

Huokoisen piin nanopartikkelit ja mikrokuplat
MR-HIFU-hoidon tehostamisessa

Pro Gradu
Turun yliopisto
Fysiikan ja tähtitieteen laitos
Fysiikka
2022
LuK Sami Mattila
Tarkastajat:
Prof. Jarno Salonen
FT Teija Sainio

Turun yliopiston laatujärjestelmän mukaisesti tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu Turnitin OriginalityCheck-järjestelmällä

TURUN YLIOPISTO

Fysiikan ja tähtitieteen laitos

Mattila, Sami Huokoisen piin nanopartikkelit ja mikrokuplat MR-HIFU-hoidon tehostamisessa

Pro Gradu, 49 s.

Fysiikka

Toukokuu 2022

Magneettikuvausohjattu korkeaintensiteettinen fokusoitu ultraääni (MR-HIFU) on noninvasiivinen hoitomenetelmä, jossa tavoitteena on tuhota kohdekudos ultraäänin avulla. MR-HIFU-hoidossa ultraääni fokusoidaan kehon ulkopuolelta magneettikuvantamisen ohjaamana kohteeseen, jossa ultraäänin energia absorboituu voimakkaasti kudokseen fokuksessa tapahtuvan konstruktiivisen interferenssin aiheuttaman korkean intensiteetin takia. Ultraäänin akustisen energian absorboituminen nostaa kohdekudoksen lämpötilan yli 57 celsiusasteeseen, mikä aiheuttaa kudoksen nekrotisoitumisen muutamissa sekunneissa. Ultraäänin fokusoimisen ansiosta kohteen ulkopuolisten kudosten lämpötilat pysyvät matalina. MR-HIFUlla hoidetaan hyvän- ja pahanlaatuisia kasvaimia ja sen noninvasiivisuus tekee siitä houkuttelevan vaihtoehdon hoitomenetelmiä valittaessa. MR-HIFU-hoidon ongelmana on, että joissakin tapauksissa kohdekudokseen ei saada riittävästä lämpöannosta, jolloin kohde ei nekrotisoidu. Tämä voi johtua kudoksen voimakkaasta perfuusiosta tai lämmön johtumisesta.

Tässä tutkimuksessa selvittiin millainen vaikutus huokoisen piin nanopartikkeleilla ja mikrokuplilla on MR-HIFU-hoidon ultraäänin akustisen energian absorboitumiseen ja millainen on konsentraatioiden vaikutus. Huokoisen piin nanopartikkelit ja mikrokuplat pitävät sisällään kaasuja, joiden odotetaan kasvattavan ultraäänin energian absorboitumista sekä lisäävän kudoksessa tapahtuvaa ääniaaltojen ja mikrokooppisten kaasukuplien välistä vuorovaikutusta eli kavitaatiota. Tällöin huokoisen piin nanopartikkeleita tai mikrokuplia voitaisiin käyttää tehosteaineena lisäämällä HIFUn lämpövaikutusta ja siten annettua lämpöannosta. Mittauksissa tutkittiin hydrofobisia termisesti hydrokarbidoituja (THCPSi), hydrofilisiä termisesti karbidoituja (TCPSi) ja hydrofobisia dekeenissä termisesti hydrosilyloituja (DecPSi) huokoisen piin nanopartikkeleita sekä kaupallisia SonoVue-mikrokuplia.

Tutkimuksissa havaittiin THCPSi- ja DecPSi-nanopartikkelien ja mikrokuplien tehostavan ultraäänin energian absorboitumista. Näistä kolmesta DecPSi-nanopartikkelit olivat ylivertaisia. Niiden MR-HIFUn aiheuttaman lämpötilan nousua tehostava vaikutus oli yli 60 % jo pienellä 0,25 mg/ml konsentraatiolla. Tehostus kasvoi konsentraation kasvaessa aina 250 % konsentraation ollessa 4,0 mg/ml. Huokoisen piin nanopartikkeleilla ja mikrokuplilla on tutkimuksen perusteella potentiaalia olla hyödyksi MR-HIFU-hoitojen tehosteaineena.

Asiasanat: MR-HIFU, huokoinen pii, PSi, nanopartikkeli, mikrokupla, tehosteaine

Sisällys

Johdanto	1
1 Ultraääni	4
1.1 Ultraäänen tuottaminen	4
1.2 Ultraääni lääketieteessä	5
2 HIFU-hoito	7
2.1 HIFU	7
2.2 Kudoksessa tapahtuva kavitaatio	9
2.3 Lämpöannos	10
3 Magneettikuvantaminen	11
3.1 Ydinmagneettinen resonanssi	11
3.2 Nettomagnetisaatio	13
3.3 RF-viritys ja relaksaatio	15
3.4 Gradientit	18
3.5 Kuvaussekvenssit	21
3.6 MR-termometria	23
4 Huokoinen pii	25
5 Mikrokuplat	27
6 Materiaalit ja menetelmät	28
6.1 Huokoisen piin nanopartikkelien valmistus	28
6.2 MR-HIFU-laitteisto	33
6.3 HIFU-mittaukset	35
6.4 Ultraäänimittaukset	39

7 Tulokset	41
7.1 HIFU-mittaukset	41
7.2 Ultraäänimittaukset	44
8 Pohdinta	45
Viitteet	48

Johdanto

Korkeaintensiteettinen fokusoitu ultraääni (*high-intensity focused ultrasound*, HIFU) on noninvasiivinen eli kehoon kajoamaton hyvän- ja pahanlaatuisten kasvainten hoitomenetelmä. HIFU-hoidossa hoidettava kohdekudos pyritään tuhoamaan lämmittämällä eli kudoksen lämpöablatoimaan. HIFU-hoidossa kohdekudosta lämmitetään fokusoimalla siihen ultraääniaaltoja. Ultraääniaaltojen saapuessa kohteen sisälle asetettuun fokukseen niiden konstruktiivinen interferenssi saa aikaan paikallisen korkean intensiteetin, mikä ääniaaltojen tapauksessa tarkoittaa suurta paineen vaihtelua. Suuren paineen ja energian ansiosta kohteen lämpötila nousee voimakkaasti jopa 95 celsiusasteeseen, mikä aiheuttaa kudoksen nekrotisoitumisen. Koska lämpeneminen tapahtuu paikallisesti fokuksessa, kohdetta ympäröivät kudokset pysyvät vahingoittumattomina [1, 2, 3]. Ultraääniaaltojen ja kudoksessa olevien mikrokooppisten kaasukuplien välillä on myös vuorovaikutus, kavitaatio. Kavitaatiossa kaasukuplat kasaantuvat isommiksi kupliksi ja värähtelevät ultraäänen taajuudella [4]. Tämä värähtely aiheuttaa kudokseen mekaanisen rasituksen, jolloin molekyylien välinen kitka lämmittää kudosta [5]. MR-HIFU-hoito ei kuitenkaan aina tuota haluttua tulosta. Kohdekudoksen voimakas perfuusio tai lämmön johtuminen voi aiheuttaa HIFUn lämpövaikutuksen heikkenemistä, joilloin riittävää lämpöannosta ei saada annettua, eikä kudoksen nekrotisoidu.

Magneettikuvantamista hyödynnetään HIFU-hoidon suunnitteluvaiheessa ultraäänen fokuksen tarkan asettelun apuna. Tällöin puhutaan magneettikuvausohjatusta korkeaintensiteettisestä fokusoidusta ultraääni hoidosta (*magnetic resonance-guided high-intensity focused ultrasound*, MR-HIFU). Magneettikuvantamisella (*magnetic resonance imaging*, MRI) on muihin kuvantamismodaliteetteihin verrattuna parempi pehmytkudoskontrasti, joten se soveltuu erinomaisesti HIFU-hoitojen tueksi. MRI-laitteiston avulla voidaan myös suorittaa reaaliaikaista kudosten lämpötilan mittaamista, jolloin hoidon aikana saadaan välitöntä palautetta hoidon onnistumisesta ja

turvallisuudesta [6, 7].

Huokoinen pii (*porous silicon*, PSi) on erilaisilla top-down-menetelmillä valmistettava mesohuokoinen materiaali. Top-down-menetelmissä lähdetään liikkeelle suuresta rakenteesta, jota käsitellään ja muokataan, kunnes haluttu rakenne ollaan saavutettu. PSi-materiaalien suuren huokosmäärän ansiosta niiden käyttöä kohdenne-tussa lääkeannostelussa tutkitaan tällä hetkellä kiivaasti. Ennen huokosten täyt-tämistä lääkeainekuormalla ne ovat täynnä kaasua [8]. Mikäli nanopartikkeleiksi jauhetut PSi-materiaalit altistettaisiin HIFUlle, huokosissa olevan kaasun uskotaan vuorovaikuttavan ultraäänen kanssa. Sen lisäksi, että kaasu kasvattaa ultraäänen attenuaatiota ja sitä kautta lämpenemistä, se lisää myös kavitaatiota. Lisääntynyt kavitaatio lämmittäisi ympäröiviä kudoksia, mikä edelleen tehostaisi HIFUn läm-mittävää vaikutusta. Samaan tapaan myös mikrokuplien uskotaan tehostavan HI-FUn vaikutusta tuomalla kaasua kudokseen ja lisäämällä attenuaatiota. Kaasutäyt-teisiä fosfolipidikuorisia mikrokuplia käytetään tyypillisesti ultraäänikuvantamisen varjoaineena, mutta positiivisia tutkimustuloksia HIFU-hoidon tehostimena on jo saatu [9, 10, 11].

Tässä tutkimuksessa selvitettiin voiko erilaisia PSi-nanopartikkeleita ja mikro-kuplia hyödyntää HIFU-hoidon tehostimena. Mikäli PSi-nanopartikkelit tai mikro-kuplat lisäävät ultraäänen akustisen energian absorboitumista kudokseen ultraääni impulssin eli sonikaation aikana, ne lisääisivät HIFUn lämpövaikutusta ja siten auttai-si saavuttamaan riittävän lämpöannoksen kohteen tuhoamiseksi. Mittauksia varten valmistettiin kolmea eri PSi-nanopartikkeliä: termisesti hydrokarbidoitua (THCP-Si), termisesti karbidoitua (TCPSi) ja dekeenissä termisesti hydrosilyloitua (DecP-Si). THCP-Si- ja TCPSi-nanopartikkeleilla on sama noin 60 % huokoisuus, mutta THCP-Si on hydrofobinen ja TCPSi on hydrofiilinen. DecPSi-nanopartikkeleilla on suurempi huokoisuus (~80 %) ja ne ovat hydrofobisia. Käytetyt mikrokuplat oli-vat rikkiheksafluoridimikrokuplia (SonoVue, Bracco Imaging S.p.A, Milano, Italia).

Mittaukset suoritettiin kliinisellä MR-HIFU-laitteistolla. Sillä sonikoitiin fantomia, johon tutkittavat näytteet oli injektoitu. Sonikaation aikana fantomin lämpötilan kehitystä seurattiin MRI-laitteiston avulla ja havaitusta maksimilämpötilasta saatiin laskettua kunkin näytteen tehostus.

1 Ultraääni

Ääni on mekaaninen paineaalto, joka värähtelee pitkittäissuuntaisesti. Äänen kulkiessa väliaineessa aineen molekyylit värähtelevät lepoaseman ympärillä, jolloin muodostuu korkea- ja matalapaineen alueita. Molekyylien värähtely siirtyy eteenpäin seuraaville molekyyileille niiden välisten vuorovaikutusten ja sidosten ansiosta. Ääntä kutsutaan ultraääneksi, kun sen taajuus ylittää ihmisen kuuloalueen (20 000 Hz) [4].

1.1 Ultraäänen tuottaminen

Ultraäänen tuottamiseen on olemassa monia eri menetelmiä, joissa hyödynnetään eri fysikaalisia ilmiöitä. Menetelmiä ovat muun muassa pietsosähköiset ultraäänilähettimet, laser ultraääni ja elektromagneettiset ultraäänilähettimet [12]. Sekä laseriin että elektromagneettiseen ultraääneen perustuvien menetelmien etuna on niiden mahdollisuus tuottaa ultraääntä ilman akustista kontaktia. Kuitenkin niiden muut vaatimukset tutkittavalle materiaalille tekevät niiden käytöstä mahdotonta kliinisessä diagnostiikassa ja terapiassa. Pietsosähköiseen ilmiöön perustuvat ultraäänilähettimet ovat käytetyin menetelmä varsinkin lääketieteessä. Laser ja elektromagneettisiin menetelmiin verrattuna pietsosähköisillä lähettimillä on vahvempi tuotetun ultraäänen signaali ja ne ovat herkempiä vastaanotetulle signaalille [12, 13].

Pietsosähköiseen ilmiöön perustuvissa ultraäänilähettimissä hyödynnetään pietsosähköisiä materiaaleja. Nämä materiaalit kokevat mekaanisen muutoksen, kun ne altistetaan sähköiselle jännitteelle. Tällöin vaihtojännitteen kytkeminen pietsosähköiseen materiaaliin saa sen mekaanisesti värähtelemään ja edelleen muuttamaan sähköisen signaalin paineaalloiksi eli ääneksi. Kun pietsosähköiseen materiaaliin syötetään vaihtojännitettä sen resonanssitaajuudella, se tuottaa ultraääntä vastaavalla taajuudella. Ilmiö toimii myös päinvastoin; materiaalin altistuessa mekaaniselle rasitukselle, kuten äänelle, siihen syntyy sähköinen jännite. Pietsosähköistä ultraääni-

lähetintä voidaan myös siis käyttää ultraäänen havaitsemiseen [4, 13].

1.2 Ultraääni lääketieteessä

Lääketieteessä ultraääntä on sovellettu diagnostisessa kuvantamisessa jo pitkään aina 1940-luvulta lähtien [14]. Ultraäänikuvantaminen on edelleen hyvin yleisesti käytetty kuvantamismenetelmä, koska sen laitteisto on helposti liikuteltavissa, se ei aiheuta potilaalle säteilyannosta ja se on edullinen verrattuna muihin kuvantamismenetelmiin. Ultraäänellä voidaan myös toteuttaa reaaliaikaista kuvantamista, joka antaa välitöntä visuaalista ohjausta [15].

Ultraäänikuvantaminen perustuu kehoon lähetetyn ultraäänen takaisin heijastuneen osan havaitsemiseen. Ultraäänen heijastumista tapahtuu materiaalien rajapinnoilla. Akustinen impedanssi, Z , on suure, joka kuvaa väliaineen kykyä vastustaa siinä kulkevaa ääniaalloa. Mikäli rajapinnan materiaaleilla on eroavat akustiset impedanssit, osa ultraäänestä heijastuu. Eri kudoksien akustiset impedanssit voidaan laskea yhtälöllä

$$Z = \rho c, \quad (1)$$

jossa ρ on kudoksen tiheys ja c äänen nopeus kudoksessa. Akustisen impedanssin yksikkö on $\frac{\text{kg}}{\text{s}\cdot\text{m}^2}$ [16]. Koska eri kudostyypeillä on toisistaan poikkeavia akustisen impedanssin arvoja, osa kehoon lähetetystä lyhyestä ultraäänipulssista heijastuu kudosten rajapinnoista takaisin kohti lähetintä. Takaisin lähettimelle saapuvat ultraääniaallot havaitaan ja signaali prosessoidaan. Lähetetyn ultraäänipulssin ja heijastuneen ultraäänen havaitsemisen välinen aika antaa tietoa siitä, kuinka syvällä kehossa kyseinen rajapinta on [15]. Kudosten rajapinnoilla heijastuneen ultraäänen osuus on laskettavissa yhtälöllä

$$R = \left(\frac{Z_2 - Z_1}{Z_2 + Z_1} \right)^2 \quad (2)$$

ja rajapinnan läpi kulkeneen ultraäänen osuus yhtälöllä

$$T = 1 - R = \frac{4Z_2Z_1}{(Z_2 + Z_1)^2}, \quad (3)$$

joissa Z_1 ja Z_2 ovat rajapinnan eri puolilla olevien kudosten akustiset impedanssit. Taulukossa 1 on esitetty kehossa esiintyvien materiaalien ja kudosten äänen nopeuksia ja tiheyksiä sekä niistä lasketut akustisen impedanssin arvot. Lisäksi taulukkoon on laskettu kaavalla (2) heijastuneen ultraäänen osuus, kun rajapinnan toisena materiaalina on rasva [17].

Taulukko 1. Kehon materiaalien ja kudosten äänen nopeudet, tiheydet ja niistä lasketut akustiset impedanssit. Lisäksi kaavalla (2) lasketut heijastuneen ultraäänen osuudet, kun rajapinnan toisena materiaalina on rasva [17].

Materiaali	c [$\frac{m}{s}$]	ρ [$\frac{kg}{m^3}$]	Z [$\frac{kg}{s \cdot m^2}$]	R [%]
Pehmytkudos	1540	1060	1632400	0,6
Vesi	1480	1000	1480000	0,1
Lihäs	1580	1080	1706400	1,1
Rasva	1459	952	1388968	0,0
Luu	4080	1912	7800960	48,7
Ilma	330	1,2	396	99,9

Diagnostisen kuvantamisen lisäksi ultraääntä käytetään myös terapiassa. Terapeuttisesta ultraäänestä puhutaan, kun ultraäänen avulla hoidetaan sairautta, vahingoittunutta elintä tai ruumiin rakenteita. Ultraäänellä on terapeuttisia käyttökohteita muun muassa kemo- ja fysioterapiassa, kohdennetuissa lääkekuljetuksissa, kirurgisissa instrumenteissa sekä korkeaintensiteettisessä fokusoidussa ultraäänihoidossa [18]. Siinä missä diagnostisessa ultraäänikuvantamisessa ultraäänen taajuus on tyypillisesti 1–20 MHz, terapeuttisen ultraäänen taajuus on 20 kHz:stä 3 MHz:iin. Diagnostisen ultraäänen korkea taajuus ja siten lyhyt aallonpituus mahdollistaa pienempien yksityiskohtien havaitsemisen. Korkea taajuus kuitenkin heikentää ultra-

äänen kykyä tunkeutua syvälle kehoon, koska ultraääni attenuoituu sitä nopeammin mitä suurempi taajuus sillä on. Näin ollen diagnostiikassa taajuus on valittava sopivaksi kuvattavaa kohdetta varten. Terapeuttisessa ultraäänessä käytetään matalia taajuuksia, koska ultraäänen ei haluta attenuoituvan liian aikaisin ja lyhyt aallonpituus ei aina ole tarpeellinen. [4, 15, 18].

Terapeuttinen ultraääni voidaan jakaa korkean ja matalan energian sovellutuksiin. Korkean energian sovellutuksissa, kuten HIFU-hoidoissa, tavoitteena on tuhota kohdekudos, kun taas matalan energian sovellutuksissa tarkoituksena voi olla saada aikaan biovaikutuksia solurakenteissa ja esimerkiksi nopeuttaa lääkeaineiden siirtymistä soluihin [18, 19].

2 HIFU-hoito

2.1 HIFU

High-intensity focused ultrasound (HIFU) eli korkeaintensiteettinen fokusoitu ultraääni on noninvasiivinen hoitomenetelmä, jonka tavoitteena on tuhota kohdekudos nostamalla sen lämpötilaa voimakkaasti ja aiheuttaa kudoksen nekrotisoitumista. Lämpötilan nostaminen toteutetaan fokusoimalla ultraääntä pienelle alueelle, jossa ultraääniaaltojen konstruktiivinen interferenssi saa aikaan paikallisen korkean intensiteetin alueen. Fokuksessa korkea intensiteetti saa ultraäänen energian absorboitumaan voimakkaasti kudokseen eli muuttumaan lämpöenergiaksi. Energian absorboituminen tapahtuu paineen vaihtelun ja mekaanisen rasituksen takia. Korkea intensiteetti fokuksessa tarkoittaa ääniaaltojen akustisen paineen olevan myös hyvin suuri. Ultraääniaallon puristusvaiheessa akustinen energia varastoituu molekyylien potentiaalienergiaksi. Puristuksen purkautuessa vain osa energiasta palautuu akustiseksi energiaksi ja loppu muuttuu muiksi energian muidoksi. Näitä ovat muun muassa molekyylien sisäenergia, molekyylijärjestelmien energia ja kineettinen ener-

gia esimerkiksi nesteiden virtaus. Mainituista energian muodoista energian päätyy lopulta lämpöenergiaksi eri mekanismien kautta. Koska ääniaallot ovat mekaanista aaltoliikettä, se aiheuttaa väliaineeseen mekaanista rasitusta. Molekyylien välinen kitka muuttaa ultraäänen akustista energiaa lämpöenergiaksi, jolloin väliaineen (kudoksen) lämpötila kasvaa. Ultraäänen akustisen energian absorboitumisen johdosta kudoksen lämpötila fokuksessa saadaan nousemaan yli 57 celsiusasteeseen, mikä aiheuttaa koagulaationekroosia (hyytymiskuolio) ja välitöntä solukuolemaa muutamissa sekunneissa samalla, kun kohteen ympäröivien kudosten lämpötilat pysyvät matalina. Riippuen hoidettavan kohteen koosta, HIFU-hoidon aikana voidaan joutua suorittamaan jopa 50 yksittäistä sonikaatiota, jolloin hoidon kokonaiskesto on useita tunteja. On myös tapauksia, joissa kudokseen ei saada riittävää lämpövaikutusta voimakkaan perfuusion tai lämmön johtumisen takia [1, 2, 3, 16].

HIFU-hoidoissa käytetään suurta ultraäänen taajuutta, koska tällöin ultraäänen aallonpituus on lyhyt. Lyhyt aallonpituus mahdollistaa fokuksen riittävän pienen koon, jolloin sillä voidaan lämmittää kudosta paikallisesti. Ultraäänen taajuus ei kuitenkaan voi olla liian suuri, koska tällöin ultraääni attenuoituisi voimakkaasti, eikä sitä voisi kohdistaa syvälle kudokseen. Tuekseen HIFU vaatii kuvantamismenetelmän, jonka avulla ultraäänen fokus saadaan asetettua tarkasti oikeaan paikkaan. Kuvantamisen avulla pystytään myös varmistamaan, ettei ultraäänen kulkureitillä ole mitään, mikä voisi vahingoittaa tahattomasti hoidon aikana. Ultraääni- ja magneettikuvantamien ovat tyypillisesti käytettyjä kuvantamismenetelmiä. Magneettikuvausohjatusta korkeaintensiteettisestä fokusoidusta ultraäänihoidosta eli MR-HIFU-hoidosta (*magnetic resonance-guided high-intensity focused ultrasound*) puhutaan, kun magneettikuvantamista käytetään HIFU-hoitojen tukena. Magneettikuvantamisella on ylivoimainen pehmytkudoskontrasti verrattuna muihin kuvantamismodaliteetteihin. Magneettikuvissa kudosten rakenteiden yksityiskohdat ovat siis paremmin havaittavissa, mikä on oleellinen osa HIFUn fokuksen tarkassa asettelus-

sa ja näin ollen hoidon onnistumisessa. Magneettikuvauksen avulla pystytään myös suorittamaan reaaliaikaista lämpötilan mittaamista [6, 20].

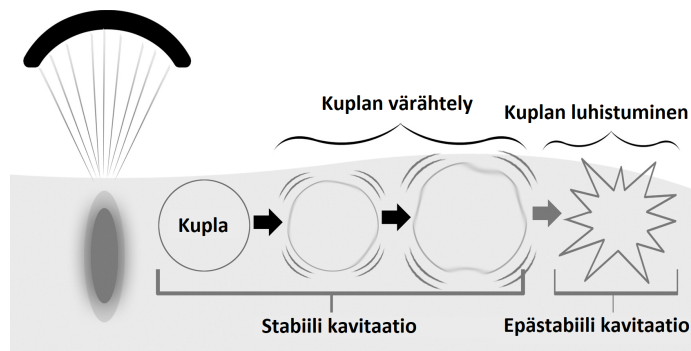
HIFU-hoidossa ultraääni tuotetaan käyttämällä pietsosähköistä ultraäänilähetintä, joka koostuu sadoista yksittäisistä ultraäänielementeistä. Elementit ovat asetettu ympyräkaarevalle pinnalle, jolloin niistä lähtevät ultraääniaallot risteävät kolmiulotteisessa fokuksessa. Fokus on muodoltaan ellipsoidi ja sen dimensiot ovat noin $1,5 \times 1,5 \times 10$ mm [13, 21].

2.2 Kudoksessa tapahtuva kavitaatio

Suuren paineenvaihtelun aiheuttaman akustisen energian absorboitumisen lisäksi kudoksen lämpenemistä voi tapahtua kavitaation ansiosta. Kavitaatio määritetään olevan ääniaaltojen ja mikroskooppisten kaasukuplien välistä vuorovaikutusta. Kudoksessa olevat yksittäiset kaasuatomit kasaantuvat isommiksi kaasukupliksi ultraäänien paineaallon matalapaineisen vaiheen takia. Syntyneet kaasukuplat alkavat värähdellä ultraäänien paineaallon tahtiin supistuen ja laajeten [4]. Kudoksessa tapahtuva kavitaatio jaetaan kahteen päätyyppiin; stabiiliin ja epästabiiliin kavitaatioon (Kuva 1). Stabiilissa kavitaatiossa kaasukuplat värähtelevät tasaisesti ja kasvavat kokoa. Tällöin kaasukuplat aiheuttavat mekaanista kuormitusta ympäröiviin kudoksiin ja siten siirtävät paineaallolta saadun energian kudoksiin ja lämmittävät niitä. Stabiili kavitaatio aiheuttaa myös kuplien ympärillä olevassa nesteessä mikrovirtauksia, jotka voivat aiheuttaa vaurioita ympäröiviin soluihin ja verisuoniin. Jotta kavitaation kudosta lämmittävät vaikutukset olisivat merkittäviä, ultraäänien intensiteetin tulee olla suuri tai kaasukuplia olla riittävästi [4, 5, 22].

Kun ultraääniaallon akustinen paine ylittää tietyn painekynnyksen, stabiili kavitaatio muuttuu epästabiiliksi. Painekynnys on kääntäen verrannollinen yksittäisen sonikaation pituuteen ja verrannollinen käytetyn ultraäänien taajuuteen. Epästabiilissa kavitaatiossa kudoksen kaasukuplien värähtelystä tulee epälineaarista, jolloin

ne laajenevat entisestään ja luhistuvat voimakkaasti. Kaasukuplan luhistuessa kudokseen syntyy lokaalisti monituhatkertainen akustinen paine ja kuplan luhistumiskohdassa lämpötila voi hetkellisesti nousta jopa 5000 °C:seen. Syntynyt korkea paine ja lämpötila vaurioittavat tai tuhoaa kokonaan ympäröiviä kudoksia ja korkea lämpötila mahdollistaa myös happiradikaalien syntymisen [4, 5].



Kuva 1. Kudoksessa tapahtuva stabiili ja epästabiili kavitaatio [22].

2.3 Lämpöannos

Lämpöannos on lämpötilan altistuksen aiheuttamien biologisten vaikutusten mitta. Sen avulla pystytään jo HIFU-hoidon aikana arvioimaan saavutettua hoitotulosta. Tutkimusten perusteella kaikkien kudostyyppien tiedetään nekrotisoituvan, mikäli ne altistetaan 43 celsiusasteelle 240 minuutiksi [23]. Lämpöannos kertoo ekvivalenttiajan, mitä kudoksen kokema lämpötila-altistus vastaa, jos lämpötila olisi ollut 43 celsiusastetta. Lämpöannos saadaan laskettua yhtälöllä

$$t_{43} = \sum_{t=0}^t R^{43-T} \Delta t, \quad (4)$$

jossa t_{43} on lämpöannos ekvivalenttiminuuteissa, T kudoksen keskilämpötila aikavälillä Δt ja R on 0,25 ($T < 43$ °C) tai 0,5 ($T > 43$ °C) [24]. Laskettua kudoksen lämpöannosta voidaan verrata tunnettuun 240 minuutin raja-arvoon ja siten arvioida nekrotisoitunutta tilavuutta. Magneettikuvantamisen mahdollistaman reaaliaikaisen

lämpötilanmittaamisen avulla pystytään myös seuraamaan kudoksen lämpöannoksen kehittymistä reaaliajassa.

Mikäli lämpö siirtyy pois kohdekudoksesta liian nopeasti voimakkaan perfuusion tai lämmön johtumisen takia, ei riittävää lämpöannosta saada aikaiseksi. Harry H. Pennes kehitti vuonna 1948 matemaattisen mallin kuvaamaan tätä lämmön siirtymistä [25]. Sitä kutsutaan Pennesin biolämmön siirtymisyhtälöksi (*Pennes' bioheat transfer equation*) ja se voidaan esittää muodossa

$$\rho_t c_t \frac{\partial T}{\partial t} = -k_t \nabla^2 T + \rho_b \varpi_b c_b (T_b - T) + Q_u + Q_m, \quad (5)$$

jossa t on aika ja ρ_t , c_t ja T kudoksen tiheys, ominaislämpökapasiteetti ja lämpötila. $k_t \nabla^2 T$ kuvaa lämmön johtumista kudoksessa, jossa k on kudoksen lämmönjohtavuus. $\rho_b \varpi_b c_b (T_b - T)$ puolestaan kuvaa perfuusion aiheuttamaa lämmön konvektiota. ρ_b , ϖ_b , c_b ja T_b ovat valtimoveren tiheys, perfuusionopeus, ominaislämpökapasiteetti ja lämpötila. Q_u ja Q_m ovat absorboitunut ultraäänen energia ja kudoksen aineenvaihdunnan tuottama lämpö tilavuutta kohden [16, 25, 26].

3 Magneettikuvantaminen

3.1 Ydinmagneettinen resonanssi

Magneettikuvantamisen (*magnetic resonance imaging*, MRI) kuvanmuodostus perustuu vetyatomien ytimen ydinmagneettiseen resonanssiin (*nuclear magnetic resonance*, NMR) [27]. Kaikilla atomiytimillä, joiden protonien ja/tai neutronien lukumäärä on pariton, on nollasta poikkeava pyörimismäärä eli ydinspin, I . Kuten muutkin atomitaso pyörimismäärät, myös ydinspin on kvantittunut ja se voi saada arvoja $I = (0, \frac{1}{2}, 1, \dots)$. Ulkoisessa magneettikentässä myös ydinspinin suunta on kvantittunut. Sallitut arvot ydinspinille ovat

$$I_z = m\hbar, \quad (6)$$

jossa m on magneettinen kvanttiluku ja \hbar on redusoitu Planckin vakio. Magneettinen kvanttiluku saa arvot $-I, -I + 1, \dots, 0, \dots, I - 1, I$. Yhteensä ydinspinillä on siis $2I+1$ sallittua orientaatiota ulkoisessa magneettikentässä. Magneettikuvantamisessa hyödynnetyn vety-ytimen ydinspin on $\frac{1}{2}$, joten sen magneettinen kvanttiluku saa arvot $-\frac{1}{2}$ ja $\frac{1}{2}$. Näitä spinin tiloja kutsutaan spin ylös ja alas [28].

Kaikilla hiukkasilla, joilla on ydinspin, on myös magneettinen momentti, μ . Magneettinen momentti saadaan laskettua yhtälöllä

$$\mu_z = \gamma I_z, \quad (7)$$

jossa γ on kullekin atomiytimelle ominainen gyromagneettinen suhde. Ilman ulkoista magneettikenttää magneettisen momentin kaikki sallitut orientaatiot ovat energisesti yhtä suuria. Asetettaessa hiukkanen ulkoiseen magneettikenttään, B_0 , se saa ylimääräistä potentiaalienergiaa ja sen energiatila jakaantuu korkean ja matalan energian tiloihin. Tätä energiatilojen jakaantumista kutsutaan Zeemanin ilmiöksi ja se on verrannollinen ulkoisen magneettikentän magneettivuon tiheyteen (Kuva 2). Energiatilan siirtymän suuruus saadaan laskettua yhtälöllä

$$E = -\mu_z B_0, \quad (8)$$

jossa B_0 on ulkoisen magneettikentän magneettivuon tiheys. Yhdistämällä yhtälöt (6-8) saadaan energian kaavaksi

$$E = -\gamma m \hbar B_0. \quad (9)$$

Hiukkanen on matalan energian tilalla, kun sen magneettinen momentti on ulkoisen magneettikentän suuntainen ja korkean energian tilalla, kun magneettinen momentti on ulkoista magneettikenttää vastaan. Perättäisten energiatilojen välinen ero saadaan laskettua

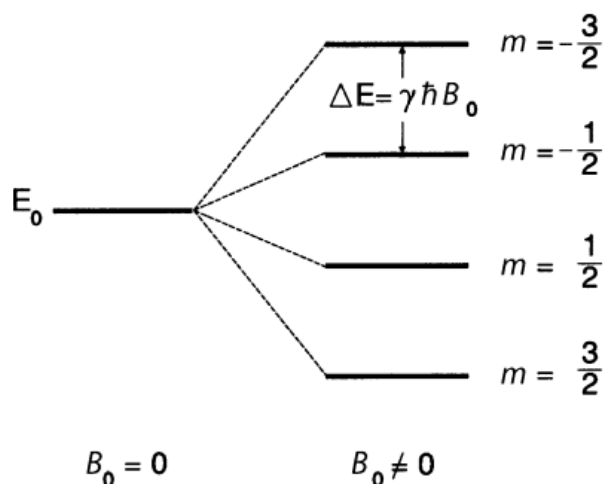
$$\Delta E = E_{-\frac{1}{2}} - E_{\frac{1}{2}} = \gamma \hbar B_0. \quad (10)$$

Jotta hiukkanen voi siirtyä energiatilalta toiselle, sen täytyy vastaanottaa tai luovuttaa energiaa. Tämä energian siirtyminen tapahtuu fotonin absorboitumisena tai

emittoitumisena. Fotonin energian, $E = \hbar\omega$, vastaa energiatilojen välistä energiaa, jolloin sen kulmataajuus on

$$\omega = \omega_0 = \gamma B_0. \quad (11)$$

Tätä kulmataajuutta kutsutaan Larmorin taajuudeksi. Hiukkanen voidaan siis virittää korkeammalle energiatasolle vain käyttämällä Larmorin taajuuden fotoneja ja virittyneen tilan purkautuessa hiukkanen emittoi fotonin Larmorin taajuudella. Tätä fotonien ja hiukkasten välistä ilmiötä kutsutaan ydinmagneettiseksi resonanssiksi [28, 29].



Kuva 2. Ulkoisessa magneettikentässä tapahtuva zeemanin ilmiö, jossa hiukkasten magneettisten momenttien energiatilat jakaantuvat magneettikentän magneetiovuon tiheyden funktiona [28].

3.2 Nettomagnetisaatio

Kun makroskooppinen näyte ei ole ulkoisessa magneettikentässä, sen atomiytimien magneettiset momentit ovat järjestyneet satunnaisesti lämpöliikkeen takia. Tällöin ytimet kumoavat toistensa magneettiset vaikutukset ja näytteen magnetisaatio on nolla. Ulkoisessa magneettikentässä, B_0 , näytteen ytimien magneettiset momentit asettuvat sallituille energiatiloille magneettikentän suuntaisesti tai sitä vas-

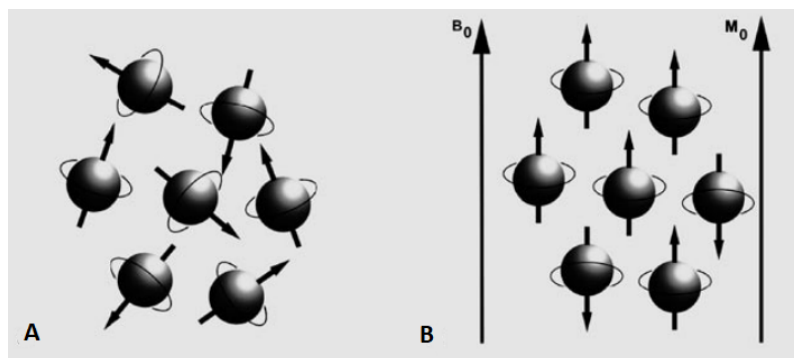
taan. Magneettisten momenttien jakautuminen näille energiatioille seuraa Maxwellin–Boltzmannin statistiikkaa

$$\frac{N_{\downarrow}}{N_{\uparrow}} = e^{-\frac{\Delta E}{k_B T}}, \quad (12)$$

missä N_{\uparrow} on magneettikentän suuntaiset ja N_{\downarrow} magneettikenttää vastaiset magneettiset momentit, ΔE tilojen välinen energiaero, k_B Boltzmannin vakio ja T näytteen lämpötila. Magneetikuvantamisessa hyödynnettyjen vety-ytimien tapauksessa näytteen lämpötilan ollessa 37 °C kahden sallitun tilan miehityslukujen välinen ero on hyvin pieni. Siitä huolimatta vety-ytimien suuren määrän ansiosta miehityslukujen ero aiheuttaa havaittavissa olevan nettomagnetisaation, \mathbf{M}_0 , joka on ulkoisen magneettikentän suuntainen (Kuva 3). Nettomagnetisaation määritetään olevan ydinten magneettisten momenttien vektorisumma tilavuutta, V , kohden ja sen magnitudi on laskettavissa yhtälöllä

$$M_0 = |\mathbf{M}_0| = \frac{1}{V} \sum_{i=1}^N (\mu_z)_i = \frac{N}{V} \cdot \frac{I(I+1)\gamma^2 \hbar^2 B_0}{3k_B T}, \quad (13)$$

missä N on näytteessä olevien atomiytimien määrä. Nettomagnetisaation kasvattamiseksi kuvattaessa elävää näytettä ainoa säädettävissä oleva muuttuja on magneettivuon tiheys. Tyypillisesti magneettikuvaustaitteissa on 1,5 tai 3 teslan magneettivuon tiheys, joka muodostetaan suprajohtavan elektromagneetin avulla [28, 29].



Kuva 3. A) Ilman ulkoista magneettikenttää näytteen magneettiset momentit ovat järjestyneet satunnaisesti. B) Ulkoinen magneettikenttä, B_0 , saa magneettiset momentit asettumaan kentän suuntaisesti tai sitä vastaan ja syntyy nettomagnetisaatio, M_0 . [27]

3.3 RF-viritys ja relaksaatio

Siinä missä ydinten magneettiset momentit voivat saada vain tiettyjä orientaatioita ulkoisessa magneettikentässä, nettomagnetisaatio voi osoittaa mihin tahansa suuntaan. Näytteen nettomagnetisaatiota voidaan poikkeuttaa tasapainotilasta radio-
taajuisen sähkömagneettisen kentän, B_1 , (*radiofrequency field*, RF-field) avulla, kun sen taajuus vastaa Larmorin taajuutta. Jos ulkoinen magneettikenttä, B_0 , osoittaa z-akselin suuntaan, RF-pulssin kenttä, B_1 , on x-akselin suuntainen. RF-pulssi saa tällöin nettomagnetisaation virittymään eli kallistumaan kohti y-akselia (Kuva 5b-c). RF-pulssin amplitudi ja kesto määrittävät, kuinka paljon nettomagnetisaatio kallistuu. Nettomagnetisaation poikkeutuskulma saadaan laskettua

$$\alpha = \gamma B_1 t_p, \quad (14)$$

missä B_1 on RF-pulssin amplitudi ja t_p on pulssin kesto. Magneetikuvantamisessa havaitaan nettomagnetisaation xy-tason komponentin, M_{xy} , tuottama signaali. Poikittaisen magnetisaation maksimoimiseksi tyypillisesti käytetään 90 asteen ja myöhemmin 180 asteen poikkeutuskulmia. Näitä RF-pulsseja kutsutaan 90°- ja 180°-pulsseiksi ($\frac{\pi}{2}$ - ja π -pulssi) [28, 29].

RF-pulssilla viritetty nettomagnetisaatio ei ole pysyvässä tilassa, vaan se alkaa palautua kohti tasapainotilaa ($M_{xy} = 0$, $M_z = M_0$). Tätä magnetisaation palautumista kutsutaan relaksaatioksi ja se tapahtuu kahden eri prosessin kautta. Atomytimet luovuttavat energiaa ympärillä oleville rakenteille (spin-hilarelaksaatio) ja vaihtavat energioita muiden ytimien kanssa (spin-spinrelaksaatio) [27].

Spin-hilarelaksaatiossa (*spin-lattice relaxation*) nettomagnetisaation magneettikentän suuntainen eli pitkittäissuuntainen komponentti, M_z , palautuu kohti tasapainotilaa (Kuva 5g-h). Tätä pitkittäisen magnetisaation relaksaatiota kutsutaan myös T_1 -relaksaatioksi ja sitä kuvataan T_1 -relaksaatioajalla. T_1 -relaksaatioaika määritellään kaavalla

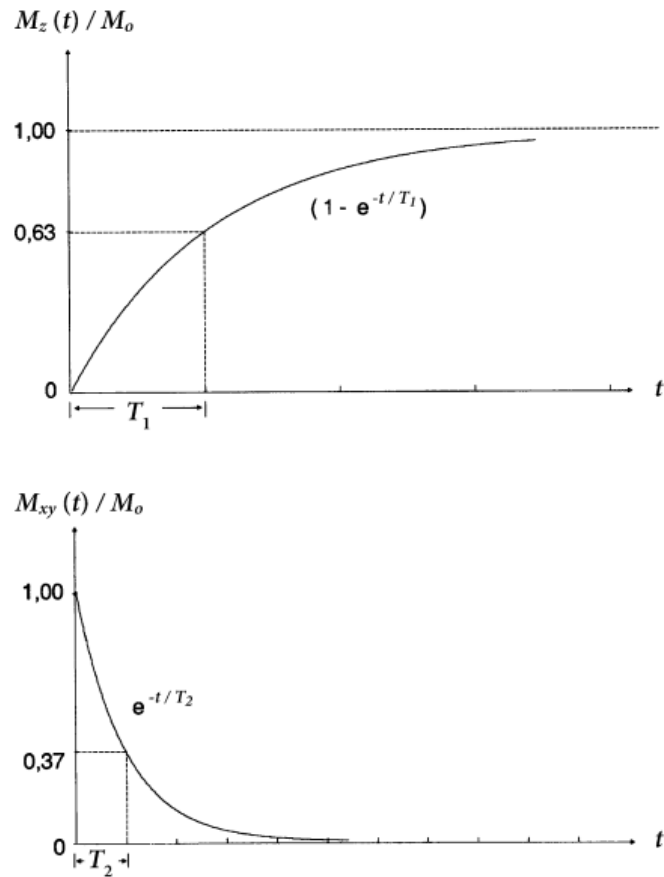
$$M_z(t) = M_0(1 - (1 - \cos \alpha)e^{-t/T_1}), \quad (15)$$

missä $M_z(t)$ on pitkittäinen magnetisaatio ajanhetkellä t , M_0 magnetisaatio tasapainotilassa, α poikkeutuskulma, t RF-pulssista kulunut aika ja T_1 magnetisaation pitkittäisen komponentin relaksaatioaika. Yhtälön (15) perusteella T_1 -relaksaatioaika on aika, mikä kuluu, kun 90 astetta poikkeutetun nettomagnetisaation pitkittäinen komponentti on palautunut noin 63 %:iin tasapainotilan arvosta [28].

Heti RF-virityksen jälkeen atomiytimet prekessoivat samassa vaiheessa. Ytimien väliset vuorovaikutukset sekä ulkoisenmagneettikentän epähomogeenisuudet saavat ytimet epävaiheistumaan (*dephase*), mikä johtaa nettomagnetisaation poikittaisen komponentin, M_{xy} , relaksoitumiseen kohti tasapainotilaa (Kuva 5d-f). Tätä spin-spinrelaksaatiota kutsutaan T_2 -relaksaatioksi ja sitä kuvaa T_2 -relaksaatioaika. T_2 -relaksaatioaika määritellään

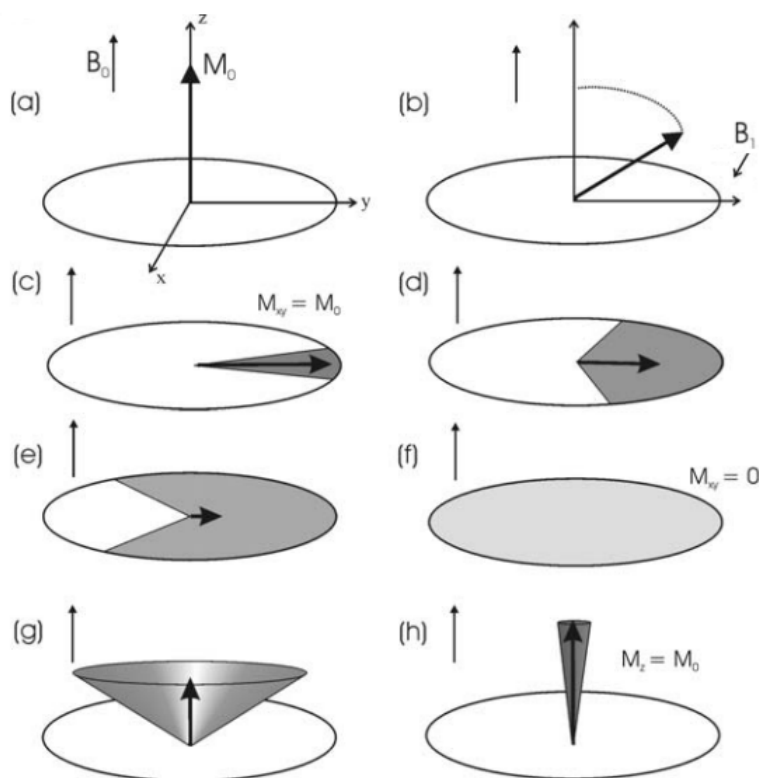
$$M_{xy}(t) = M_{xy,0}e^{-t/T_2}, \quad (16)$$

missä $M_{xy}(t)$ on poikittainen magnetisaatio ajanhetkellä t , $M_{xy,0}$ poikittainen magnetisaatio heti RF-virityksen jälkeen, t RF-pulssista kulunut aika ja T_2 poikittaisen magnetisaation relaksaatioaika. T_2 on aika, jossa poikittainen magnetisaatio laskee 37 %:iin RF-pulssin jälkeen. Kuvassa 4 on esitetty magnetisaation pitkittäis- ja poikittaissuuntainen komponentti ajan funktiona, kun magnetisaatio on viritetty 90°-pulssilla [28].



Kuva 4. Magnetisaation pitkittäis- ja poikittaussuuntainen komponentti ajan funktiona, kun näytteelle on annettu 90° -pulssi. [28]

T_1 - ja T_2 -relaksaatiot tapahtuvat samanaikaisesti ja toisistaan riippumatta. Relaksaatioajat ovat näytekohtaisia; kehon eri kudoksilla on omat relaksaatioajat, mikä mahdollistaa magneettikuvantamisessa kontrastin kudosten välillä. Eri kudosten T_1 -relaksaatioajat vaihtelevat välillä 500-5 000 millisekuntia ja T_2 -relaksaatioajat välillä 50-300 millisekuntia [27, 28].

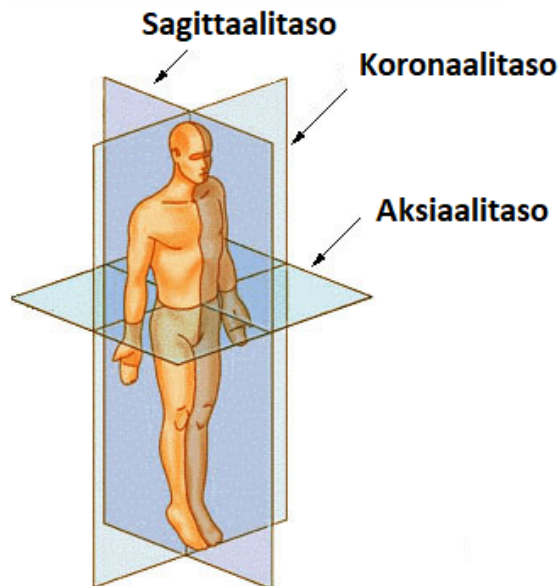


Kuva 5. (a) Ulkoisen magneettikentän, B_0 , aiheuttama näytteeseen syntynyt magneettikentän suuntainen nettomagnetisaatio. (b) Nettomagnetisaatiota kallistetaan kohti xy-tasoa RF-pulssin, B_1 , avulla. (c) RF-pulssin parametrit voidaan valita siten, että nettoagnetisaatio kallistuu 90 astetta xy-tasolle. Tällöin RF-pulssin puhutaan olevan 90° - tai $\frac{\pi}{2}$ -pulssi. (d-f) T_2 -relaksaatio. Näytteen atomiytimien väliset vuorovaikutukset ja ulkoisen magneettikentän epähomogeenisuus aiheuttavat ydinten prekession epävaiheistumisen, jolloin magnetisaation poikittainen komponentti palautuu tasapainotilaan. (g-h) T_1 -relaksaatio. Atomytimet luovuttavat energiaansa ympärillä oleville rakenteille, jolloin magnetisaation pitkittäinen komponentti palautuu kohti tasapainotilaa. [29]

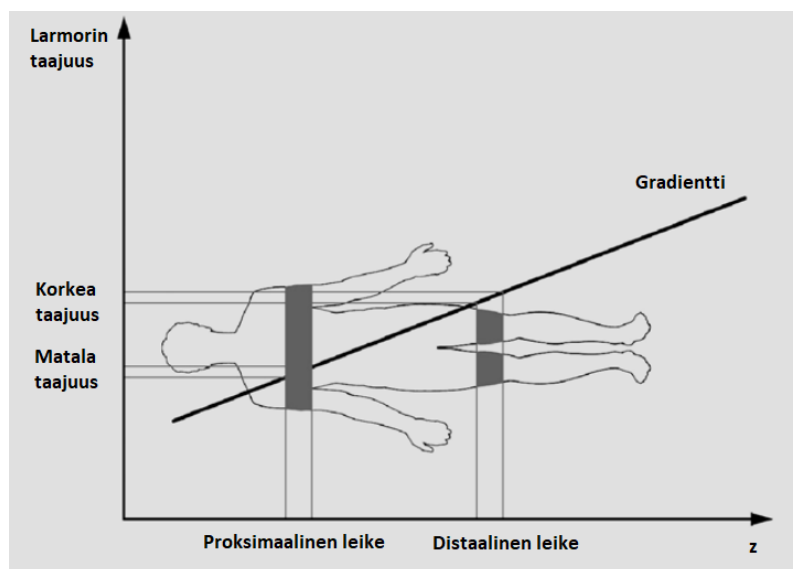
3.4 Gradientit

Magneettikuvantamisesta saatava signaali tulee erotella x-, y- ja z-suunnissa yksittäisiksi vokseleiksi, jotta kuva saataisiin muodostettua. Erottelu tapahtuu manipuloimalla homogeenista ulkoista magneettikenttää kolmen ortogonaalisen gradienttikentän avulla, joista kukin määrittää signaalin sijainnin yhdessä ulottuvuudessa [28].

Ilman gradienttia RF-pulssi virittäisi koko näytteen kerrallaan. Ensimmäisen gradientin suunnan valitseminen määrittää, minkä suuntainen leike magneettikuvauksesta saadaan. Leike on tyypillisesti aksiaalinen, sagittaalinen tai koronaalinen (Kuva 6). Jos leikkeestä halutaan aksiaalinen, magneettikentän suunta, z-suunta, rajataan ensimmäisenä. Magneettikentän suunta rajataan z-suuntaisen lineaarisen gradientin avulla. Gradientin ollessa päällä ulkoinen magneettikenttä siis muuttuu lineaarisesti z-suunnassa, mikä muuttaa myös näytteen Larmorin taajuutta samassa suunnassa. Kun RF-pulssin taajuus säädetään nyt näytteen halutun kohdan uudelle Larmorin taajuudelle, vain tämä leike virittyy (Kuva 7) [28].

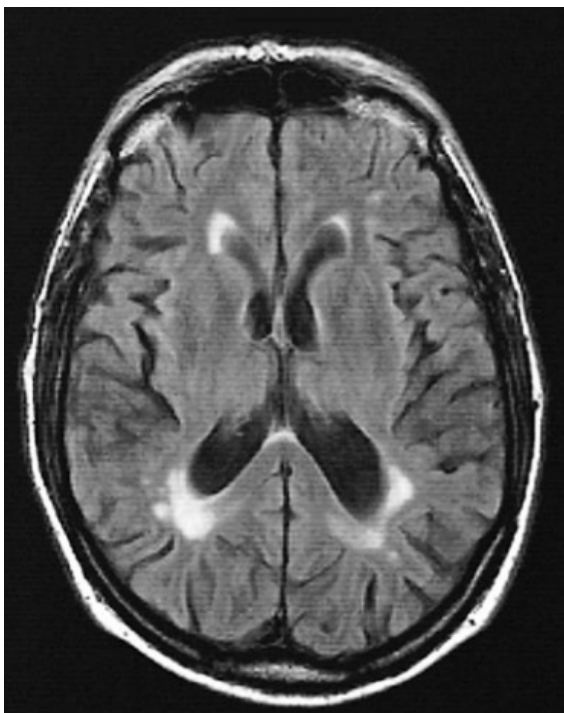


Kuva 6. Anatomiset tasot [30].



Kuva 7. Ulkoisen magneettikentän z-suuntainen gradientti muuttaa näytteen Larmorin taajuutta z-suunnassa. Haluttu leike saadaan viritettyä säätämällä RF-pulssin taajuus leikkeen uudelle Larmorin taajuudelle [27].

x-y-tasolla erottelu tapahtuu taajuus- ja vaihekoodauksen avulla. Taajuuskoodauksessa x-suuntainen gradientti kytetään päälle, kun signaalia havaitaan. Tämä muuttaa näytteen Larmorin taajuutta x-suunnassa, jolloin havaittu signaali pitää sisällään useita taajuuksia yhden taajuuden sijaan. Koska taajuudella ja paikalla x-suunnassa on gradientin ansiosta yhteys, signaalin Fourier-muunnos antaa signaalin intensiteetin paikan funktiona. Vaihekoodauksessa y-suuntainen gradientti kytetään päälle RF-virityksen ja signaalin havaitsemisen välisenä aikana. Näytteen Larmorin taajuutta muutetaan siten hetkellisesti ja y-suunnassa ytimien välille syntyy vaihe-eroa paikan funktiona. Tällöin havaittu signaali pitää sisällään eri vaiheissa olevia taajuuksia. Fourier-muunnos on rajoittunut kuitenkin vain yhden vaiheen havaitsemiseen kerrallaan, joten mittaus tulee toistaa niin monta kertaa eri vaihekoodausgradientilla, kuin kuinka suuri resoluutio y-suunnassa halutaan. Jos ensimmäisen gradientin suunnaksi valittiin z-suunnan sijaan esimerkiksi x-suunta, taajuus- ja vaihekoodaus tehtäisiin tällöin y-z-tasolla [28, 29].



Kuva 8. Aksiaalinen magneettikuva aivoista [28].

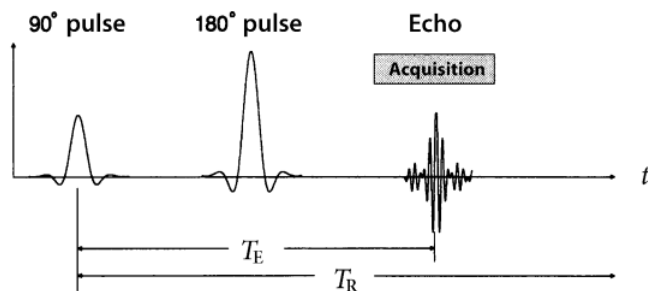
3.5 Kuvassekvenssit

Magneettikuvantamisessa MR-signaali kerätään käyttämällä erilaisia kuvassekvenssejä. Kuvassekvenssit koostuvat edellä mainituista 90 ja 180 asteen RF-pulsseista sekä gradienttikentistä. MR-signaali on riippuvainen monesta eri parametrasta, kuten T_1 - ja T_2 -ajasta sekä protonitiheydestä. Havaittavaa MR-signaalia ja siitä saatavan kuvan kontrastia voidaan säädellä muuttamalla kuvassekvensseissä RF-pulssien ajoitusta. RF-pulssien ajoituksia määrätään toistoajalla (*repetition time*, TR) ja kaikuajalla (*echo time*, TE) [28].

Kaiku aika on aika, joka kuluu nettomagnetisaation poikkeuttamisesta 90 asteen RF-pulssilla MR-signaalin havaitsemiseen. Mitä pidempi kaiku aika on, sitä kauemmin magnetisaation poikittaisella komponentilla on aikaa palautua kohti tasapainotilaa. Kaiku aika määrittää siten tapahtuvan T_2 -relaksaation määrän. Toisto aika puolestaan on aika, joka kuluu kahden perättäisen 90 asteen RF-pulssin välillä. Kun

toisto aika pitenee, magnetisaation pitkittäis-suuntaisella komponentilla on enemmän aikaa palautua tasapainotilaan. Toisto aika määrittää siis tapahtuvan T_1 -relaksaation määrän [28].

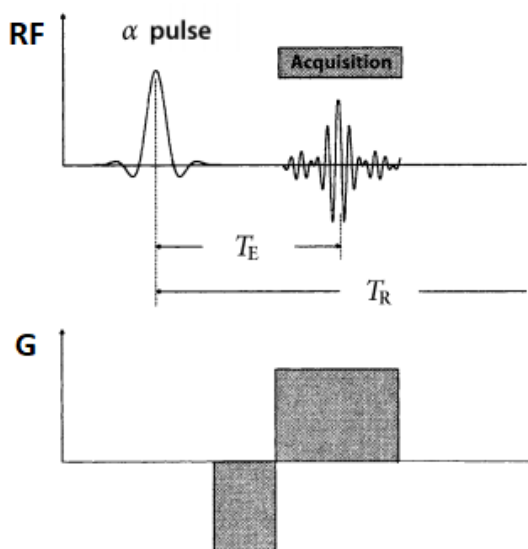
Spinkaikusekvenssi (*spin echo*, SE) on yleisesti käytetty kuvantamissekvenssi. Se alkaa 90° asteen RF-pulssilla, jolloin syntynyt poikittainen magnetisaatio alkaa heikentymään T_2 -relaksaatioajan määrittämällä nopeudella. Seuraavaksi annetaan 180° asteen RF-pulssi, kun määritetystä TE-ajasta on kulunut puolet. Tällöin magnetisaatio kääntyy ympäri ja epävaiheistumista aiheuttaneet nopeat komponentit ovat muita jäljessä ja hitaat komponentit muita edellä. Kun TE-aika tulee täyteen, kaikki komponentit ovat taas samassa vaiheessa hetkellisesti. Tällöin MR-signaali mitataan. Kun sekvenssin aloittaneesta 90° asteen RF-pulssista on kulunut TR-aika, sekvenssi alkaa alusta. Spinkaikusekvenssin kulku on esitetty kuvassa 9 [27, 28].



Kuva 9. Spinkaikusekvenssi. [28]

Toinen hyvin yleisesti käytetty kuvantamissekvenssi on gradienttikaikusekvenssi (*gradient echo*, GRE). Gradienttikaikusekvenssissä annetaan vain yksi RF-pulssi, jolla nettomagnetisaatio poikkeutetaan. Siinä missä spinkaiussa magnetisaatio käännetään 180° -pulssilla, gradienttikaiussa hyödynnetään taajuusgradientteja. Gradienttien avulla poikittainen magnetisaatio ensin epävaiheistetaan, jonka jälkeen gradientti käännetään ja magnetisaation vaihekoherenssi palautuu. Tällöin muodostuu gradienttikaiku ja signaali havaitaan. Gradienttikaikusekvenssissä tyypillisesti käytetään 90° astetta pienempiä poikkeutuskulmia, jolloin magnetisaatio relaksoituu no-

peammin. Tällöin TR-aikaa voidaan lyhentää, mutta havaittu signaali on heikompi.



Kuva 10. Gradienttikaikusekvenssi. [28]

3.6 MR-termometria

MRI-laitteistolla voidaan kuvantamisen lisäksi havaita myös näytteen lämpötilan muutosta ja luoda lämpötilakarttoja. Tätä kutsutaan MR-termometriaksi (*MR Thermometry*) ja sitä hyödynnetään esimerkiksi MR-HIFU-hoidoissa, joissa sen avulla voidaan reaaliajassa seurata lämpötilan kehitystä kohdekudoksessa ja varmistua, että kohteen ulkopuolisten kudosten lämpötilat pysyvät matalina. MR-termometria voi perustua monen eri lämpötilariippuvaisen parametrin havaitsemiseen. Tällaisia parametreja ovat muun muassa diffuusio, T_1 - ja T_2 -relaksaatioajat, protonitiheys tai veden vety-ytimien resonanssitaajuus. Eniten käytetyin menetelmä perustuu veden vety-ytimien resonanssitaajuuden (*Proton Resonance Frequency, PRF*) muutoksen havaitsemiseen. PRF:llä on lineaarinen lämpötilariippuvuus [7, 31].

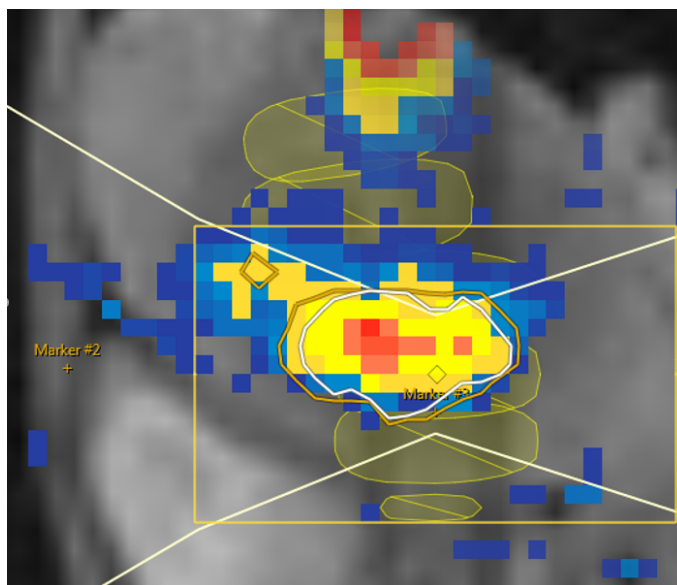
PRF riippuu sen kokemasta magneettikentästä. Tarkan resonanssitaajuuden määrittämiseksi ulkoisen magneettikentän lisäksi protonin paikallinen molekyyliympäristö. Protonia ympäröivä elektronipilvi varjostaa ydintä ulkoiselta magneettikentältä, jol-

loin ydin kokee matalamman paikallisen magneettikentän, B_{loc} . Vesimolekyylien välillä on vetysidoksia, joissa vetyatomit vuorovaikuttavat toisten molekyylien happiatomien kanssa. Vetysidoksissa vetyatomin elektronipilvi siirtyy kohti happiatomia, jolloin vedyn elektronivarjostus heikkenee ja sen kokema paikallinen magneettikenttä kasvaa, mikä johtaa resonanssitaajuuden kasvuun. Lämpötilan noustessa vetysidokset pitenevät ja katkeilevat, jolloin elektronipilvi ja -varjostus palautuvat [7].

Lämpötilan muuttumisen aikaan saama PRF:n muuttuminen näkyy magneettikuvantamisessa saatavan signaalin vaiheen muutoksena. Lämpötilakartta saadaan aikaan mittaamalla vaihekuvat ennen lämmitystä ja sen jälkeen. Signaalin vaiheiden erotuksen avulla saadaan määritettyä lämpötilan muutos kaavalla

$$\Delta T = \frac{\phi(T) - \phi(T_{ref})}{\alpha \gamma B_0 t_{TE}}, \quad (17)$$

missä ϕ on signaalin vaihe lämpötilan funktiona, T_{ref} referenssilämpötila, α kemiallisen siirtymän lämpötilariippuvuuskerroin yksikössä ppm/°C ja t_{TE} käytetty kaiku-aika. MR-HIFU-hoidoissa referenssilämpötilana on potilaan ruumiinlämpötila. Kuvassa 11 on esitetty MR-HIFU-hoidon sonikaation aikana mitattu lämpötilakartta [7, 31].



Kuva 11. MR-HIFU-hoidon sonikaation aikana MR-termometrialla mitattu lämpötilakartta. Kartan sininen väri kuvaa 43 ja punainen 70 celsiusastetta. Kuvassa on myös nähtävissä kudoksen saaman lämpöannoksen korkeuskäyrät. Valkoinen käyrä vastaa 240 ja ruskea 30 ekvivalenttiminuuttia [32].

PRF:n muuttumiseen perustuvassa MR-termometriassa virhettä aiheuttavat kaikki tutkittavan näytteen liikkeet. Tällaisia liikkeitä MR-HIFU-hoidossa ovat muun muassa potilaan liikkeet, hengitys sekä suoliston liikkeet. Myös paikallisessa magneettikentässä tapahtuvat odottamattomat muutokset aiheuttavat virhettä termometriaan. Muutokset voivat johtua laitteiston ulkoisen magneettikentän epähomogeelisuuksista tai näytteessä tapahtuvista magneettisen susceptibiliteetin muutoksista. Kehon rakenteissa oleva ilma, rasvakudoksen lämpeneminen ja liike voivat aiheuttaa susceptibiliteetin muutoksia. Liikkeiden ja magneettikentän muutoksien lisäksi virhettä termometriaan aiheuttaa heikko signaali-kohinasuhde [31, 32].

4 Huokoinen pii

Huokoinen pii (*porous silicon*, PSi) on mesohuokoinen materiaali, eli sen huokokoko on 2-50 nm. PSi-materiaalit ovat fotoluminoivia ja niiden suuri huokoismäärä

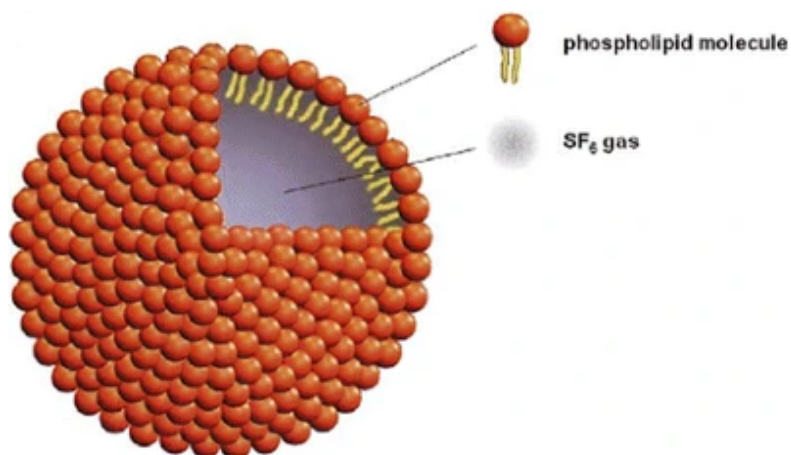
tilavuutta kohden mahdollistaa niiden hyödyntämisen kohdennetuissa lääkeannostelusovelluksissa, kun ne jauhetaan nanopartikkeleiksi. Huokoiset itsessään pitävät sisällään kaasua, mikä mahdollisesti voisi tehostaa MR-HIFU-hoitoja lisäämällä kohdekudoksessa tapahtuvaa kavitaatiota ja edelleen energian absorboitumista. PSi-materiaaleja pystytään valmistamaan erilaisilla top-down-menetelmillä, kuten sähkökemiallinen anodisointi, Kemiallinen "tahra"syövytys (*stain etching*) tai fotosynteesi [8]. Näistä yleisimmin käytetty menetelmä on sähkökemiallinen anodisointi, koska se mahdollistaa huokosmäärä-, -koon ja huokoisen kerroksen paksuuden tarkan kontrolloinnin.

PSi-materiaalin anodisoinnin jälkeen sen pinnassa on Si-H, Si-H₂ ja Si-H₃ -hydridejä, jotka ovat epästabiileja. PSi-materiaalit pyritään stabiloimaan eri pintakäsittelymenetelmillä, joissa niiden pintakemiaa muutetaan. Tyypilliset stabilointimenetelmät jaetaan kolmeen kategoriaan: hapettaminen, hydrosilylointi ja terminen karbidointi. Hapetusmenetelmissä PSi-materiaali osittain hapetetaan, jolloin se stabiloituu, mutta paikallinen atomirakenne kasvaa ja huokoiskoko pienenee. PSi-materiaalin pinta muuttuu myös hydrofobisesta hydrofiliseksi, mikä on hyödyksi lääkeannostelusovelluksissa. Hydrosilyloinnissa PSi-materiaalin pinnan Si-H sidokset pyritään muuttamaan Si-C sidoksiksi käyttämällä pitkiä alkyyneja tai alkeeneja, kuten dekeenä. Tällaista dekeenillä terminoitua materiaalia kutsutaan jatkossa DecPSi. Si-C sidokset tekevät PSi-materiaalin pinnasta kemiallisesti hyvin inertin. Termisessä karbonoinnissa tavoitteena on myös muuttaa pinnan Si-H sidokset Si-C sidoksiksi. Orgaanisten nesteiden sijaan termisessä karbidoinnissa käytetään kaasumaisia hiilivetyjä, kuten asetyleeni tai asetoni kaasuja. Tällöin PSi-materiaalin pinnalle jää hiilivetyjä ja materiaalia kutsutaan termisesti vetykarbidoiduksi huokoiseksi piiksi (*thermally hydrocarbonized porous silicon, THCPSi*). Mikäli saatu materiaali vielä lämpökäsitellään, pinnasta poistuu vetyatomit ja jäljelle jää puhtaita Si-C sidoksia ja tätä materiaalia kutsutaan termisesti karbonoiduksi huokoiseksi piiksi

(*thermally carbonized porous silicon, TCPSi*). TCPSi on hydrofiilinen materiaali ja THCPSi sekä DecPSi ovat hydrofobisia [8, 33, 34].

5 Mikrokuplat

Mikrokuplia on käytetty ultraäänikuvantamisen varjoaineena jo 2000-luvun alusta lähtien [35]. Niillä on tyypillisesti fosfolipidikuori ja ne pitävät sisällään kaasua, joka muuttaa ympäröivän kudoksen akustista impedanssia ja näin ollen lisää heijastuneen ultraäänien määrää. Mikrokuplien kyky muuttaa ympäröivän kudoksen akustisia ominaisuuksia on epäilty tehostavan myös HIFU-hoidon vaikutuksia muun muassa lisäämällä kudoksessa tapahtuvaa kavitaatiota [9, 36]. Mikrokuplien vaikutusta ultraäänien akustisen energian absorboitumiseen HIFU-hoidoissa on tutkittu ja tulokset ovat olleet lupaavia [10, 11]. Tässä tutkimuksessa käytettiin SonoVue-mikrokuplia, joissa fosfolipidikuoren sisällä on rikkiheksafluoridikaasua (SF_6) (Kuva 12).



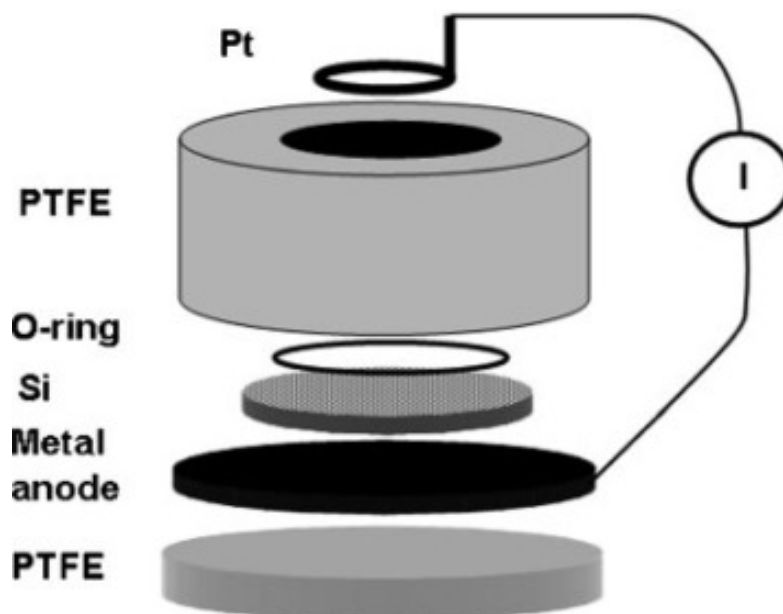
Kuva 12. Kuvituskuva SonoVue-mikrokuplasta. Fosfolipidikuoren sisällä rikkiheksafluoridikaasua [37].

6 Materiaalit ja menetelmät

6.1 Huokoisen piin nanopartikkelien valmistus

Tutkimusta varten valmistettiin kolmea eri PSi-nanopartikkelia; termisesti hydrokarbonoituja (THCPSi), termisesti karbonoituja (TCPSi) ja dekeenissä termisesti hydrosilyloituja (DecPSi).

THCPSi-partikkelin valmistus aloitettiin p+-tyypin yksikiteisen piikiekon (100) sähkökemiallisella anodisoinnilla, jonka resistiivisyys oli 0,01-0,02 Ωcm . Piikiekk asetettiin kuvan 13 mukaiseen anodisointikammioon. Kammio täytettiin elektrolyytillä, jossa oli yhden suhde yhteen vetyfluoridihappoa (40 %) ja etanolia. Kammion metallianodin ja platinakatodin väliin saadaan kytkettyä sähkövirta, mikä aiheuttaa piin anodisoinnin ja huokosten syntymisen. Virrantiheyden ja virtapulssin keston avulla voidaan säädellä syntyvien huokosten määrää ja kokoa. THCPSi-partikkelien valmistuksessa käytettiin kahden virtapulssin kiertoa. Ensimmäinen pulssi oli pitkä pulssi pienellä virrantiheydellä, jolla saatiin aikaan haluttu huokoisrakenne. Toisella pulssilla oli suuri virrantiheys, mutta lyhyt kesto. Tämä pulssi saa puolestaan aikaan huokoisrakenteessa kapean ja hyvin suuren huokoisen ja hauraan kohdan, mikä oletetusti toimii murtumiskohtana jauhettaessa materiaalia nanopartikkeleiksi. Toisen pulssin jälkeen oli tauko eli ns. nolla-virtapulssi, jonka aikana mahdolliset elektrolyyttiin syntyneet konsentraatiogradientit poistuvat. Tauon jälkeen kierto alkoi uudelleen ja sitä toistettiin, kunnes huokoisen piin kerrospaksuus oli riittävä. Anodisoinnin lopuksi annettiin vielä suuren virrantiheyden pulssi, mikä irrottaa anodisoituneen osan muusta piikiekosta [8, 38].



Kuva 13. Kaavakuva anodisointi kammiosta, johon anodisoitava piikiekkko asetetaan. Systemiin saadaan asetettua eri virrantiheyden arvoja, mikä johtaa piikiekkon syöpymiseen ja huokosten syntymiseen. Virrantiheyden ja virtapulssin keston avulla voidaan säädellä syntyneiden huokosten kokoa ja määrää [8].

Anodisoinnin jälkeen piikiekkko poistettiin anodisointikammiosta ja huokoisen piin annettiin kuivua pitkään, jotta voitiin varmistua kaiken elektrolyytin haihtuneen. Kuivaamisen jälkeen PSi-materiaali termisesti hydrokarbonoitiin. Terminen hydrokarbonointi suoritetaan 520 celsiusasteen lämpötilassa. PSi-materiaali asetettiin kvartsiputkeen, jossa oli jatkuva yhden suhde yhteen typpi-asetyleeni-virtaus. Putki laitettiin esilämmitettyyn uuniin kymmeneksi minuutiksi. Kymmenen minuutin jälkeen putki poistettiin uunista ja asetyleenivirtaus katkaistiin. PSi-materiaalin annettiin jäähtyä huoneenlämmössä typen edelleen virratessa [39].

Termisen hydrokarbonoinnin jälkeen saatu THCPsi jauhettiin nanopartikkeleiksi. Jauhaminen suoritettiin kuulamylyllä märkäjauhatuksena jauhatuksen tehostamiseksi. Jauhausnesteenä käytettiin dekeeniä tuoreiden pintojen hapettumisen vähentämiseksi [38]. Jauhatuksen jälkeen THCPsi-partikkelit pestiin dekeenistä etanoliin ja haluttu partikkelikoko eroteltiin sentrifugilla. Aluksi sentrifugin kierrokset

asetettiin siten, että partikkeleihin kohdistuva suhteellinen sentrifugaalivoima (*relative centrifugal force*, RCF) oli 1500 g:tä. Sentrifugin annettiin pyöriä 15 minuuttia, jonka jälkeen suspensio ja siinä olevat laskeutumattomat partikkelit kerättiin talteen (supernatantti). Lähtösuspension nanopartikkelien konsentraation laskiessa sentrifugin kierroksia nostettiin vähitellen aina RCF:n arvoon 4000 g, kunnes saatavien partikkelien määrä oli liian pieni erottelun jatkamiseksi.

TCPSi-partikkelien valmistusprosessi on täysin sama kuin THCPSi-partikkelien aina termiseen hydrokarbonointiin asti. Termisen hydrokarbonoinnin lisäksi PSi-materiaalille suoritetaan toinen terminen käsittely, terminen karbonointi. 520 celsiusasteen termisen hydrokarbonoinnin ja jäähtymisen jälkeen asetyleeni virtaus kytkettiin takaisin päälle kymmeneksi minuutiksi. Kymmenen minuutin jälkeen asetyleenivirtaus taas katkaistiin ja putki asetettiin 820 celsiusasteeseen esilämmitettyyn uuniin. Putken annettiin olla uunissa kymmenen minuuttia, jonka jälkeen sen annettiin jäähtyä huoneenlämmössä [40]. THCPSi:n tapaan myös saatu TCPSi jauhettiin nanopartikkeleiksi märkäjauhatuksena kuulamylyssä. Jauhausnesteenä käytettiin etanolia. Haluttu partikkelikoko eroteltiin sentrifugilla, kuten THCPSi-partikkelit.

DecPSi-partikkelien valmistus alkoi piikiekon anodisoinnilla, kuten THCPSi- ja TCPSi-partikkelien valmistuksessa, mutta kahden pulssin sijaan käytettiin vakiovirrantiheyttä, jolla saatiin aikaan piin huokoinen rakenne. Virtaa pidettiin päällä kunnes haluttu paksuus huokoista piitä saavutettiin. Anodisoinnin päätteeksi annettiin huokoisen kerroksen irrottava suuren virrantiheyden pulssi. Anodisoinnin jälkeen PSi-materiaali jauhettiin kuulamylyllä mikropartikkeleiksi [41].

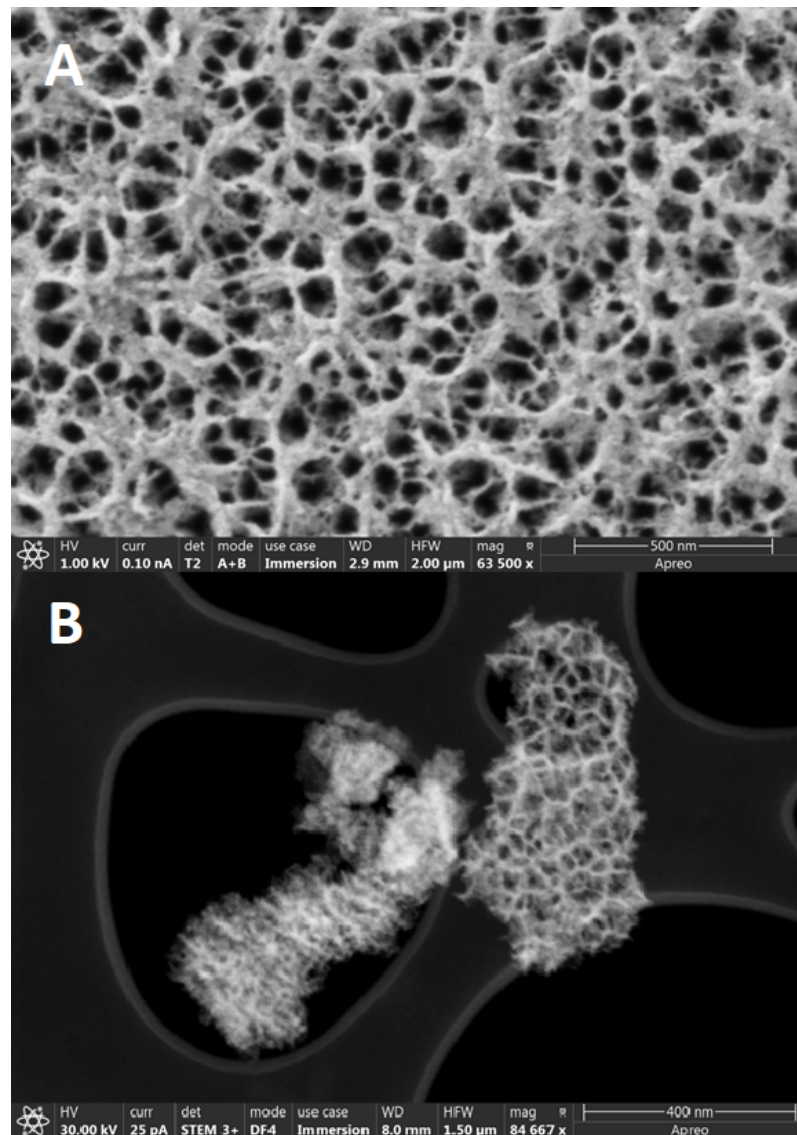
PSi-mikropartikkeleille suoritettiin regeneratiivinen syövytys (*regenerative electroless etching*, *ReEtching*) muovisessa dekantterilasissa jäävesihauteessa [41]. Syövytysnesteenä oli tilavuussuhde 4:3:1 vetyfluoridihappoa (48 %), etikkahappoa ja vettä. Syövytysnestettä sekoitettiin jatkuvasti magneettisekoittimella ja huuhdeltiin argonilla. Regeneratiivisessa syövytyksessä käytetään primaari hapettimena vanadii-

ni(V)oksidin (V_2O_5) liukenemisessä syntyvää VO_2^+ -ionia ja sekundaari hapettimena vetyperoksidia (H_2O_2). Syövytysnesteeseen lisättiin vanadiinioksidia kunnes sen konsentraatio oli 10 mM ja vetyperoksidia lisättiin tasaisesti koko prosessin ajan. VO_2^+ -ioni liittyy optimaalisesti piin valenssivyöhön syövytyksen aloittamiseksi. Tasainen vetyperoksidin lisäys regeneroi VO_2^+ -ioneja, jolloin PSi-materiaaliin syöpyä syviä homogeenisiä huokosia [41]. Tämä johtaa PSi-materiaalin suurempaan huokoisuuteen verrattuna THCPsi ja TCPSi-partikkeleihin.

Regeneratiivisen syövytyksen jälkeen PSi-partikkelit suodatettiin syövytysnesteestä käyttämällä imupulloa ja suodatinta, jonka huokoiskoko oli yksi mikrometri. Suodattimeen kerätyt partikkelit huuhdeltiin ensin runsaalla 200 mM suolahappoliuoksella (HCl), etanolilla vanadiinioksidin poistamiseksi, ja lopuksi pentaanilla (C_5H_{12}) [41]. Suodatettuja ja huuhdeltuja partikkeleja kuivatettiin tyhjiöuunissa 65 celsiusasteessa tunnin ajan. Kuivaamisen jälkeen partikkelit pintakäsiteltiin termisellä hydrdosilyloinnilla, jossa ne upotettiin puhtaaseen dekeeniin ja laitettiin 110 celsiusasteeseen 18 tunniksi [42]. Termisen hydrdosilyloinnin jälkeen DecPSi-partikkelit jauhettiin nanopartikkeleiksi kuulamylyllä märkäjauhatuksena dekeeni jauhatusnesteinä. Jauhatuksen jälkeen nanopartikkelit pestiin huolellisesti etanolilla ja haluttu partikkelikoko eroteltiin sentrifugin avulla.

Kunkin PSi-nanopartikkelityypin valmistuksen kokoerotteluvaiheessa ja lopullisten saatujen nanopartikkelisuspensioiden kokojakauma mitattiin dynaamisella valosirontamenetelmällä (*dynamic light scattering, DLS*) käyttämällä Zetasizer Nano ZS (Malvern Panalytical) -mittalaitetta. Mitattava näyte asetettiin kyvetissä Zetasizeriin ja laite antaa mittaustuloksena muun muassa näytteen partikkelien kokojakauman ja keskimääräisen partikkelikoon. Valmiiden THCPsi-, TCPSi- ja DecPSi-nanopartikkelien keskimääräisiksi kooksi mitattiin 162, 167 ja 199 nanometriä. Nanopartikkelisuspensioiden konsentraatiot määritettiin kuivaamalla tunnettu tilavuus suspensioita ja punnitsemalla kuivatut partikkelit. PSi-nanopartikkeleja ku-

vattiin myös pyyhkäisy-läpäisyelektronimikroskoopilla (*scanning transmission electron microscopy, STEM*) huokoisen rakenteen tarkastelemiseksi. Kuvassa 14 on esitetty STEM-kuvat TCPSi-materiaalista ennen sen jauhamista nanopartikkeleiksi ja THCPSi-nanopartikkeleista jauhatuksen jälkeen. Ennen nanopartikkelisuspensioiden käyttöä mittauksissa ne pestiin etanolista isotoniseen 6,72 % PEG-300-vesiliuokseen. Nanopartikkelisuspensioiden konsentraatioita ei pysty tarkalleen määrittämään pesun jälkeen, mutta niiden arvioitiin olevan THCPSi-, TCPSi- ja DecPSi-suspensioille 4,4; 8,2 ja 8,0 mg/ml perustuen määritettyihin konsentraatioihin ennen pesua.

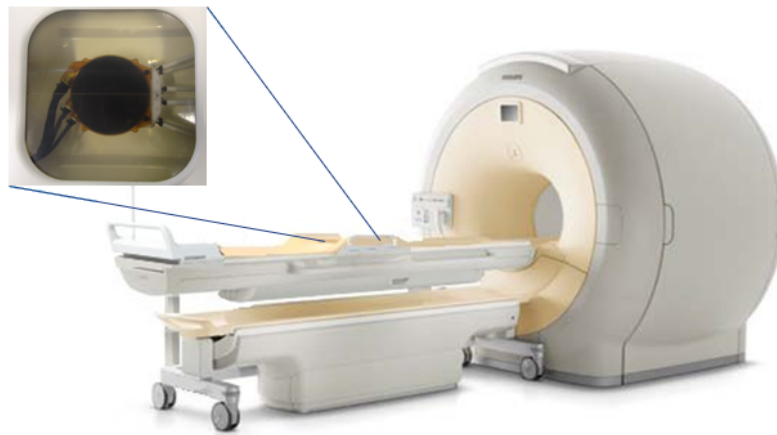


Kuva 14. Pyyhkäisy-läpäisyelektronimikroskoopilla otetut kuvat A) TCPSi-materiaalista ennen sen jauhamista nanopartikkeleiksi ja B) THCPSi-nanopartikkeleista.

6.2 MR-HIFU-laitteisto

Tutkimuksen mittaukset suoritettiin kuvassa 15 esitetyllä MR-HIFU-pöydällä (Sonalleve V2, Profound Medical Inc., Mississauga, Kanada), joka oli integroitu kolmen teslan magneettikuvauslaitteeseen (Ingenia 3.0 T, Philips Healthcare, Best, Alankomaat). MR-HIFU-pöydän ultraäänilähetin sijaitsee pöydän sisällä, jossa se

on upotettuna öljyseokseen. Ultraäänilähetin koostuu 256 pietsosähköisestä ultraäänielementistä, jotka voivat tuottaa ultraääntä 1,2 tai 1,44 MHz:n taajuudella. Ultraäänilähetintä voidaan pöydän sisällä liikuttaa jokaiseen kolmeen suuntaan ja kallistamaan näiden akselien suhteen, jolloin fokuksen paikkaa ja ultraäänikeilan tulosuuntaa voidaan muuttaa. Lähettimen tuottama ultraääni suunnataan kohteeseen pöydässä olevan ikkunan läpi. Ikkuna on valmistettu kahdesta ohuesta polymeerikalvosta, joiden välissä on jatkuva vesikierto. Ultraäänilähetintä ympäröivä öljyseos ja polymeerikalvojen välissä kiertävä vesi toimii ultraäänen akustisena väliaineena sen edessä lähettimeltä kohteeseen. Vesikierto toimii myös potilaan ihon jäähdyttimenä HIFU-hoidoissa, koska hoidon sonikaatioiden aikana potilaan iho kokee kumuloituvaa lämpenemistä ja riski palovammoille kasvaisi ilman lisäjäähdytystä.



Kuva 15. Mittauksissa käytetty MR-HIFU-laitteisto. Laitteisto koostuu HIFU-pöydästä, joka on integroitu MRI-laitteeseen. Suurennetussa kuvassa näkyy HIFU-pöydässä oleva ikkuna ja sen takana sijaitseva HIFU-lähetin.

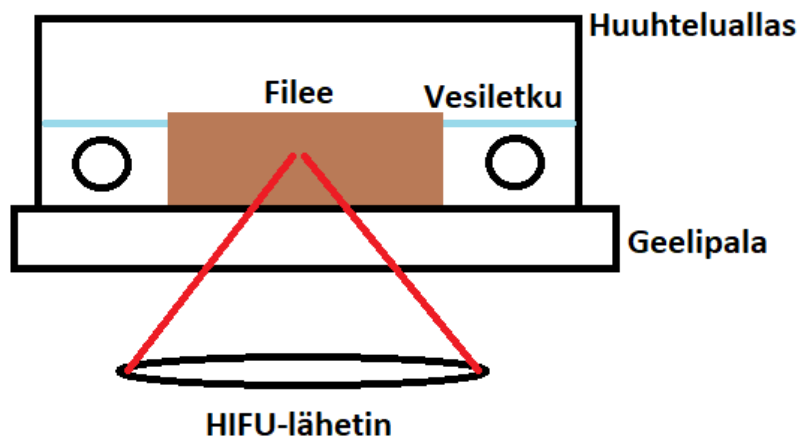
MR-HIFU-laitteistoa käytetään tietokonesovelluksen avulla. Sovelluksella käyttäjä pystyy tarkastelemaan MRI-laitteella otettuja kuvia ja suunnittelemaan sekä toteuttamaan hoito niiden perusteella. Hoito suunnitellaan paikantamalla ja rajamalla hoidettava kohde magneettikuvista. Rajattu kohde täytetään sonikaatiosoluilla eli tilavuuksilla, joihin yksittäinen sonikaatio kohdennetaan. Kun suunniteltua sonikaatiota toteutetaan, kudoksen lämpötilan kehitystä seurataan MR-termometrian

tarjoaman lämpötilakartan avulla. Mikäli kohteen ulkopuolisten kudosten lämpötilan havaitaan nousevan, sonikaatio pystytään keskeyttämään välittömästi käyttäjän toimesta. Myös laitteisto itse voi keskeyttää sonikaation, jos se havaitsee liiallista lämpenemistä.

6.3 HIFU-mittaukset

PSi-nanopartikkelien ja mikrokuplien mahdollista tehostusta ja niiden konsentraatioiden riippuvuutta MR-HIFU-hoidossa tutkittiin mittaamalla fantomin lämpötilan muutosta sonikaation aikana, kun siihen oli injektoitu eri näytteitä. Fantomi on ihmiskehoa mallintava esine, jonka avulla voidaan suorittaa mittauksia tai suorittaa mittausrakenteiden laadunvalvontaan ja kalibrointia ilman elävää kohdetta. Tämän tutkimuksen mittauksissa fantomin haluttiin muistuttavan akustisilta ominaisuuksiltaan ihmisen pehmytkudosta ja olla riittävän homogeeninen yhdenmukaisten mitaustulosten saamiseksi. Fantomina päädyttiin käyttämään porsaan ulkofileettä. Filee pidettiin mittausten aikana polypropeenimuovista valmistetussa huuhtelualtaassa, jonka pohja oli vaihdettu samanlaiseen polymeerikalvoon, kuin HIFU-pöydän ikkuna, ultraäänien heijastumisen vähentämiseksi. HIFU-pöydän ikkunan päälle asetettiin HIFU-hoidoissa käytettävä geelipala, jotta fantomin etäisyys HIFU-lähtetimestä olisi riittävä. Geelipala toimi samalla akustisena väliaineena ultraäänelle lähettimeltä geelipalan päälle laskettuun huuhtelualtaaseen. Huuhtelualtaaseen lisättiin vettä niin paljon, että filee oli veden alla päälipintaa lukuun ottamatta. Huuhtelualtaaseen upotettiin fileen ympärille muutama kierros vesiletkeä, jossa kiersi lämmitettyä vettä. Tämä mahdollisti huuhtelualtaan toimimisen vesihauteena (Kuva 16). Veden lämpötila säädettiin siten, että fileen lämpötila saatiin pidettyä noin 37 celsiusasteessa koko mittausten ajan. Vesihauteen ja edelleen fileen lämpötilaa seurattiin jatkuvasti kuvassa 17 esitetyllä MR-yhteensopivalla valokuitulämpötila-anturilla (AccuSens, Opsens Solutions). Mitattu fileen lämpötila syötettiin tietokonesovelluk-

seen referenssilämpötilaksi, jota hyödynnetään MR-termometriassa.



Kuva 16. Poikkileikkaus HIFU-mittauksissa käytetystä mittausasetelmasta. Fantomina käytetty filee oli upotettuna huuhtelualtaan vesihauteeseen. Vesihautetta lämmitettiin vesiletkussa kiertävällä lämmitetyllä vedellä. Huuhteluallas asetettiin geelipalan päälle, jollin fantomin etäisyys HIFU-lähetimestä oli riittävä.



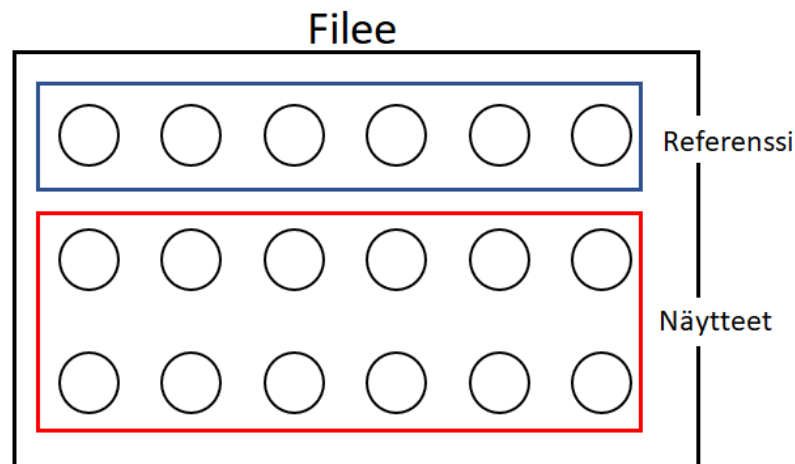
Kuva 17. MR-yhteensopiva valokuitulämpötila-anturi ja signaalinkäsittelijä.

Ennen varsinaisten mittausten aloittamista PSi-nanopartikkelien ja mikrokuplien lähtösuspensioista valmistettiin laimennettuja 1 ml näytteitä pipetoimalla. Valmistettujen näytteiden konsentraatiot on esitetty taulukossa 2. Koska mikrokuplien massa on erittäin pieni, niiden konsentraatio on mielekkäämpää esittää tilavuuskonsentraationa yksikössä $\mu\text{l}/\text{ml}$. Valmistetut näytteet imettiin ruiskuihin, joilla ne injektoidiin fantomiin. Fantomi jaettiin kolmeen riviin, joista kahteen injektoidiin näytteet ja kolmas toimi referenssirivinä, johon ei injektoitu mitään. Injektiokohdat on hahmoteltu kuvassa 18. Näytteet pyrittiin injektomaan syvyysuunnassa mah-

dollisimman keskelle fileettä. Jokaisen injektiokohdan päälle asetettiin MRI-kuvissa näkyvä kapseli helpottamaan injektiokohtien paikantamista sonikaatioita suunniteltaessa.

Taulukko 2. PSi-nanopartikkelien ja mikrokuplien lähtösuspensioista valmistettujen näytteiden konsentraatit. Huomioi mikrokuplien konsentraation yksikkö [$\mu\text{l}/\text{ml}$].

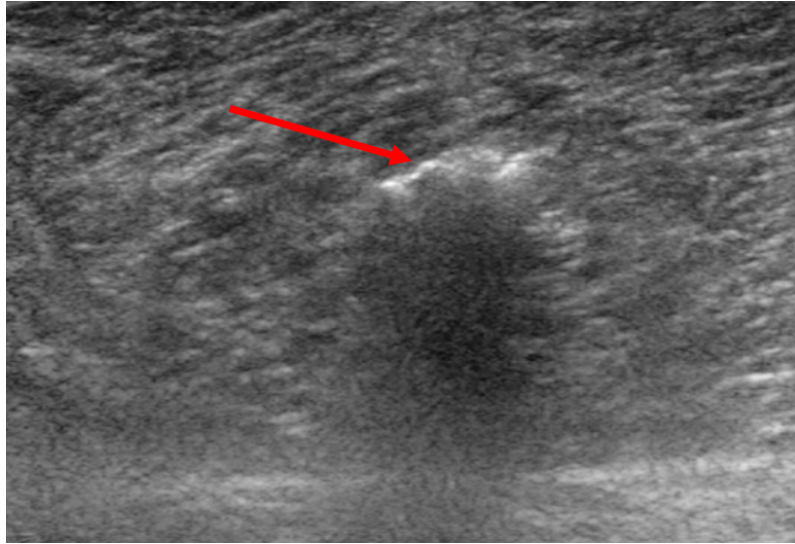
Näyte	Konsentraatio [mg/ml], [$\mu\text{l}/\text{ml}$]				
THCPSi	0,25	1,0	2,2	4,4	
TCPSi	0,25	1,0	2,2	4,4	8,2
DecPSi	0,25	1,0	2,0	4,0	8,0
Mikrokupla	2,0	4,0	8,0		



Kuva 18. Fantomina toimiva filee jaettiin kolmeen riviin. Näytteet injektoitiin punaisella rajattuihin riveihin ja sinisellä rajattu rivi toimi referenssinä eikä siihen injektoitu mitään.

Näytteiden injektoimisen jälkeen fantomi magneettikuvattiin. Magneettikuvan avulla jokaiseen injektio- ja referenssikohtaan suunniteltiin yksittäinen sonikaatio asettamalla niihin sonikaatiosolu. Sonikaatiosolujen tehoksi asetettiin 150 W, ajaksi 20 s ja ultraäänen taajuudeksi 1,2 MHz. Sonikaatiosolut toteutettiin vuoron perään ja fantomin lämpötilan kehitystä ja maksimilämpötilaa lähellä fokusta seurattiin

MR-termomertialla saatujen lämpötilakarttojen avulla. Fantomin maksimilämpötila sonikaation aikana raportoitiin. Sonikaatioiden jälkeen fantomi ultraäänikuvattiin ja leikattiin auki. Kuvassa 19 on esitetty fantomista otettu ultraäänikuva ja kuvassa 20 leikattu fantomi, jossa näkyy kaksi sonikoitua näytettä.



Kuva 19. Sonikaatioiden jälkeen fantomista otettu ultraäänikuva. Nuoli osoittaa fantomiin injektioituihin nanopartikkeleihin.



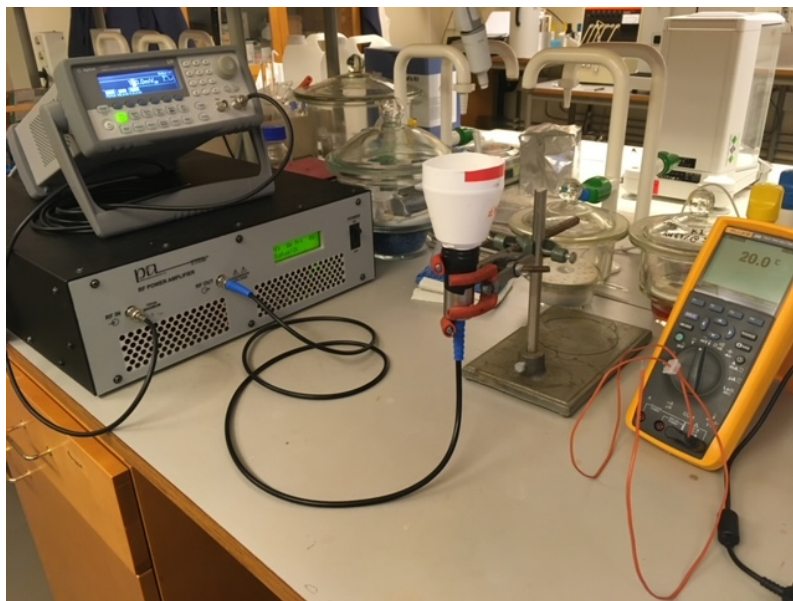
Kuva 20. Leikattu fantomi, jossa näkyy sonikoidut 4,4 (vasen nuoli) ja 1,0 mg/ml (oikea nuoli) THCPSi näytteet.

Ennen edellä esiteltyjä mittauksia, HIFU-mittaukset yritettiin toteuttaa eri mittausjärjestelyllä. Alkuperäisessä mittausjärjestelyssä näyte oli tarkoitus asettaa fan-

tomin sijaan kahden päällekkäin asetetun muovimukin väliseen tilaan. Muovimukeista alemman pohja oli vaihdettu ohueen kalvoon, jonka ultraääni pystyy läpäisemään vaivatta. Tämän mittausjärjestelyn etuna olisi ollut se, että sonikoinnin jälkeen näytteet olisi saatu kerättyä talteen kontaminoitumatta. Järjestely osoittautui kuitenkin puutteelliseksi, sillä sonikaatioin aikana näyte liikkui, eikä pysynyt muovimukien välissä. Tällöin MR-termometrialla ei saatu luotettavaa dataa näytteen lämpenemisestä.

6.4 Ultraäänimittaukset

HIFU-mittausten lisäksi tutkimuksessa suoritettiin fokusoimattomalla ultraäänellä ultraäänimittaukset HIFU-mittauksissa saatujen tulosten validoimiseksi. Ultraäänimittauksissa tutkittiin miten P*Si*-nanopartikkelisuspensiot lämpenevät, kun niitä sonikoidaan sellaisenaan, ja minkälainen vaikutus suspension konsentraatiolla on lämpenemiseen. Ultraäänilähtetimenä käytettiin lineaarista 1 MHz:n lähetintä, jossa oli yksi pietsosähköinen ultraäänielementti. Lähtetimen ultraäänielementti oli metallikoteloitu yhtä reunaa lukuun ottamatta, joka toimi akustisena ikkunana. Ultraäänielementin halkaisija oli 20 mm. Lähetin pidettiin pystyasennossa ja sen ympärille asetettiin ylösalaisin polypropeenimuovista valmistettu pullon puolikas näytteenpitimeksi. Tällöin näyte makasi ultraäänilähtetimen päällä ja jatkuva akustinen kontakti oli taattu. Ultraäänilähtetimen tarvitsema vaihtojännite tuotettiin aalto-generaattorilla (Agilent LXI, model 33220A) ja sitä vahvistettiin tehovahvistimella (RF power amplifier, Precision Acoustics). Näytteen lämpötila ennen sonikaatiota ja sen jälkeen mitattiin yleismittarilla (Fluke 289 True-RMS Data Logging Multimeter, Fluke corporation). Mittauslaitteisto on esitetty kuvassa 21.



Kuva 21. Ultraäänimittauksissa käytetty mittaustaitteisto. Kuvassa nähtävissä ultraäänilähetin, jonka ympärille on asetettu muovipullon puolikas ylösalaisin, yleismittari, tehovahvistin ja sen päällä oleva aaltogeneraattori.

Ennen mittausten aloittamista eri PSi-nanopartikkelien lähtösuspensioista valmistettiin taulukossa 3 esitettyjen konsentraatioiden mukaisia laimennoksia. Referenssinäytteenä käytettiin puhdasta 6,72 % PEG-300-vesiliuosta. Valmistettujen näytteiden tilavuudet olivat 5 ml. Tutkittavat näytteet asetettiin yksitellen näytteenpitimeen ja niiden lämpötilat mitattiin. Näytteitä lämmitettiin sonikoimalla kaksi minuuttia 15 watin teholla. Heti sonikaation jälkeen näytteiden lämpötila mitattiin uudelleen. Sonikaation aikana myös ultraäänilähetin lämpeni. Tästä syystä lähetimen annettiin jäähtyä takaisin huoneenlämpötilaan siirryttäessä näytteestä toiseen. Näytteiden lämpötilat ennen sonikaatioita ja niiden jälkeen raportoitiin.

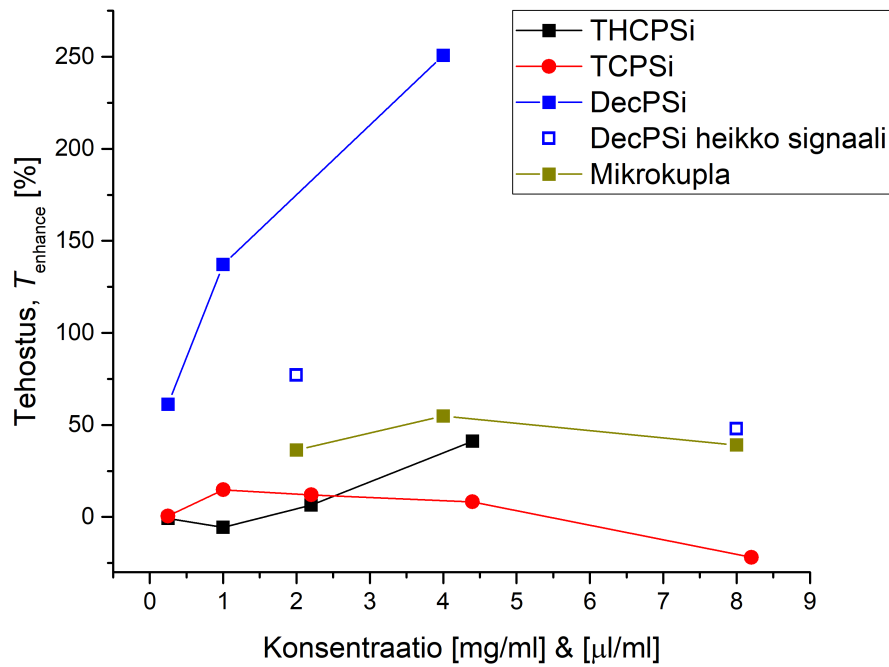
Taulukko 3. PSi-nanopartikkelien lähtösuspensioista valmistettujen näytteiden konsentraatiot.

Näyte	Konsentraatio [mg/ml]				
THCPSi	0,125	0,25	0,5	1,0	2,0
TCPSi	0,125	0,25	0,5	1,0	2,0
DecPSi	0,125	0,25	0,5	1,0	

7 Tulokset

7.1 HIFU-mittaukset

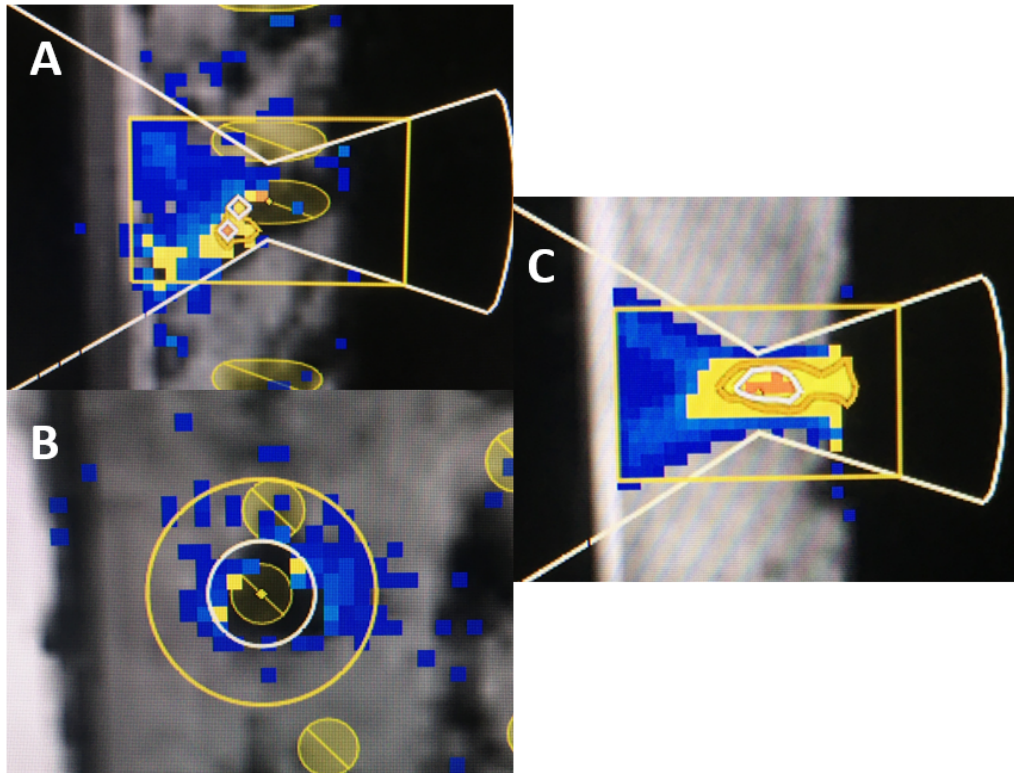
HIFU-mittauksista saadut fantomin maksimilämpötilat, T_{max} , eri näytteille ja referenssikohdille muutettiin lämpötilanmuutoksiksi, ΔT , vähentämällä maksimilämpötiloista mitattu fantomin lämpötila. ΔT on siis fantomissa tapahtunut lämpötilan kasvu sonikaation aikana. Yksittäisen näytteen ΔT arvoa verrattiin sen referenssikohdan ΔT_{ref} arvoon, joka sijaitsi samassa injektiosarakkeessa kuin näyte itse. Tällä pyrittiin varmistamaan, että jokaista näytettä verrataan referenssikohtaan, jossa fantomina toimiva filee olisi rakenteeltaan ja akustisilta ominaisuuksiltaan mahdollisimman samankaltainen. Kun näytteen ΔT arvosta ensin vähennetään ja sitten jaetaan referenssikohdan ΔT_{ref} arvo, tulokseksi saadaan suhde, jonka kertoo, kuinka monta prosenttia näyte lisää lämpötilan nousua sonikaation aikana. Tätä suhdelukua kutsutaan tehostukseksi, $T_{enhance}$. Tehostus laskettiin jokaiselle näytteelle ja saadut arvot on esitetty näytteiden konsentraatioiden funktiona kuvassa 22.



Kuva 22. HIFU-mittauksista saaduista maksimilämpötiloista lasketut näytteiden tehostukset niiden konsentraatioiden funktiona.

Tuloksista huomataan TCPSi-nanopartikkelien olevan ainoa näyte, jonka tehostus on hyvin vähäistä, eikä siinä ilmene konsentraatorippuvuutta. TCPSi-partikkelien tehostus kääntyy jopa negatiiviseksi konsentraation kasvaessa. THCPsi-nanopartikkelien tehostus on myös hyvin pientä pienillä konsentraatioilla, mutta tehostus lisääntyy konsentraation kasvaessa. Mikrokuplien tehostava vaikutus on THCPsi-partikkeleihin verrattuna hieman suurempi, mutta konsentraation kasvaessa tehostus alkaa heikkenemään. DecPSi-nanopartikkelien tehostus on ylivoimainen. Ne tehostavat ultraäänien akustisen energian absorboitumista voimakkaasti jo pienellä konsentraatiolla ja tehostus lisääntyy konsentraation kasvaessa. 4 mg/ml näytteen mittauksessa HIFU-laitteisto keskeytti sonikaation 17 sekunnin jälkeen havaittuaan liiallista lämpenemistä. Mikäli sonikaatio olisi voitu suorittaa loppuun, havaittu maksimilämpötila ja edelleen tehostus olisi mitä todennäköisemmin ollut suurempi kyseiselle näytteelle. 2

ja 8 mg/ml DecPSi-näytteiden tehostukset ovat poikkeuksellisen pienet. Tämä johtuu mittauksien aikana MR-laitteistolla saadusta erittäin heikosta signaalista juuri sonikaation fokuksen kohdalta. Tämä tarkoittaa, että MR-termometriallakaan ei saatu lämpötiladataa fokuksesta. Raportoidut maksimilämpötilat olivat siis mitattu fokuksen vierestä, jolloin todelliset maksimilämpötilat ovat mahdollisesti jäänyt havaitsematta. Kuvassa 23 on esitetty 8 mg/ml DecPSi-näytteen sekä referenssikohdan sonikaatioiden MRI-kuvat ja lämpötilakartat. Kuvat havainnollistavat, miten heikko signaali näkyy MRI-kuvissa ja MR-termometrian lämpötilakartoissa verrattuna vahvaan signaaliin.



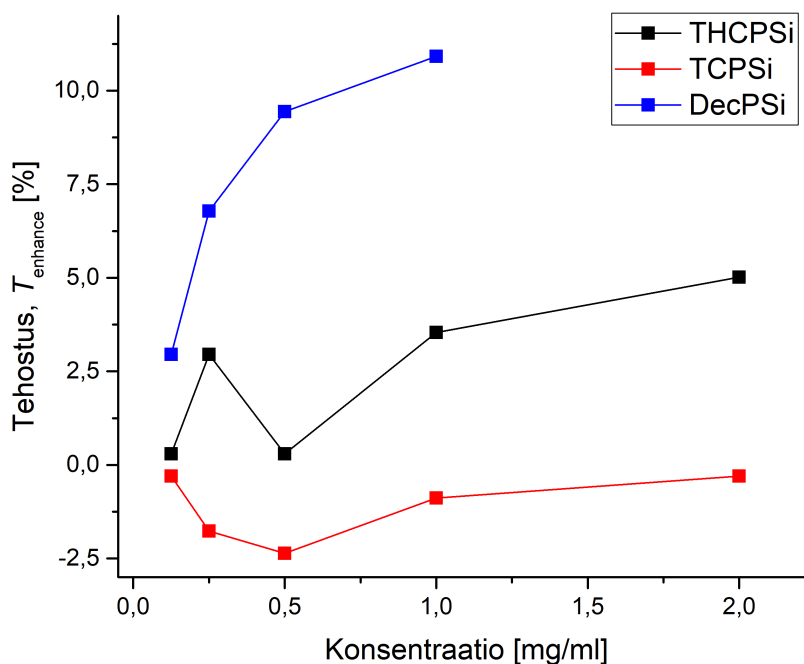
Kuva 23. A-B) Sagittaali- ja koronaalikuva 8 mg/ml DecPSi-näytteen sonikaatiosta, jossa oli heikko MR-signaali. Heikko signaali näkyy kuvissa tummana kohtana ja aukkona lämpötilakartassa. C) Sagittaalikuva referenssikohdan sonikaatiosta, jossa puolestaan on vahva signaali.

Vaikka alkuperäisen mittausjärjestelyn mukaiset HIFU-mittaukset keskeytettiin puutteellisuuden vuoksi, niistä saatiin kerättyä talteen vähän sonikoituja PSi-nanopartikkeleja.

Näiden partikkelien kokojakaumat mitattiin uudelleen. Kokojakauma ja keskimääräinen partikkelikoko oli sama, kuin ennen sonikaatioita.

7.2 Ultraäänimittaukset

Kuten HIFU-mittauksissa, myös ultraäänimittauksista kerätystä lämpötiladatasta laskettiin kullekin näytteelle tehostus, $T_{enhance}$. Tehostus laskettiin samalla periaatteella; näytteen lämpötilan muutos sonikaation aikana laskettiin vähentämällä näytteen lämpötilasta sonikaation lopussa sen alkulämpötila ja tästä saadusta lämpötilan muutoksesta ensin vähennettiin ja sitten jaettiin referenssinäytteelle laskettu lämpötilan muutos. Kullekin näytteelle lasketut tehostukset näytteen konsentraation funktiona on esitetty kuvassa 24.



Kuva 24. Ultraäänimittauksissa havaituista lämpötiloista lasketut tehostukset kullekin PSi-näytteelle niiden konsentraation funktiona.

Ultraäänimittauksien tuloksissa huomataan samanlaisia piirteitä kuin HIFU-

mittauksen tuloksissa. TCPSi-nanopartikkelit eivät tehosta ultraäänen energian absorboitumista. THCPSi-partikkelien tehostuksen havaitaan kasvavan näytteen konsentraation kasvaessa, mutta tehostus on kuitenkin suhteellisen vähäistä. DecPSi-partikkelien lisäämä ultraäänen energian absorboituminen on myös ultraäänimittauksissa ylivoimainen verrattuna muihin partikkeleihin. DecPSi-partikkelien tehostusta havaitaan jo pienillä konsentraatioilla ja konsentraation kasvattaminen vahvistaa partikkelien tehostavaa vaikutusta.

8 Pohdinta

Saadut tulokset PSi-nanopartikkelien tehostuksille sekä HIFU- että ultraäänimittauksista olivat hyvin samankaltaiset. Molemmissa mittauksissa havaittiin THCPSi- ja DecPSi-nanopartikkelien tehostavan ultraäänen akustisen energian absorboitumista siinä missä TCPSi-partikkelit eivät tehostaneet. Vaikka mittauksista PSi-nanopartikkeleille lasketut tehostuksien arvot seuraavat samanlaista trendiä, niiden suuruudet ovat hyvin erilaiset. Ultraäänimittauksissa 1 mg/ml DecPSi-näytteen tehostus oli 11 %, kun taas HIFU-mittauksissa vastaavalle näytteelle saatiin 137 %:n tehostus. Tehostusten välinen ero voi selittyä kavitaation edellytyksellä korkeasta ultraäänen intensiteetistä. Ultraäänen intensiteetti oli HIFU-mittauksissa ultraäänimittauksiin verrattuna paljon suurempi sekä suuremman tehon että ultraäänen kohdistamisen ansiosta. Mikäli kavitaatiota on tapahtunut, se on todennäköisesti ollut paljon voimakkaampaa HIFU-mittauksissa.

Syy miksi THCPSi- ja DecPSi-nanopartikkelien tehostavat ultraäänen akustisen energian absorboitumista, mutta TCPSi-nanopartikkelit eivät, ja syy tehostuksen ja konsentraation väliseen riippuvuuteen selittyvät kaasun määrällä. Koska THCPSi ja DecPSi-nanopartikkelit ovat hydrofobisia, ne hylkivät suspensiossa ympäröivää vettä ja näin estävät veden pääsyn niiden huokosiin. TCPSi-nanopartikkelit ovat puolestaan hydrofiilisiä eli ne suosivat kontaktia veden kanssa. Tällöin vesimolekyylit ole-

tetaan täyttävän nanopartikkelien huokokset korvaten niissä olevan kaasun. TCPSi-nanopartikkelit eivät silloin tuo näytteeseen kaasua eivätkä siten myöskään tehosta ultraäänen energian absorboitumista. THCPsi ja DecPSi-nanopartikkelinäytteiden konsentraatioiden kasvattaminen lisää näytteessä olevan kaasun määrää ja edelleen lisäävät energian absorboitumista ja siten tehostusta. DecPSi-nanopartikkelien ylivertainen tehostus johtuu niiden koreammasta huokoisuudesta. Korkean huokoisuuden ansiosta ne kuljettavat enemmän kaasua tilavuutta kohden kasvattaen tehostusta huomattavasti.

Mikrokuplat osoittautuivat odotetusti tehostavan ultraäänen energian absorboitumista. Niiden alkuperäinen käyttötarkoitus ultraäänikuvantamisen varjoaineena perustuu niiden kykyyn kuljettaa kaasua. Kaasu todennäköisesti mahdollistaa myös kavitaation HIFUn korkeaintensiteetisessä ultraäänessä. Mikrokuplien konsentraation kasvaminen riittävän suureksi alkoi kuitenkin heikentämään niiden tehostavaa vaikutusta. Tämä voi mahdollisesti johtua ultraäänen heijastumisesta. Kun ultraääni kohtaa kaasurajapinnan, 99,9 % heijastuu siitä pois. Mikrokuplien konsentraation kasvaessa niiden kuljettama kaasu alkaa mahdollisesti käyttäytymään kuin kaasurajapinta ja heijastamaan ultraääntä. Tällöin ultraäänen energian absorboituminen ei keskity HIFUn fokukseen.

Kokonaisuudessaan saadut tulokset ovat hyvin lupaavia. PSi-nanopartikkelien ja mikrokuplien käyttäminen MR-HIFU-hoitojen tehosteaineena on lähtökohtaisesti hyvinkin mahdollista. Niiden lisäämä ultraäänen akustisen energian absorboituminen voi mahdollistaa riittävän lämpöannoksen saavuttamisen tapauksissa, joissa se ole ollut mahdollista esimerkiksi voimakkaan perfuusion takia. Ongelmallisten tapauksien lisäksi tehosteainetta voisi käyttää myös helpommissa hoidoissa. Niiden avulla pystyttäisiin lyhentämään tarvittavien sonikaatioiden kestoja ja mahdollisesti vähentämään niiden määrään. Tällöin ultraäänen attenuaation aiheuttama lämmitys ennen kohdetta vähenisi, jolloin sonikaatioiden välillä tarvittava viilennystauko

lyhenisi. Näissä tapauksissa MR-HIFU-hoitoihin kuluva aika saadaan vähennettyä.

Viitteet

- [1] M. W. Dewhirst *et al.*, International Journal of Hyperthermia **19**, 267 (2003).
- [2] J. W. Wijlemans *et al.*, Cancer Imaging **12**, 387 (2012).
- [3] O. Al-Bataineh, J. Jenne ja P. Huber, Cancer Treatment Reviews **38**, 346 (2012).
- [4] K. Hynynen, *MRI-Guided focused ultrasound surgery* (Informa Healthcare, 2008), Chap. 2, pp. 5–23.
- [5] I. A. Elhelf *et al.*, Diagnostic and Interventional Imaging **99**, 349 (2018).
- [6] M. E. Ikink *et al.*, European Radiology **23**, 3054 (2013).
- [7] H. Odéen ja D. L. Parker, Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy **110**, 34 (2019).
- [8] J. Salonen, A. M. Kaukonen, J. Hirvonen ja V. P. Lehto, Journal of Pharmaceutical Sciences **97**, 632 (2008).
- [9] C. Cheng *et al.*, BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology **124**, 78 (2017).
- [10] W. Luo *et al.*, Advances in therapy **23**, 861 (2006).
- [11] F. Orsi *et al.*, International Journal of Hyperthermia **31**, 233 (2015).
- [12] J. D. N. Cheeke, *Fundamentals and applications of ultrasonic waves* (CRC Press, 2012), p. 473.
- [13] A. Manbachi ja R. S. C. Cobbold, Ultrasound **19**, 187 (2011).
- [14] B. Frenzel-Beyme, Radiologe **45**, 363 (2005).
- [15] V. Chan ja A. Perlas, *Atlas of Ultrasound-Guided Procedures in Interventional Pain Management*, 2 ed. (Springer New York, 2018), pp. 11–15.
- [16] K. Hynynen, Biomedical ultrasound.
- [17] Profound Medical, in *Ultrasound in tissue* (ProfoundMedical, 2015).
- [18] T. J. Mason, Ultrasonics Sonochemistry **18**, 847 (2011).
- [19] A. K. Wood ja C. M. Sehgal, Ultrasound in Medicine & Biology **41**, 905 (2015).
- [20] G. ter Haar ja C. Coussios, International Journal of Hyperthermia **23**, 89 (2007).
- [21] Profound Medical, in *MR-HIFU treatment cell concept* (Profound Medical, 2015).

- [22] I. A. Shehata, *European Journal of Radiology* **81**, 534 (2012).
- [23] C. A. Damianou, K. Hynynen ja X. Fan, *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics and Frequency Control* **42**, 182 (1995).
- [24] S. A. Sapareto ja W. C. Dewey, *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics* **10**, 787 (1984).
- [25] H. H. Pennes, *Journal of Applied Physiology* **1**, 93 (1948).
- [26] A. Kabiri ja M. R. Talaei, *SN Applied Sciences* **3**, (2021).
- [27] D. Weishaupt, V. D. Köchli ja B. Marincek, *How Does MRI Work?*, 2 ed. (Springer Berlin Heidelberg, 2006), p. 169.
- [28] M. F. Reiser, W. Semmler ja H. Hricak, *Magnetic Resonance Tomography*, 3 ed. (Springer Berlin Heidelberg, 2008), p. 1511.
- [29] G. Liney, *MRI in Clinical Practice*, 1 ed. (Springer London London, 2006), p. 144.
- [30] National Cancer Institute, in *Anatomical Terminology* (<https://training.seer.cancer.gov/anatomy/body/terminology.html>, Viitattu 25.5, 2022).
- [31] J. Blackwell *et al.*, *Journal of Magnetic Resonance Imaging* **55**, 389 (2022).
- [32] Profound Medical, in *Temperature Mapping Artifacts Sonalleve MR-HIFU uterine therapy* (Profound Medical, 2015).
- [33] R. Boukherroub *et al.*, *Chemistry of Materials* **13**, 2002 (2001).
- [34] T. Jalkanen *et al.*, *ACS Applied Materials and Interfaces* **6**, 2884 (2014).
- [35] E. Stride ja N. Saffari, *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers. Part H, Journal of engineering in medicine* **217**, 429 (2003).
- [36] Y. Chen *et al.*, *International Journal of Hyperthermia* **34**, 1311 (2018).
- [37] W. K. Chong, V. Papadopoulou ja P. A. Dayton, *Abdominal Radiology* **43**, 762 (2018).
- [38] L. M. Bimbo *et al.*, *ACS Nano* **4**, 3023 (2010).
- [39] J. Salonen, M. Björkqvist, E. Laine ja L. Niinistö, *Applied Surface Science* **225**, 389 (2004).
- [40] J. Riikonen *et al.*, *Journal of Physical Chemistry C* **119**, 19272 (2015).
- [41] E. Mäkilä *et al.*, *ACS Nano* **13**, 13056 (2019).
- [42] Q. Shabir *et al.*, *Silicon* 2017 10:2 **10**, 349 (2017).