1-verdier for alle
0100     % tider.
0101     DCEserie = zeros(128,128,11,100);
0102     R1serie = zeros(128,128,11,100);
0103     if DobbelEkko % dobbelekk, 2200 filer
0104         DCEfiler = NavneVektor(1:2:2200);
```

```
0105     else
0106         DCEfiler = NavneVektor(1:1100);
0107     end
0108
0109     % Lese inn filene:
0110     for snitt = 1:11
0111         for k = (snitt-1)*100+1:snitt*100
0112             DCEserie(:, :, snitt, k - ((snitt-1)*100)) = ...
0113                 dicomread([dce_mappe_path '\ ' DCEfiler{k}]);
0114         end
0115     end
0116     info = dicominfo([dce_mappe_path '\ ' DCEfiler{1,1}]); % header
0117     % fra første fil. Skalering:
0118     if isfield(info, 'RescaleIntercept')
0119         intercept = info.RescaleIntercept;
0120     else % i tilfelle dette feltet ikke finnes
0121         intercept = 0.0;
0122         disp(['Finner ikke info.RescaleIntercept for pasient ' ...
0123             num2str(i) ', undersøkelse ' num2str(j) '.']);
0124     end
0125     if isfield(info, 'RescaleSlope')
0126         slope = info.RescaleSlope;
0127     else % hvis ikke finnes
0128         disp(['Finner ikke info.RescaleSlope for pasient ' ...
0129             num2str(i) ', undersøkelse ' num2str(j) '.']);
0130         slope = 1.0;
0131     end
0132     DCEserie = (DCEserie + intercept) .* slope;
0133     TD = -1*info.Private_2001_101b; % i ms. MERK: negativ
0134     nT = length(DCEserie(1,1,1,:)); % antall tidssteg
0135
0136     % Regne ut R1-forløp:
0137     for z = 1:11 % snittet
0138         % Lage baselinebilde (DCEbilde1) av pre-bolus-bildene
0139         ForsteBilde = 1;
0140         SisteBilde = 6;
0141         % Hvor mange bilder som er med til pre-bolus-bildet:
0142         nPreBolus = SisteBilde - ForsteBilde + 1;
0143         DCEbilde1 = DCEserie(:, :, z, ForsteBilde);
0144
0145         for bilde = ForsteBilde+1:SisteBilde
0146             DCEbilde1 = DCEbilde1 + DCEserie(:, :, z, bilde);
```

```

0147         end
0148         DCEbilde1 = DCEbilde1 ./ nPreBolus;
0149
0150         for x = 1:128
0151             for y = 1:128
0152                 T1_0 = T1kart(x,y,z);
0153                 if max(DCEserie(x,y,z,:)) < 10 || T1_0 < 10 % filter
0154                     continue;
0155                 end
0156                 DCEpiks1 = DCEbilde1(x,y);
0157                 Q = (1 - exp(TD/T1_0)) / DCEpiks1;
0158                 % TD er allerede negativ, derav fravær av minustegn.
0159                 DCEpiks1 = DCEbilde1(x,y);
0160                 for t = 1:nT
0161                     logLedd = log(1 - Q*DCEserie(x,y,z,t));
0162                     if isnan(logLedd) || ~isreal(logLedd) || ...
0163                         isinf(logLedd) || logLedd > 0
0164                         continue;
0165                     end
0166                     R1serie(x,y,z,t) = 1000.0 .* logLedd ./ TD;
0167                 end %t
0168             end %y
0169         end %x
0170     end %z (snitt)
0171
0172     % Lage R1(0)-kart av T1-kartet:
0173     R1kart = 1000 ./ T1kart;
0174     R1kart(isnan(R1kart)) = 0;
0175     R1kart(~isfinite(R1kart)) = 0;
0176
0177     % sende til utregning med AIFmedT2:
0178
0179     %%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
0180     [K12 k21 Vp AIFmed] = ...
0181         DCEutregning(R1serie, R1kart, AIFmedPath);
0182     %%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
0183
0184     % rotere:
0185     for snitt = 1:11
0186         K12(:, :, snitt) = rot90(K12(:, :, snitt), 3);
0187         k21(:, :, snitt) = rot90(k21(:, :, snitt), 3);
0188         Vp(:, :, snitt) = rot90(Vp(:, :, snitt), 3);

```

```

0189     end
0190
0191     % Sjekke om mappene finnes, om ikke så lag dem:
0192     if ~exist([AnaDir sNavn '\ ' u(j).name], 'dir')
0193         mkdir ([AnaDir sNavn '\ ' u(j).name]);
0194     end
0195     BildeDir = [AnaDir sNavn '\ ' u(j).name];
0196
0197     %Lagre bildene til nii:
0198     K12nii = make_nii(K12, [1.875 1.875 4], [], []);
0199     k21nii = make_nii(k21, [1.875 1.875 4], [], []);
0200     Vpnii = make_nii(Vp, [1.875 1.875 4], [], []);
0201     clear K12 k21 Vp;
0202
0203     save_nii(K12nii, [BildeDir '\K120.nii']);
0204     save_nii(k21nii, [BildeDir '\k210.nii']);
0205     save_nii(Vpnii, [BildeDir '\Vp0.nii']);
0206     clear R1kartNii R1serieNii T1serieNii;
0207     clear DCEserieNii K12nii k21Nii Vpnii;
0208     % Flippe:
0209     flip_lr([BildeDir '\K120.nii'], [BildeDir '\K12_med.nii']);
0210     flip_lr([BildeDir '\k210.nii'], [BildeDir '\k21_med.nii']);
0211     flip_lr([BildeDir '\Vp0.nii'], [BildeDir '\Vp_med.nii']);
0212
0213     %Slette de uflippede:
0214     delete([BildeDir '\*0.nii']);
0215
0216
0217     %sende til utregning uten AIFutenT2:
0218
0219     %%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
0220     [K12 k21 Vp AIFuten] = ...
0221         DCEutregning(R1serie, R1kart, AIFutenPath);
0222     %%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
0223
0224     %rottere:
0225     for snitt = 1:11
0226         K12(:, :, snitt) = rot90(K12(:, :, snitt), 3);
0227         k21(:, :, snitt) = rot90(k21(:, :, snitt), 3);
0228         Vp(:, :, snitt) = rot90(Vp(:, :, snitt), 3);
0229     end
0230     %Lagre bildene til nii:

```



```

0231     K12nii = make_nii(K12, [1.875 1.875 4], [], []);
0232     k21nii = make_nii(k21, [1.875 1.875 4], [], []);
0233     Vpnii = make_nii(Vp, [1.875 1.875 4], [], []);
0234
0235     %Lagre nifti-filene (speilvendte):
0236     save_nii(K12nii, [BildeDir '\K120.nii']);
0237     save_nii(k21nii, [BildeDir '\k210.nii']);
0238     save_nii(Vpnii, [BildeDir '\Vp0.nii']);
0239     clear R1kartNii R1serieNii T1serieNii;
0240     clear DCEserieNii K12nii k21Nii Vpnii;
0241
0242     % Flippe:
0243     flip_lr([BildeDir '\K120.nii'], [BildeDir '\K12_uten.nii']);
0244     flip_lr([BildeDir '\k210.nii'], [BildeDir '\k21_uten.nii']);
0245     flip_lr([BildeDir '\Vp0.nii'], [BildeDir '\Vp_uten.nii']);
0246
0247     %Slette de uflippede:
0248     delete([BildeDir '\*0.nii']);
0249     end %undersøkelse (u)
0250 end %Subject
0251
0252
0253

```

B.1.1 Funksjonen DCEutregning

Koden til funksjonen DCEutregning brukt i programmet ovenfor.

```

0001 % Skal bruke filene lagd av DCE_T1utregning til å beregne KM-konsentrasjon
0002 % og deretter kinetiske parametre.
0003
0004 function [K12 k21 Vp Cp] = DCEutregning(R1serie, R1kart, AIFpath)
0005 K12 = zeros(128,128,11);
0006 k21 = zeros(128,128,11);
0007 Vp = zeros(128,128,11);
0008 r1 = 3.6; % Gadovists relaksivitet fra Pintaske (2006), i [mM^-1 s^-1]
0009 dt = 3.40; % Tidsopløsning

```

```

0010 AIFfil = fopen(AIFpath, 'r');
0011 AIF = textscan(AIFfil, '%f');
0012 fclose(AIFfil);
0013 tidssteg = length(R1serie(1,1,1,:));
0014 Nsnitt = 11;      % antall snitt
0015 Nx = 128;        % antall piksler i x-retning
0016 Ny = 128;        % y-retning
0017 Hct = 0.45;      % Hematokritt
0018 Cp = AIF{1} ./ ((1-Hct) *r1); % [mM]
0019
0020 CpInt = dt .* cumtrapz(Cp);% [mM s] kumulativt integral av
0021 % plasmakonsentrasjon (AIF)
0022 if max(size(R1serie)) == 1 % konstant verdi
0023     Ct = (R1serie - R1kart) ./ r1; % [mM]
0024 else % bruk av R1-kart
0025     Ct = zeros(Nx,Ny,Nsnitt,tidssteg);
0026     for i=1:tidssteg
0027         Ct(:,:,i) = R1serie(:,:,i) - R1kart; % [s^-1]
0028     end
0029     Ct = Ct ./ r1; % [mM]
0030 end
0031 clear i R1serie R1kart;
0032
0033 for z = 1:Nsnitt
0034     for x= 1:Nx
0035         Ct_zx = squeeze(Ct(x,:,z,:));
0036         K12_zx = zeros(128,1);
0037         k21_zx = zeros(128,1);
0038         Vp_zx = zeros(128,1);
0039         for y=1:Ny
0040             Ctis = squeeze(Ct_zx(y,:))'; % [mM]
0041             if max(Ctis) < 0.01 % noiselimit
0042                 continue;
0043             end
0044             CtisInt = dt .* cumtrapz(Ctis); % [mM s]
0045             %Bruker matrisene som i artikkelen
0046             A = [CpInt -CtisInt Cp]; % [mM s] [mM s] [mM]
0047             B = A\Ctis; % [s^-1]; [s^-1]; []
0048             K12verdi = B(1) - B(2)*B(3);
0049             k21verdi = B(2);
0050             Vpverdi = B(3);
0051             if K12verdi > 0

```

```
0052         K12_zx(y) = K12verdi;           %[s^-1]
0053     end
0054     if k21verdi > 0
0055         k21_zx(y) = k21verdi;           %[s^-1]
0056     end
0057     if Vpverdi > 0
0058         Vp_zx(y) = Vpverdi;             %[fraksjon]
0059     end
0060 end %y
0061 K12(x,:,z) = 60 .* K12_zx;             %[min^-1]
0062 k21(x,:,z) = 60 .* k21_zx;             %[min^-1]
0063 Vp(x,:,z) = 100 .* Vp_zx;             %[prosent]
0064 clear K12_zx k21_zx Vp_zx;
0065     end %x
0066 end %z
0067
0068 end
```

B.2 Simulering av ulike tidsoppløsninger

Programmet brukt til simuleringene beskrevet i seksjon 3.6.2 på side 31.

```

0001 % Simulerer kontrastforløp for tilfeldige kombinasjoner av kinetiske
0002 % parametre i valgte intervaller.
0003
0004 nMC = 10000;           % antall monte carlo-kjøringer
0005 Ktrans_range = [0 2] ./ 60;   % i /s
0006 Ve_range = [0.1 0.35];      % fraksjon
0007 Vp_range = [0.03 0.12];    % fraksjon
0008 Ns = 1;                 % Antall kjøring med tillagt støy
0009 SNR = 5;               % signal-til-støyforhold
0010 T = [1, 3.4:3.4:34, 68];   % tidsoppløsninger
0011 Nt = length(T);
0012 param_est = zeros(Ns*nMC, 4, Nt); % ktrans, kep, ve, vp
0013 param_true = zeros(nMC, 4);
0014 if matlabpool('size') == 0
0015     disp('Magne anbefaler å kjøre i parallell.')
0016 end
0017
0018 parfor MC=1:nMC
0019     % Kinetiske parametre:
0020     Ktrans = rand * (max(Ktrans_range) -min(Ktrans_range)) ...
0021         + min(Ktrans_range);
0022     Ve = rand * (max(Ve_range) -min(Ve_range)) + min(Ve_range);
0023     Vp = rand * (max(Vp_range) -min(Vp_range)) + min(Vp_range);
0024     param_true(MC,:) = [Ktrans Ktrans/Ve Ve Vp];
0025
0026     % generere høyoppløselige referansekurver med tidsoppløsning = delT:
0027     Tmax = 5*60;           % opptakstid 5 min
0028     delT = 0.1;           % tidsoppløsning til ref. kurver, [s]
0029     Nref = round(Tmax/delT); % ant. punkter i ref. kurver
0030     t = 0:delT:(Nref-1)*delT; % tidsvektor
0031     % AIF fra gammavariatfunksjon med hale (stabil tilstandsledd):
0032     a = 1.5;
0033     Cmax = 10;            % max KM-konsentrasjon [mM]
0034     Css = 1;             % konsentrasjon ved stabil tilstand
0035     Tel = 60*40;        % KMs halveringstid i plasma (ELimination)
0036     % tilpasser kurvekonstant b til å gi Cmax:
0037     b = (1/a)*(Cmax*exp(a))^(1/a);

```

```

0038     T0 = 0;                                % Konstrastmildelets ankomsttid
0039     T0ss = 5*(T0+1);                       % Når ss-leddet begynner å virke
0040     beta = delT*10;
0041     Ca_ref = zeros(1, Nref);
0042     for i = 1:Nref,
0043         T1 = t(i)-T0;
0044         T2 = t(i)-T0ss;
0045         if(T1 <= 0)                          % Før KM ankommer
0046             Ca_ref(i) = 0;
0047         else if(T2 <= 0)                     % Etter KM, før ss
0048             Ca_ref(i) = (T1^a).*exp(-T1/b);
0049         else                                  % Etter ss
0050             Ca_ref(i) = (T1^a).*exp(-T1/b) + ...
0051                 Css*(1-exp(-T2/beta))*exp(-T2/Tel);
0052         end
0053     end
0054     end
0055     % generere Ct ved konvolusjon av AIF og Ktrans*e^-(t*k_ep):
0056     K = Ktrans*exp(-t*Ktrans/Ve);
0057     C = conv(Ca_ref,K);
0058     Ct_ref = C(1:Nref)*delT;
0059     Ct_ref = Ct_ref+Vp*Ca_ref; % legger til plasmaledet
0060     Ktrans_s = zeros(Nt,Ns); % variable for beregnede kin. param.
0061     Vp_s = zeros(Nt,Ns);
0062     Ve_s = zeros(Nt,Ns);
0063     est = zeros(Nt,4);
0064     for tt = 1:Nt,                            % går gjennom nedsamplingsfaktorene
0065         delT = T(tt); %#ok<PFBNS>
0066         N = round(Tmax/delT);
0067         Ct = zeros(1,N);Ca = zeros(1,N);
0068         delN = round(Nref/N);
0069         k=1;
0070         ff = ones(1,Nref) * Ct_ref(round(Nref/2)) / SNR;
0071         S = normrnd(0,ff); % støy
0072         Ct_ref_s = Ct_ref+S;
0073         S = normrnd(0,ff); % ny støy
0074         Ca_ref_s = Ca_ref+S;
0075
0076         % nedsampler referansekurvene,
0077         % Første punkt gis verdi fra ref.kurve uten støy:
0078         Ca(1) = Ca_ref(1); Ct(1) = Ct_ref(1);
0079         idx = 1;

```

```

0080     for p = 2:N,
0081         Ca(p) = mean(Ca_ref_s(1+(p-2)*delN:(p-1)*delN));
0082         Ct(p) = mean(Ct_ref_s(1+(p-2)*delN:(p-1)*delN));
0083     end
0084
0085     CC = zeros(N,3);           % matrise C i Murase(2004)
0086     for i = 1:N,
0087         CC(i,1) = trapz(Ca(1:i))*delT;
0088         CC(i,2) = -trapz(Ct(1:i))*delT;
0089         CC(i,3) = Ca(i);
0090     end
0091     % SVD dekonvolusjon
0092     [U,S,V] = svd(CC);
0093     L = diag(S);
0094     b = zeros(3,1);
0095     for j = 1:3,
0096         UU = 1/L(j)*(U(:,j)'*Ct');
0097         b = b+UU*V(:,j);
0098     end
0099     % estimerte parametre:
0100     Vp_est = b(3);
0101     k2 = b(2);
0102     Ktrans_est = (b(1)-(k2*Vp_est));
0103     Ve_est = Ktrans_est/k2;
0104     % Filtrere ufysiologiske verdier:
0105     if(abs(Ve_est)>5)
0106         Ve_est = NaN;
0107     end
0108     if(abs(Vp_est)>5)
0109         Vp_est = NaN;
0110     end
0111     k_ep_est = Ktrans_est / Ve_est;
0112     est(tt,:) = [Ktrans_est k_ep_est Ve_est Vp_est];
0113     Ktrans_s(tt,k) = Ktrans_est;
0114     Ve_s(tt,k) = Ve_est;
0115     Vp_s(tt,k) = Vp_est;
0116     end                                     % for tt
0117     param_est(MC, :, :) = est';
0118 end                                         % parfor

```

Referanseliste

- [1] Vlaardingerbroek M.T. og den Boer J.A. *Magnetic resonance imaging: theory and practice*. Nr 3rd ed. Springer, Berlin, 2003. ISBN 3-540-43681-2.
- [2] Bjørnerud A. *The Physics of Magnetic Resonance Imaging*. Universitetet i Oslo, 2008.
- [3] Bloch F. Nuclear induction. *Physical Review*, 70(7-8):460–474, Oct 1946.
- [4] Pintaske J., Martirosian P., Graf H., Erb G., Lodemann K.P., Claussen C.D. og Schick F. Relaxivity of gadopentetate dimeglumine (Magnevist), gadobutrol (Gadovist), and gadobenate dimeglumine (MultiHance) in human blood plasma at 0.2, 1.5, and 3 Tesla (vol 41, pg 213, 2006). *Investigative Radiology*, 41:859–859, 2006.
- [5] Delorme S. og Knopp M.V. Non-invasive vascular imaging: assessing tumour vascularity. *European Radiology*, 8(4):517, 1998.
- [6] Gribbestad I.S., Gjesdal K.I., Nilsen G., Lundgren S., Hjelstuen M.H.B. og Jackson A. *An Introduction to Dynamic Contrast-Enhanced MRI in Oncology*. Dynamic Contrast-Enhanced Magnetic Resonance Imaging in Oncology. 2005.
- [7] Taylor J.S., Tofts P.S., Port R., Evelhoch J.L., Knopp M., Reddick W.E., Runge V.M. og Mayr N. MR imaging of tumor microcirculation: Promise for the new millenium. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 10(6):903, 1999.
- [8] Yuh W.T.C., Mayr N.A., Jarjoura D., Wu D., Grecula J.C., Lo S.S., Edwards S.M., Magnotta V.A., Sammet S., Zhang H., Montebello J.F., Fowler J., Knopp M.V. og Wang J.Z. Predicting control of primary tumor and survival by DCE MRI during early therapy in cervical cancer. *Investigative Radiology*, 44(6):343–50, 2009.
- [9] Van Meir E.G., Hadjipanayis C.G., Norden A.D., Shu H.K., Wen P.Y. og Olson J.J. Exciting new advances in neuro-oncology: the avenue to a cure for malignant glioma. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 60(3):166–93.
- [10] Helseth E., Meling T., Lundar T., Scheie D., Skullerud K., Lote K., Unsgård G., Kloster R., Langmoen I.A. og Wester K. Intrakraniale svulster hos voksne. *Tidsskrift for Den norske legeförening*, 123(4):456–61, 2003.

- [11] Friedman H.S., Prados M.D., Wen P.Y., Mikkelsen T., Schiff D., Abrey L.E., Yung W.K.A., Paleologos N., Nicholas M.K., Jensen R., Vredenburg J., Huang J., Zheng M. og Cloughesy T. Bevacizumab alone and in combination with irinotecan in recurrent glioblastoma. *Journal of Clinical Oncology*, 27(28):4733–40, 2009.
- [12] Kreftregisteret. Cancer in Norway 2008 - cancer incidence, mortality, survival and prevalence in Norway. Oslo: Kreftregisteret, 2009. ISBN 978-82-90343-76-0. ISSN 0332-9631.
- [13] Helseth R., Helseth E., Johannesen T.B., Langberg C.W., Lote K., Rønning P., Scheie D., Vik A. og Meling T.R. Overall survival, prognostic factors, and repeated surgery in a consecutive series of 516 patients with glioblastoma multiforme. *Acta Neurologica Scandinavica*, 122(3):159–67, 2010.
- [14] Laperriere N. Radiotherapy for newly diagnosed malignant glioma in adults: a systematic review. *Radiotherapy and Oncology*, 64(3):259, 2002.
- [15] Tofts P.S., Brix G., Buckley D.L., Evelhoch J.L., Henderson E., Knopp M.V., Larsson H.B.W., Lee T.Y., Mayr N. A., Parker G.J.M., Port R.E., Taylor J. og Weisskoff R.M. Estimating kinetic parameters from dynamic contrast-enhanced T1-weighted MRI of a diffusable tracer: Standardized quantities and symbols. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 10(3):223, 1999.
- [16] Buckley D.L. Uncertainty in the analysis of tracer kinetics using dynamic contrast-enhanced T1-weighted MRI. *Magnetic Resonance in Medicine*, 47(3):601–6, 2002.
- [17] Tofts P.S. Modeling tracer kinetics in dynamic Gd-DTPA MR imaging. *Journal Of Magnetic Resonance Imaging*, 7:91–101, 1997.
- [18] Buckley D.L. og Parker G.J.M. *Dynamic Contrast-Enhanced Magnetic Resonance Imaging in Oncology*, kapittel 5: Measuring Contrast Agent Concentration in T1-Weighted Dynamic Contrast-Enhanced MRI. 2005.
- [19] Look D.C. og Locker D.R. Nuclear spin-lattice relaxation measurements by tone-burst modulation. *Physical Review Letters*, 20(18):987, 1968.
- [20] Look D.C. og Locker D.R. Time saving in measurement of NMR and EPR relaxation times. *Review of Scientific Instruments*, 41(2):250, 1970.
- [21] Kay I. og Henkelman R.M. Practical implementation and optimization of one-shot T1 imaging. *Magnetic Resonance in Medicine*, 22(2):414, 1991.
- [22] Larsson H.B.W., Hansen A.E., Berg H.K., Rostrup E. og Haraldseth. O. Dynamic contrast-enhanced quantitative perfusion measurement of the brain using T1-weighted MRI at 3T. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 27(4):754–62, 2008.

- [23] Larsson H.B.W., Rosenbaum S. og Fritz-Hansen T. Quantification of the effect of water exchange in dynamic contrast MRI perfusion measurements in the brain and heart. *Magnetic Resonance in Medicine*, 46(2):272–81, 2001.
- [24] Hansen A.E., Pedersen H., Rostrup E. og Larsson H.B.W. Partial volume effect (PVE) on the arterial input function (AIF) in T1-weighted perfusion imaging and limitations of the multiplicative rescaling approach. *Magnetic Resonance in Medicine*, 62(4):1055–9, 2009.
- [25] Larsson H.B.W., Courivaud F., Rostrup E. og Hansen A.E. Measurement of brain perfusion, blood volume, and blood-brain barrier permeability, using dynamic contrast-enhanced T(1)-weighted MRI at 3 tesla. *Magnetic Resonance in Medicine*, 62(5):1270–81, 2009.
- [26] Murase K. Efficient method for calculating kinetic parameters using T1-weighted dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging. *Magnetic Resonance in Medicine*, 51(4):858–62, 2004.
- [27] Bjørnerud A., Sørensen A., Mouridsen K. og Emblem K. T1- and T2*- dominant extravasation correction in DSC-MRI: Part I: Theoretical considerations and implications for assessment of tumor hemodynamics properties. 2011.
- [28] Wilcoxon F. Individual comparisons by ranking methods. *Biometrics Bulletin*, 1(6):80, 1945.
- [29] Fisher R.A. Theory of statistical estimation. *Mathematical Proceedings of the Cambridge Philosophical Society*, 22(05):700, 1925.
- [30] de Bazelaire C., Rofsky N.M., Duhamel G., Zhang J., Michaelson M.D., George D. og Alsop D.C. Combined T2* and T1 measurements for improved perfusion and permeability studies in high field using dynamic contrast enhancement. *European Radiology*, 16(9):2083–91, 2006.
- [31] Heilmann M., Walczak C., Vautier J., Dimicoli J.L., Thomas C.D., Lupu M., Mispelter J. og Volk A. Simultaneous dynamic T1 and T2* measurement for AIF assessment combined with DCE MRI in a mouse tumor model. *Magnetic Resonance Materials in Physics, Biology and Medicine*, 20(4):193–203, 2007.
- [32] Lopata R.G.P., Backes W.H., van den Bosch P.P.J. og van Riel N.A.W. On the identifiability of pharmacokinetic parameters in dynamic contrast-enhanced imaging. *Magnetic Resonance in Medicine*, 58(2):425–9, 2007.
- [33] Henderson E., Rutt B. og Lee T. Temporal sampling requirements for the tracer kinetics modeling of breast disease. *Magnetic Resonance Imaging*, 16(9):1057, 1998.

- [34] Singh A., Rathore R.K.S., Haris M., Verma S.K., Husain N. og Gupta R.K. Improved bolus arrival time and arterial input function estimation for tracer kinetic analysis in DCE-MRI. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 29(1):166–76, 2009.