

การแยกส่วนประกอบภายในแผ่นไขมัน โรคหลอดเลือดแดงคาโรติดด้วย ด้วยเทคนิค T2 mapping จากภาพคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า

Classification of carotid atherosclerotic plaque components using T2 mapping technique from magnetic resonance imaging

■ สราณัฐ จันทร์เพ็ญมงคล¹ กิตติชัย วรธนะจิตติกุล² กิตติพันธ์ ฤกษ์เกษม^{3,4}
Sranut Chunpenmongkol¹ Kittichai Wantanajittikul² Kittipan Rerkasem^{3,4}
ชรินทร์ ยาอินทร์⁵ สุวิทย์ แซ่โค้ว^{1,2*}
Charin Ya-in⁵ Suwit Saekho^{1,2*}

¹ภาควิชารังสีเทคนิค คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

²ศูนย์วิศวกรรมชีวการแพทย์ คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

³ภาควิชาศัลยศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

⁴สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สุขภาพ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

⁵ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

* ผู้รับผิดชอบบทความ (Email: saekho@yahoo.com)

Received November 2013

Accepted as revised December 2013

Abstract

Introduction: Vulnerable plaque or soft plaque potentially increases risk of stroke. Accurate plaque characterization is a demand for treatments. To date, magnetic resonance imaging (MRI) using multi-weighted images, T1 weighted (T1W), T2 weighted (T2E), and proton density weighted (PDW), is one of the best available tools. Due to the spin-spin relaxation property, different tissues reveal differences of T2s. We proposed T2 mapping for analysis plaque components, and to examine the possibility of using T2 mapping for carotid atherosclerotic plaque characterization.

Materials and methods: The 1.5 Tesla Philips, Acheiva Nova Dual, MRI scanner was employed to this study. T2 mapping images of a phantom made from 4 types of tissues were compared with T1W, T2W, and PDW images in term of accuracy. The comparisons were also performed on 4 different specimens and 8 volunteers diagnosed with carotid atherosclerosis. Axial images were acquired along the length of the phantoms with a scanning protocol including Spin echo-multi-echoes pulse sequence at 8 echo time (8TEs) from 15 ms. to 120 ms, inter-echo time 15 ms, field of view (FOV) 140x140 mm., matrix size 200x219, flip angle 90 degree, number of signal average (NSAs) 4, repetition time (TR) 1,333 ms, and slice thickness 3 mm. For the 8 human volunteers, axial images were acquired at the narrowest stenosis of the carotid artery with a scanning protocol slightly modified from that of the phantoms to suit for human scanning. The axial images from the 8 TE were fit for T2 in each pixel with a simple mono-exponential model for generating T2 mapping. The accuracy of the images at the same location between the T2 mapping and the 3 weighted images were compared.

Results: The results from 4 known types of tissues showed that 4 major groups of tissues were classified with T2 mapping. Each group of the classification has a frequency over 60% of the maximum frequency, while T1W, T2W and PDW images were classified with intensity contrast into 2, 2 and 3 groups, respectively. However, the study in the specimen phantoms and the human volunteers were not validated due to little concordance of slice location between the images and those of the pathology section.

Conclusions: The T2 mapping showed more accurate classification in known types of tissue phantom compared to those of the T1W, T2W and PDW. However, the study in humans may need further study.

Bull Chiang Mai Assoc Med Sci 2014; 47(1): 37-44

Keywords: atherosclerotic plaque, plaque characterization, soft plaque, vulnerable plaque, T2 mapping

บทคัดย่อ

บทนำ: แผ่นไขมันชนิดอ่อน (vulnerable plaque) มีความเสี่ยงสูงที่ทำให้เกิดโรคหลอดเลือดสมอง (stroke) ความถูกต้องในการแยกประเภทแผ่นไขมันจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งต่อการรักษา ปัจจุบันการวินิจฉัยโดยใช้ภาพเอ็มอาร์ ด้วยภาพน้ำหนัก T1, T2 และ proton density เป็นวิธีที่ดีที่สุดวิธีหนึ่ง เนื่องจากเนื้อเยื่อต่างชนิดกันมีคุณสมบัติของ T2 relaxation ต่างกัน ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงได้เสนอการใช้ภาพแผนที่ค่า T2 ในการวิเคราะห์หาส่วนประกอบของแผ่นไขมันและเพื่อศึกษาถึงความเป็นไปได้ในการใช้ภาพแผนที่ค่า T2 (T2 mapping) เพื่อจำแนกส่วนประกอบภายในแผ่นไขมันในผู้ป่วยโรคหลอดเลือดแดงคาโรติดแข็งตัวจากแผ่นไขมัน (carotid atherosclerotic plaque)

วัสดุและวิธีการวิจัย: ใช้เครื่องตรวจคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า 1.5 เทสลา (1.5 Tesla, Achieva nova dual Philips) สร้างภาพแผนที่ค่า T2 เปรียบเทียบกับภาพ T1 weighted (T1W), T2 weighted (T2W) และ Proton Density Weighted (PDW) จากหุ่นจำลองที่สร้างขึ้นจากเนื้อเยื่อ 4 ชนิด หุ่นจำลองตัวอย่างสังเคราะห์ของแผ่นไขมันจำนวน 4 ตัวอย่างและในอาสาสมัครที่ป่วยเป็นโรคหลอดเลือดแดงคาโรติดแข็งตัวจากแผ่นไขมัน (carotid atherosclerotic plaque) จำนวน 8 ราย ทำการสร้างภาพตามระนาบตัดขวางตลอดความยาวของหุ่นจำลองทั้งสองชนิดด้วยเทคนิคแบบ spin echo-multi-echoes pulse sequence ที่ 8 echo time (8 TEs) ตั้งแต่ 15 มิลลิวินาที ถึง 120 มิลลิวินาที เวลาระหว่างแต่ละเอคโคเท่ากับ 15 มิลลิวินาที พื้นที่การมองเห็น (field of view, FOV) 140x140 มิลลิเมตร ความละเอียดภาพ (matrix size) 200x219 มุมของการกระตุ้นแม่เหล็ก (flip angle) 90 องศา เก็บสัญญาณเพื่อนำมาเฉลี่ยสี่ครั้ง (4 number of signal average, NSAs) เวลาในการกระตุ้นซ้ำ (repetition time, TR) 1,333 มิลลิวินาที และความหนาของสไลด์ (slice thickness) 3 มิลลิเมตร ในอาสาสมัครทั้ง 8 ราย สร้างภาพตามระนาบตัดขวางของหลอดเลือดแดงคาโรติดบริเวณที่มีการตีตันจากแผ่นไขมัน ด้วยเทคนิคที่ใกล้เคียงกันโดยปรับเพียงบางพารามิเตอร์ให้เหมาะสมกับการศึกษาในมนุษย์ นำภาพตามระนาบตัดขวางที่ได้จาก 8 TEs มาฟิตเคอร์ฟ (curve-fitting) ในแบบ simple mono-exponential เพื่อสร้างแผนที่ค่า T2 โดยการแทนค่า T2 ในทุกๆ พิกเซลบนภาพที่ได้จากการฟิตเคอร์ฟและนำภาพแผนที่ค่า T2 ที่ได้ไปเปรียบเทียบกับความถูกต้องกับภาพทั้ง 3 weighted images ที่ตำแหน่งเดียวกัน

ผลการวิจัย: ผลการศึกษาในหุ่นจำลองที่มีเนื้อเยื่อ 4 ชนิด พบว่าภาพแผนที่ค่า T2 สามารถจำแนกชนิดเนื้อเยื่อออกได้เป็น 4 กลุ่มใหญ่โดยที่แต่ละกลุ่มมีค่าความถี่เกิน 60 เปอร์เซ็นต์ของความถี่สูงสุดในขณะที่ภาพ T1W และ T2W ค่าความเข้มของพิกเซลบนภาพจำแนกชนิดเนื้อเยื่อออกได้เพียง 2 กลุ่มที่ค่าความถี่เกิน 60 เปอร์เซ็นต์ของความถี่สูงสุด และ PDW จำแนกชนิดเนื้อเยื่อออกได้เป็น 3 กลุ่ม แต่การศึกษาในหุ่นจำลองตัวอย่างสังเคราะห์และในอาสาสมัครผลขึ้นเนื้อและภาพเอ็มอาร์เป็นคนละตำแหน่งกันจึงไม่สามารถยืนยันความถูกต้องของเทคนิคได้

สรุปผล: การจำแนกชนิดของเนื้อเยื่อด้วยภาพแผนที่ค่า T2 มีความถูกต้องกว่าการใช้ภาพจาก 3 weighted images จากการศึกษาในหุ่นจำลองที่ทราบชนิดของเนื้อเยื่อ แต่ในอาสาสมัครที่เป็นผู้ป่วยจริงควรได้รับการศึกษาเพิ่มเติม

วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ 2557; 47(1): 37-44

คำรหัส: atherosclerotic plaque, plaque characterization, soft plaque, vulnerable plaque, T2 mapping

บทนำ

โรคหลอดเลือดแดงแข็งตัวจากแผ่นไขมัน (plaque)¹ ซึ่งภายในอาจประกอบด้วยไขมัน เลือด หรือ หินปูนส่วนใหญ่มักเกิดกับหลอดเลือดแดงคาโรติด (carotid artery) บริเวณพื้นผิวภายในแผ่นไขมันอาจเป็นได้ทั้งแผ่นไขมันชนิดอ่อน (vulnerable plaque)²⁻⁴ และแผ่นไขมันชนิดแข็ง (burden plaque)^{5,6} แผ่นไขมันชนิดแข็งเกิดจากการสะสมของไขมันในผนังหลอดเลือดจนกลายเป็นหินปูนแคลเซียม (calcification) ทำให้หลอดเลือดตีบตันและมีความเสี่ยงน้อยในการพัฒนาสู่การเป็นโรคหลอดเลือดสมองขาดเลือด ในขณะที่แผ่นไขมันชนิดอ่อน (vulnerable plaque) ซึ่งประกอบด้วยแผ่นไขมันที่มีแกนกลางเน่าตาย (lipid rich necrotic core, LRNC) เม็ดเลือด

แดงที่แทรกซึมในแผ่นไขมัน (intraplaque hemorrhage) และ dense fibrous tissue เป็นต้น แผ่นไขมันชนิดนี้เป็นชนิดที่มีอันตรายและมีความเสี่ยงสูงที่จะเกิดการปริแตกและเป็นสาเหตุของการอุดตันของหลอดเลือดโดยฉับพลันและเกิดโรคต่างๆ ตามมาได้ เช่น โรคหลอดเลือดสมองขาดเลือด ตาบอดชั่วคราว อัมพาต เป็นต้น⁷⁻¹² ดังนั้น การตรวจหาส่วนประกอบภายในแผ่นไขมันชนิดอ่อนจึงมีประโยชน์ต่อผู้ป่วยและการวางแผนการรักษาของแพทย์อย่างมาก เครื่องมือที่ใช้ในการตรวจหาการอุดตันของหลอดเลือดจากแผ่นไขมันในปัจจุบัน ได้แก่ เครื่องอัลตราซาวด์ (ultrasound, U/S) เครื่องเอกซเรย์คอมพิวเตอร์ (computed tomography, CT) และเครื่องเอกซเรย์ระบบหลอดเลือด (digital subtraction angiography,

DSA) แต่เครื่องมือดังกล่าวยังไม่สามารถที่จำแนกชนิดของแผ่นไขมันได้อย่างชัดเจนเนื่องจากมีข้อจำกัดในการแยกความแตกต่างของเนื้อเยื่อที่มีความแตกต่างกันเพียงเล็กน้อย เช่นไม่สามารถแยกความแตกต่างระหว่าง fibrous และ fatty plaque ได้³⁻¹⁶ ปัจจุบันการตรวจวินิจฉัยเพื่อแยกชนิดของแผ่นไขมันสามารถทำได้ด้วยเครื่องตรวจคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า (MRI) โดยแพทย์ผู้แปลผลต้องอาศัยรายละเอียดจากภาพในหลายๆ น้ำหนัก (multiple contrast weighted images) ประกอบการวินิจฉัยจึงจะสามารถจำแนกชนิดของแผ่นไขมันได้¹⁷⁻²² และเทคนิคนี้ต้องอาศัยความชำนาญของแพทย์ผู้แปลผลและมักเป็นภาพที่ได้จากเครื่องตรวจคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าความแรงของสนามแม่เหล็กสูงระดับ 3 เทสลา (tesla) ขึ้นไป เนื่องจากสามารถสร้างภาพที่ให้อายุละเอียดสูง (high resolution contrast) ได้^{17,23-25} จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าแผ่นไขมันชนิดที่มีความซับซ้อน (complex mixture plaque) ไม่สามารถวินิจฉัยเพื่อจำแนกประเภทของแผ่นไขมันได้ซึ่งเป็นปัญหาที่สำคัญ^{21,26,27} คณะผู้วิจัยจึงมีความสนใจศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้เครื่องตรวจคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าขนาด 1.5 เทสลา ซึ่งเป็นเครื่องมือที่ใช้ในระดับการตรวจทางคลินิกที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย โดยการศึกษาได้เสนอเทคนิคใหม่เพื่อจำแนกองค์ประกอบภายในแผ่นไขมันโดยการสร้างภาพแผนที่ค่า T2 (T2 mapping) ในทุกๆ พิกเซลบนภาพ โดยอาศัยหลักการที่ว่าค่า T2 เป็นคุณสมบัติเฉพาะของเนื้อเยื่อแต่ละชนิดที่มีจำนวนของโปรตอนดำรงอยู่โดยเนื้อเยื่อต่างชนิดกันมีค่า T2 ต่างกัน เช่น lipid core, fibrous cap เนื้อเยื่อปกติ (normal tissue) และแคลเซียม (calcium) มีค่า T2 เท่ากับ 28.1 ± 5.9 มิลลิวินาที 51.2 ± 9.6 มิลลิวินาที 48.2 ± 7.4 มิลลิวินาที และ 52 ± 21 มิลลิวินาที ตามลำดับ^{28,29} ดังนั้นภาพแผนที่ค่า T2 ของแผ่นไขมันจึงน่าจะเป็นไปได้ในการจำแนกชนิดขององค์ประกอบภายในแผ่นไขมัน ซึ่งแตกต่างจากวิธีเดิมที่อาศัยความเปรียบต่างจากความเข้มของสัญญาณบนภาพ (image intensity contrast) ในการวินิจฉัยและการวินิจฉัยต้องอาศัยภาพจากหลายน้ำหนักมาประกอบกัน ดังนั้น หากภาพใดภาพหนึ่งเกิดความบกพร่อง (artifact) อาจทำให้การวินิจฉัยเป็นไปได้ยาก

วัสดุและวิธีการ

งานวิจัยนี้ ได้ทำการศึกษาทั้งกับหุ่นจำลองที่สร้างขึ้นและทราบชนิดของเนื้อเยื่อ หุ่นจำลองตัวอย่างสิ่งส่งตรวจของแผ่นไขมัน (carotid endarterectomy, CEA) และศึกษากับอาสาสมัครที่ได้รับการวินิจฉัยจากแพทย์ว่าป่วยเป็นโรคหลอดเลือดแข็งตัวจากแผ่นไขมัน (carotid atherosclerotic plaque) จากการประเมินในเบื้องต้นด้วยเครื่องอัลตราซาวด์ และผลการตรวจทางคลินิกอื่นๆ เช่น ทดสอบการมองเห็นของผู้ป่วย การพูด การทรงตัว เป็นต้น ทำการศึกษาโดยใช้เครื่องตรวจคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าขนาด 1.5 เทสลา (Achieva nova dual 1.5 Tesla, Philips, Netherlands) ศึกษาทั้งหุ่นจำลองโดยใช้ชุดตรวจรับสัญญาณแบบ SENSE knee coil 4 elements ด้วยเทคนิค

การสร้างภาพ spin echo multi-echoes pulse sequence และทำการศึกษาทั้งอาสาสมัครใช้ชุดตรวจรับสัญญาณแบบ SENSE neuro vascular phase array coil 16 elements ด้วยเทคนิคการสร้างภาพ black blood spin echo multi-echo pulse sequence วิเคราะห์ข้อมูลเพื่อสร้างภาพแผนที่ค่า T2 ด้วยโปรแกรมที่พัฒนาขึ้นเองจากโปรแกรม Matlab version 7.9.0

การศึกษาในหุ่นจำลอง (phantom study)

ศึกษากับหุ่นจำลองที่ทราบชนิดเนื้อเยื่อที่สร้างขึ้นจากเนื้อเยื่อ 4 ชนิดของหมู ประกอบด้วยส่วนของเนื้อหมูที่ไม่มีไขมันซึ่งใช้เป็นตัวแทน เนื้อเยื่อปกติ (normal tissues) ส่วนของไขมัน (fat) ใช้เป็นตัวแทน lipid ส่วนของกระดูกอ่อน (cartilage) ใช้เป็นตัวแทนหินปูนแคลเซียม (calcification) และส่วนของเลือด (blood clots) ใช้เป็นตัวแทน hemorrhage ที่เกิดจากการปริแตกของแผ่นไขมัน (plaque rupture) โดยบรรจุเนื้อเยื่อทั้ง 4 ชนิด ในหลอดดูดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 เซนติเมตร สูง 4 เซนติเมตร ในปริมาณที่ใกล้เคียงกัน และแช่ในภาชนะที่บรรจุน้ำที่มีขนาดกว้าง 18 เซนติเมตร ยาว 18 เซนติเมตร และสูง 12 เซนติเมตร ที่ปิดสนิท นอกจากนี้สร้างหุ่นจำลองที่มาจากตัวอย่างสิ่งส่งตรวจของแผ่นไขมัน (CEA) จากทั้งหมด 4 ตัวอย่าง ที่ได้หลังการผ่าตัดจากผู้ป่วยโรคหลอดเลือดแดงคาโรติดแข็งตัวจากแผ่นไขมันโดย พันชิ้นเนื้อสิ่งส่งตรวจรอบหลอดดูดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร สูง 10 เซนติเมตร และตรึงตำแหน่งของชิ้นเนื้อสิ่งส่งตรวจด้วยเชือกกับหลอดดูดเพื่อป้องกันการเคลื่อนที่ระหว่างทำการศึกษาแล้วนำไปใส่ในหลอดพลาสติกทรงกระบอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 เซนติเมตร สูง 12 เซนติเมตร แล้วเติมน้ำยารักษาสภาพ บัฟเฟอร์ฟอร์มาลินความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ (10% neutral buffered formalin, NBF)^{30,31} เพื่อเป็นการรักษาสภาพของแผ่นไขมันให้มีความสมบูรณ์ตลอดเวลาที่ทำการศึกษาแล้วนำไปแช่ในภาชนะที่บรรจุน้ำขนาดกว้าง 18 เซนติเมตร ยาว 18 เซนติเมตร และสูง 12 เซนติเมตร ที่ปิดสนิท ทำการสร้างภาพตามระนาบตัดขวาง (cross-sections) ตลอดความยาวของหุ่นจำลองทั้งสองชนิด ด้วยเทคนิคการสร้างภาพแบบ spin echo-multi-echoes pulse sequence ด้วยพารามิเตอร์ดังต่อไปนี้ 8 เอคโค (8 echoes times, 8 TEs) ตั้งแต่ 15 มิลลิวินาที ถึง 120 มิลลิวินาที เวลาระหว่างแต่ละเอคโคเท่ากับ 15 มิลลิวินาที พื้นที่การมองเห็น (field of view, FOV) 140x140 มิลลิเมตร ความละเอียดภาพ (matrix size) 200x219 มุมของการกระตุ้นแม่เหล็ก (flip angle) 90 องศา เก็บสัญญาณเพื่อนำมาเฉลี่ยสี่ครั้ง (4 number of signal average, NSAs) เวลาในการกระตุ้นซ้ำ (repetition time, TR) 1,333 มิลลิวินาที และความหนาของสไลด์ (slice thickness) 3 มิลลิเมตร นำภาพที่ได้จากการสร้างภาพตามระนาบตัดขวางมาวาดบริเวณที่สนใจ (region of interest, ROIs) เพื่อแทนที่ค่า T2 ในภาพแผนที่ค่า T2 โดยการฟิตเคิร์ฟ (curve-fitting) แบบ simple mono-exponential

ดั่งสมการที่ 1 และนำภาพแผนที่ค่า T2 เปรียบเทียบกับภาพ multiple contrast weighted images ที่ตำแหน่งเดียวกัน

$$SI = \rho_0 \cdot \exp \frac{-TE}{T2} \quad (1)$$

- S1 คือ ความเข้มของสัญญาณภาพ (image signal intensity) ที่เวลา TE ใดๆ
- P_0 คือ ค่าคงที่ หรือ ความเข้มของสัญญาณภาพ ที่เวลา TE = 0
- TE คือ ช่วงเวลาที่ทำการกระตุ้นจนเกิดเอคโค่ใดๆ (echo time, มิลลิวินาที)
- T2 คือ ช่วงเวลาผ่อนคลายเนื้อเยื่อ (relaxation time, มิลลิวินาที)

กระบวนการทางพยาธิวิทยา (histology processing)

นำตัวอย่างสิ่งส่งตรวจของแผ่นไขมันที่ได้หลังการผ่าตัดทั้งหมด 4 ตัวอย่างแช่ในบัฟเฟอร์ฟอร์มาลินความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ (NBF) ให้ท่วมชิ้นเนื้อ พยาธิแพทย์พิจารณาตัวอย่างสิ่งส่งตรวจด้วยตาเปล่าเพื่อประเมินพยาธิสภาพโดยทั่วๆ ไปของตัวอย่างสิ่งส่งตรวจ หลังจากนั้นวัดขนาดของตัวอย่างสิ่งส่งตรวจ แล้วตัดตัวอย่างออกเป็นชิ้น (section) มีความหนาชิ้นละ 3-4 มิลลิเมตร ตลอดความยาวของตัวอย่างสิ่งส่งตรวจ เพื่อให้สอดคล้องกับชิ้นความหนาที่ได้จากภาพเครื่องตรวจคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า (ความหนา 3 มิลลิเมตร) และตรึงตัวอย่างสิ่งส่งตรวจด้วย paraffin bloc ย้อมสีด้วย hematoxyline-eosin และทำ serial section ทุก 5 ไมโครเมตร ที่ตำแหน่งเดียวกันกับภาพเครื่องตรวจคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า

การศึกษาในอาสาสมัคร (human subject study)

ทำการศึกษากับอาสาสมัครที่เป็นโรคหลอดเลือดแดงคาโรติดแข็งตัวจากแผ่นไขมัน จำนวน 8 ราย ประกอบด้วย เพศหญิง 4 ราย เพศชาย 4 ราย อายุระหว่าง 48-76 ปี อาสาสมัครที่เข้าร่วมการวิจัยต้องไม่มีข้อห้ามสำหรับการตรวจด้วยเครื่องตรวจคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าและรับทราบถึงความเสี่ยงในการตรวจพร้อมเซ็นยินยอมเข้าร่วมในการศึกษา การศึกษานี้ได้ผ่านการรับรองจากคณะกรรมการจริยธรรมเพื่อการวิจัย

คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ โดยสร้างภาพตามระนาบตัดขวางบริเวณหลอดเลือดแดงคาโรติดแข็งตัวจากแผ่นไขมัน ด้วยเทคนิคแบบ black blood spin echo multi-echo pulse sequence ใช้พารามิเตอร์ส่วนใหญ่เหมือนกับการศึกษาในหุ่นจำลองยกเว้น FOV 180x140 มิลลิเมตร matrix size 180x132, NSA 2 และความหนาของสไลด์ 5 มิลลิเมตร ภาพที่ได้จากการสร้างภาพตามระนาบตัดขวางของหลอดเลือดแดงคาโรติดแข็งตัวจากแผ่นไขมันโดยเลือกกึ่งกลางของบริเวณที่มีการตีบตันมากที่สุด³²⁻³⁵ มาใช้วาดบริเวณที่สนใจ (region of interest, ROI) เพื่อสร้างภาพแผนที่ค่า T2

การสร้างภาพแผนที่ค่า T2

นำข้อมูลภาพตามระนาบตัดขวาง (axial plane) ของภาพทั้ง 8 TEs มาฟิตเคอร์ฟในรูปแบบ simple mono-exponential model ดั่งสมการที่ (1) เพื่อคำนวณหาค่า T2 ทุกๆ พิกเซลบนภาพ ภายในบริเวณที่สนใจบนภาพและแทนที่ค่า T2 ที่คำนวณได้ในภาพแผนที่ค่า T2

การวิเคราะห์เพื่อแยกชนิดเนื้อเยื่อด้วย histogram จากภาพแผนที่ค่า T2

นำภาพแผนที่ค่า T2 ของหุ่นจำลองที่ทราบชนิดเนื้อเยื่อทั้ง 4 ชนิดมาเลือกบริเวณที่สนใจ สร้าง histogram จากบริเวณที่เลือกเพื่อจำแนกชนิดเนื้อเยื่อจากค่า T2 ด้วยโปรแกรม GraphPad Prism4 จากรูปที่ 1A เนื้อเยื่อทั้ง 4 ชนิดมีสัดส่วนที่ใกล้เคียงกัน สัดส่วนของเนื้อเยื่อแต่ละชนิดสามารถประมาณได้ว่าเป็น 25 เปอร์เซ็นต์ของเนื้อเยื่อทั้งหมด (25% frequency fraction) ดังนั้นหากการแยกเนื้อเยื่อด้วยเทคนิคนี้สมบูรณ์ histogram ควรมีค่า T2 ในบริเวณที่เลือกเพียง 4 กลุ่ม โดยแต่ละกลุ่มมีค่า %frequency fraction ใกล้เคียงกันและไม่ควรมีค่า T2 ของเนื้อเยื่อชนิดไหนมี frequency fraction เกิน 25 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นในการแบ่งกลุ่มของข้อมูลจึงกำหนดให้ค่า 25 %frequency fraction เป็นค่าสูงสุดของข้อมูลบน histogram และพิจารณาว่าข้อมูลสามารถได้ถูกแบ่งเป็นกี่กลุ่ม

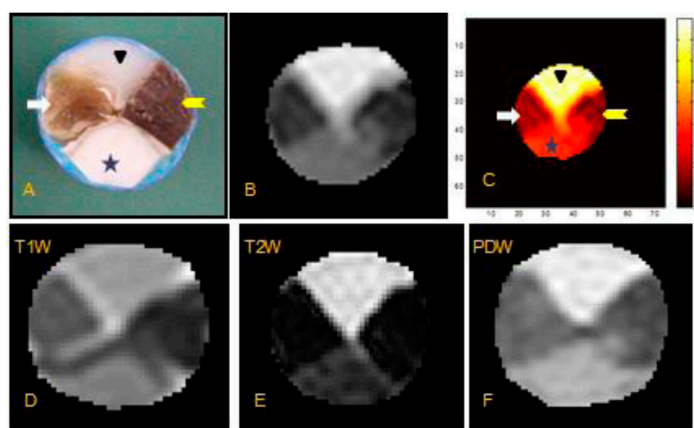


Figure 1 Cross sectional image of a tissue phantom (A) including fat (upper middle), cartilage (lower middle), clot blood (ribbon arrow), and red meat pork (white arrow) is compared with T2 mapping images displayed in gray scale (B) and color mapping (C), T1W (D), T2W (E), and PDW (F).

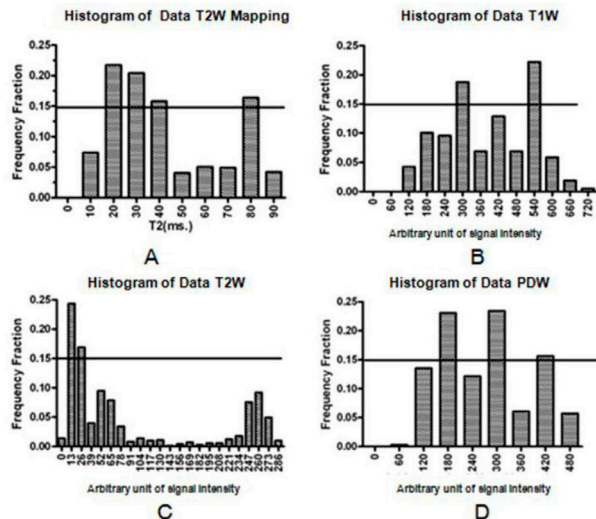


Figure 2 The phantom images from figure 1 were analyzed by histograms. T2 mapping (A) shows that 4 groups of data have frequency fraction over 60% of the maximum possible. T1W (B) and T2W (C) demonstrate that only 2 groups have frequency fraction over 60%, while the histogram of PDW (D) shows that 3 groups have frequency fraction over 60%.

ผลการศึกษา

ผลการศึกษาในหุ่นจำลอง

รูปที่ 1A เป็นภาพถ่ายภาคตัดขวางของหุ่นจำลองที่สร้างขึ้นจากเนื้อเยื่อ 4 ชนิด รูปที่ 1B และ 1C เป็นภาพแผนที่ค่า T2 ที่แสดงในแบบขาว-ดำและสี ตามลำดับ เปรียบเทียบกับรูปที่ 1D ถึง 1F เป็นภาพที่ได้จากเทคนิคการสร้างภาพทั่วไปที่เป็น intensity mapping โดยน้ำหนักของภาพเรียงตามลำดับดังนี้ T1 weighted (T1W), T2 weighted (T2W) และ proton density weighted (PDW) จากการสังเกตด้วยตา พบว่าความแตกต่างของความเข้มบนภาพจากภาพแผนที่ค่า T2 (รูปที่ 1B) ไม่ได้แยกความแตกต่างของเนื้อเยื่อทั้ง 4 ชนิด ได้มากกว่าภาพ T1W (รูปที่ 1D) และภาพ PDW (รูปที่ 1F) แต่เมื่อพิจารณาจากข้อมูลดิบของภาพด้วย histogram ดังรูปที่ 2 พบว่าภาพแผนที่ค่า T2 (รูปที่ 2A) สามารถแยกชนิดของเนื้อเยื่อตามค่า T2 ได้ 9 กลุ่ม แต่มี 4 กลุ่มที่มีสัดส่วนมากกว่า 60% ของปริมาณที่มากที่สุดที่เป็นไปได้ ในขณะที่ภาพ T1W, T2W และ PDW histogram แยกข้อมูลตามค่าความเข้มของ

สัญญาณภาพในแต่ละ pixel ออกได้เป็น 11 กลุ่ม 23 กลุ่ม และ 8 กลุ่ม ตามลำดับ โดยที่ข้อมูลภาพ T1W มีเพียง 2 กลุ่มเท่านั้นที่มีสัดส่วนมากกว่า 60% ของปริมาณที่มากที่สุดที่เป็นไปได้ ในทำนองเดียวกันข้อมูลภาพ T2W และ PDW มีเพียง 2 กลุ่ม และ 3 กลุ่ม ตามลำดับ ที่มีสัดส่วนมากกว่า 60% ของปริมาณที่มากที่สุดที่เป็นไปได้และเมื่อทำการวัดค่า T2 ของเนื้อเยื่อทั้ง 4 ชนิดได้ค่า T2 ในแต่ละบริเวณดังนี้ ไขมัน T2 = 80.3 ± 2.4 มิลลิวินาที เลือดมีค่า T2 = 21.3 ± 6.7 มิลลิวินาที กระดูกอ่อนมีค่า T2 = 37.9 ± 1.4 มิลลิวินาที และเนื้อที่ไม่มีไขมันมีค่า T2 = 18.6 ± 2.1 มิลลิวินาที ซึ่งสอดคล้องกับ histogram ทั้ง 4 กลุ่มที่มีสัดส่วนมากกว่า 60% ของปริมาณที่มากที่สุดที่เป็นไปได้

รูปที่ 3 แสดงตัวอย่างภาพชั้นเนื้อจากตัวอย่างสิ่งส่งตรวจ (รูปที่ 3A) เทียบกับภาพแผนที่ค่า T2 ที่แสดงในแบบขาว-ดำ (รูปที่ 3B) และแบบสี (รูปที่ 3C) ตามลำดับ และภาพ T1W (รูปที่ 3D), T2W (รูปที่ 3E) และ PDW (รูปที่ 3F) เนื่องจาก

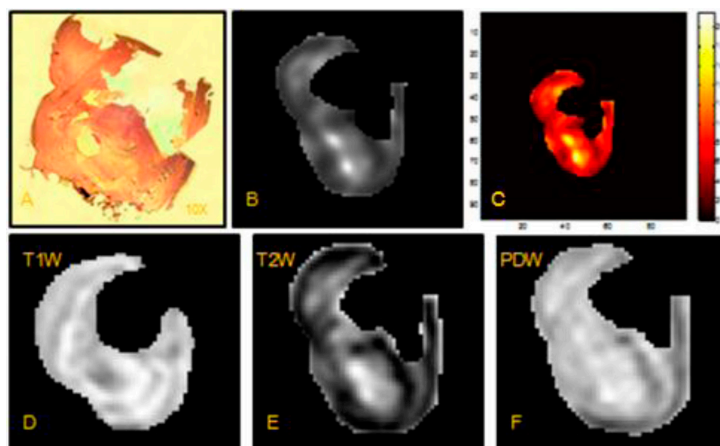


Figure 3 An example of histology image of carotid plaque specimen (A). MR images acquired at identical location but different data acquisition techniques, T2 mapping (B and C), T1W (D) T2W (E), and PDW (F).

ภาพชั้นเนื้อมืดตำแหน่งไม่ตรงกับภาพที่ได้จากภาพเอ็มอาร์อีก ทั้งผลชั้นเนื้อไม่สามารถระบุชนิดและสัดส่วนที่แน่นอนของ เนื้อเยื่อได้จึงไม่สามารถใช้ histogram ช่วยในการวิเคราะห์เพื่อ ตรวจสอบความถูกต้องได้

ผลการศึกษาในอาสาสมัคร

ทำนองเดียวกับผลจากตัวอย่างสิ่งส่งตรวจ เนื่องจาก ตำแหน่งของชั้นเนื้อที่ตัดเพื่อการตรวจทางพยาธิไม่ตรงกับ ตำแหน่งของภาพเอ็มอาร์ที่ได้ อีกทั้งผลพยาธิไม่สามารถระบุ ชนิดและปริมาณของเนื้อเยื่อแต่ละชนิดได้จึงไม่สามารถตรวจสอบความถูกต้องของเทคนิคจากภาพเอ็มอาร์ด้วยการ วิเคราะห์จาก histogram ได้ เหมือนในหุ่นจำลองที่สร้างขึ้นซึ่ง ทราบชนิดและปริมาณของเนื้อเยื่อ อย่างไรก็ตาม จากผลของ การศึกษาภาพแผนที่ค่า T2 ดังแสดงในรูปที่ 4A และ 4B ใน อาสาสมัครที่เป็นโรคหลอดเลือดแดงคาโรติดแข็งตัวจากแผ่น ไขมัน พบว่าภาพแผนที่ค่า T2 แยกความแตกต่างของค่า T2 ภายในได้โดยแสดงค่า T2 ที่มากและน้อยตามความเข้มหรือ สีที่แสดงบนภาพ แต่ภาพ T1W (รูปที่ 4C) ไม่สามารถแยก ความแตกต่างภายในบริเวณแผ่นไขมันได้เลย ในขณะที่ภาพ T2W (รูปที่ 4D) และภาพ PDW (รูปที่ 4E) สามารถสังเกตเห็น ความเข้มของสัญญาณที่แตกต่างกันภายในแผ่นไขมันได้แต่ การระบุว่าแต่ละตำแหน่งเป็นเนื้อเยื่อชนิดไหนจากภาพ เอ็มอาร์ดังกล่าวต้องอาศัยรังสีแพทย์ผู้มีประสบการณ์และความเชี่ยวชาญเฉพาะ

วิจารณ์ผล

การศึกษาเพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบภายในแผ่นไขมัน ด้วยภาพเอ็มอาร์โดยทั่วไปต้องใช้เครื่องตรวจคลื่นแม่เหล็ก ไฟฟ้าที่มีความแรงของสนามแม่เหล็กสูงระดับ 3 เทสลา ขึ้น ไป^{24,37} เพื่อให้การสร้างภาพมีรายละเอียดและความคมชัดสูง สามารถแยกความแตกต่างของเนื้อเยื่อที่มีความแตกต่างกัน เพียงเล็กน้อยได้ชัดเจน นอกจากนี้ แล้วการตัดสินใจ องค์ประกอบภายในแผ่นไขมันประกอบด้วยเนื้อเยื่อชนิดใด บ้างเพื่อการแยกชนิดแผ่นไขมันนั้นต้องอาศัยภาพเอ็มอาร์ อย่างน้อย 3 ภาพน้ำหนัก (3 weighted images) ซึ่งประกอบด้วย ภาพ T1W, T2W และ PDW และจำเป็นต้องได้รับการ แปลผลโดยรังสีแพทย์ผู้มีความชำนาญ^{20,21,27,37} การศึกษานี้ เป็นการศึกษานำร่องเพื่อศึกษาความเป็นได้ในการใช้เครื่อง ตรวจคลื่น แม่เหล็กไฟฟ้า 1.5 เทสลา ซึ่งเป็นเครื่องมาตรฐาน ที่ใช้ในการตรวจทางคลินิกทั่วไปในการแยกองค์ประกอบ ภายในแผ่นไขมัน โดยใช้เทคนิคการสร้างภาพแผนที่ค่า T2 แทนทุกๆ ตำแหน่งบนภาพของแผ่นไขมัน เนื่องจากค่า T2 เป็นค่าที่แสดงถึงคุณสมบัติ spin-spin interaction ของเนื้อเยื่อ แต่ละชนิดและโดยทั่วไปเนื้อเยื่อที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่และ มีการเคลื่อนไหวน้อยจะมีค่า T2 ที่สั้นเมื่อเปรียบเทียบกับ เนื้อเยื่อที่มีโมเลกุลขนาดเล็กและมีการเคลื่อนไหวมากกว่า จากผลการศึกษาในหุ่นจำลองที่ทราบชนิดของเนื้อเยื่อทั้ง 4 ชนิด จากหุ้ พบว่าภาพแผนที่ค่า T2 สามารถแยกองค์ ประกอบของเนื้อเยื่อด้วยค่า T2 ที่แตกต่างกันดังนี้ ไขมัน T2 = 80.3 ± 2.4 มิลลิวินาที เลือดที่แข็งตัว T2 = 21.3 ± 6.7 มิลลิวินาที กระดูกอ่อนมีค่า T2 = 37.9 ± 1.4 มิลลิวินาที และ เนื้อที่ไม่ใช่ไขมันมีค่า T2 = 18.6 ± 2.1 มิลลิวินาที ค่า T2 ที่ได้ จากหุ่นจำลองไม่สอดคล้องกับค่า T2 ที่ควรเป็นเนื่องจากค่า T2 ของไขมันและกระดูกอ่อนซึ่งเป็นโมเลกุลขนาดกลางและ ขนาดใหญ่ ควรมีค่า T2 ที่ค่อนข้างสั้น แต่หุ่นจำลองที่สร้างขึ้น

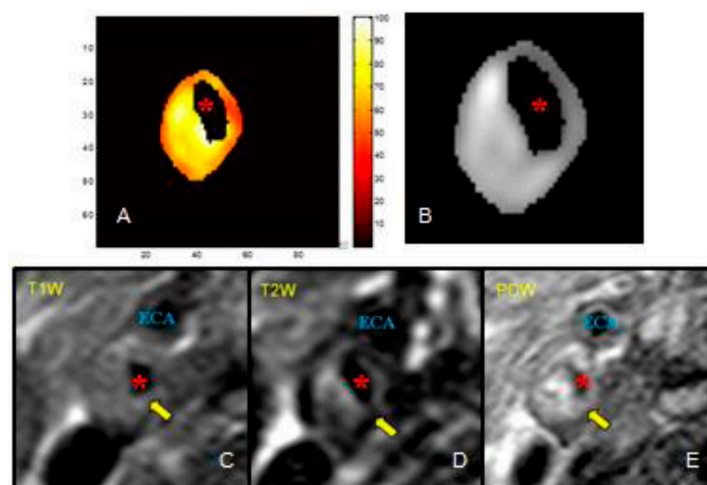


Figure 4 Example of carotid plaque imaging of a volunteer diagnosed with carotid plaque stenosis. T2 mapping (A) and (B) show differences of T2s inside the plaque by color and gray scale mapping. Different intensity inside the plaque from T1W (C) is hardly noticed. T2W (D) and PDW (E) show different intensity inside the plaque but tissue characterization requires a combination of all weighted images. Arrows indicate ICA plaque. Asterisks indicate the luminal of ICA. Annotation (ICA) Internal carotid artery, (ECA) External carotid artery, (T1W) T1 weighted image, (T2W) T2 weighted image, (PDW) Proton density weighted image

มีช่องว่างระหว่างเนื้อเยื่อ ทำให้น้ำจากภายนอกแทรกเข้าไประหว่างเนื้อเยื่อและทำให้ค่าเฉลี่ย T2 ทั้งบริเวณสูงขึ้น ในขณะที่ภาพ 3 น้ำหนัก (T1W, T2W และ PDW) แต่ละตำแหน่งบนภาพแยกกันด้วยความเข้มของสัญญาณที่มาจากต่าง pulse sequences การตัดสินใจแต่ละตำแหน่งเป็น เนื้อเยื่อชนิดไหน ต้องอาศัยข้อมูลจากภาพทั้ง 3 น้ำหนักประกอบกัน ไม่สามารถแยกชนิดเนื้อเยื่อได้จากภาพเพียง ภาพเดียวและหากภาพใด ภาพหนึ่งมีความบกพร่องอาจทำให้การแยกชนิดของเนื้อเยื่อทำได้ยาก การศึกษาในหุ่นจำลองที่สร้างจากตัวอย่างสิ่งส่งตรวจพบว่าแผนที่ภาพ T2 (รูปที่ 3B-C) แยกเนื้อเยื่อออกเป็นชนิดต่างๆ สอดคล้องกับภาพจาก 3 น้ำหนัก (รูปที่ 3D-F) แต่เมื่อเปรียบเทียบกับภาพถ่ายชิ้นเนื้อ (รูปที่ 3A) พบว่าตำแหน่งของภาพภาพถ่ายชิ้นเนื้อยังไม่ตรงกับตำแหน่งที่ได้จากภาพเอ็มอาร์ อีกทั้งผลทางพยาธิของชิ้นเนื้อไม่สามารถระบุชนิดและปริมาณของชิ้นเนื้อแต่ละชนิดได้จึงทำให้การวิเคราะห์ด้วย histogram ไม่สามารถทำได้ ทำนองเดียวกันสำหรับภาพแผนที่ T2 บริเวณตีบตันในหลอดเลือดแดงคาโรติดในผู้ป่วยสามารถแยกความแตกต่างชนิดของเนื้อเยื่อภายในแผ่นไขมัน โดยไม่มีผลทางพยาธิวิทยายืนยันความถูกต้อง ดังนั้นข้อจำกัดในการศึกษาครั้งนี้คือ ผลทางพยาธิที่ใช้เพื่อยืนยันความถูกต้องยังไม่มี อย่างไรก็ตาม ผลการศึกษาในหุ่นจำลองที่สร้างขึ้นจากเนื้อเยื่อ 4 ชนิด พบว่า แผนที่ภาพ T2 จากเครื่องตรวจคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า 1.5 เทสลา มีความเป็นไปได้ที่จะนำมาใช้ในการจำแนกองค์ประกอบภายในแผ่นไขมัน

เนื่องจากไม่มีข้อมูลค่า T2 ของเนื้อเยื่อจากหมู การเลือกช่วงของค่า TE ที่ใช้ในการเก็บข้อมูลจึงประมาณโดยใช้ TE แรก ที่สั้นที่สุดที่เป็นไปได้ และค่า TE สูงสุด ครอบคลุมช่วงค่า T2 สูงสุดของเนื้อเยื่อที่เป็นส่วนประกอบของแผ่นไขมันชนิดอ่อนในการศึกษาที่ผ่านมา^{28,29} และในการปฏิบัติกับผู้ป่วยจริง เพื่อให้การสร้างภาพแผนที่ค่า T2 สามารถเปรียบเทียบค่า T2 กับกลุ่มเนื้อเยื่อต่างๆ ได้อาจมีหุ่นจำลองขนาดเล็ก ที่มีหลายองค์ประกอบ เช่น ไขมัน น้ำ และส่วนประกอบที่แทนแคลเซียม ทำการตรวจไปพร้อมกับผู้ป่วยเพื่อนำค่า T2 ที่อ่านได้จากหุ่นจำลองไปเปรียบเทียบกับค่า T2 บนแผนที่ภาพ T2 เพื่อจำแนกชนิดเนื้อเยื่อจากแผ่นไขมันในผู้ป่วย

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากเงินงบประมาณรายได้ประจำปี 2553 ของมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ คณะผู้วิจัยขอขอบคุณอาสาสมัครที่เข้าร่วมโครงการวิจัยครั้งนี้ เจ้าหน้าที่ภาควิทยาศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ในการช่วยอำนวยความสะดวกให้คำแนะนำแก่อาสาสมัครเพื่อเข้าร่วมโครงการวิจัยและท้ายที่สุดต้องขอขอบคุณคณาจารย์ ภาควิชารังสีเทคนิค คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ทุกท่าน ผู้ซึ่งกรุณาให้ความรู้ คำแนะนำ คำปรึกษา และให้ความช่วยเหลือในหลายสิ่งหลายอย่าง ทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. Randall, A., The Origin and Growth of Renal Calculi. *Ann Surg*, 1937; 105(6): 1009-27.
2. Rudd, J.H., J.R. Davies, and P.L. Weissberg, Imaging of atherosclerosis -- can we predict plaque rupture? *Trends Cardiovasc Med*, 2005; 15(1): 17-24.
3. Shah, P.K., Mechanisms of plaque vulnerability and rupture. *J Am Coll Cardiol*, 2003. 41(4 Suppl S): 15S-22S.
4. Virmani, R., et al., Atherosclerotic plaque progression and vulnerability to rupture: angiogenesis as a source of intraplaque hemorrhage. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005; 25(10): 2054-61.
5. Bauer, R.W., et al., Noncalcified atherosclerotic plaque burden at coronary CT angiography: a better predictor of ischemia at stress myocardial perfusion imaging than calcium score and stenosis severity. *AJR Am J Roentgenol*, 2009; 193(2): 410-8.
6. Redgrave, J.N., J.K. Lovett, and P.M. Rothwell, Histological features of symptomatic carotid plaques in relation to age and smoking: the oxford plaque study. *Stroke; a journal of cerebral circulation*, 2010; 41(10): 2288-94.
7. Altaf, N., et al., Plaque hemorrhage is a marker of thromboembolic activity in patients with symptomatic carotid disease. *Radiology*, 2011; 258(2): 538-45.
8. Furlan, A.J., J.P. Whisnant, and T.P. Kearns, Unilateral visual loss in bright light. An unusual symptom of carotid artery occlusive disease. *Arch Neurol*, 1979; 36(11): 675-6.
9. Homburg, P.J., et al., Atherosclerotic plaque ulceration in the symptomatic internal carotid artery is associated with nonlacunar ischemic stroke. *Stroke; a journal of cerebral circulation*, 2010; 41(6): 1151-6.
10. Kunte, H., et al., Differences in carotid plaque content of macrophages, T cells and MMP-9 between patients with embolic and hemodynamic cerebral ischemia due to symptomatic carotid stenosis. *Atherosclerosis*, 2010; 211(2): 456-60.
11. Persoon, S., L.J. Kappelle, and C.J. Klijn, Limb-shaking transient ischaemic attacks in patients with internal carotid artery occlusion: a case-control study. *Brain : a journal of neurology*, 2010; 133(Pt 3): 915-22.

12. van Leuven, S.I., et al., Mycophenolate mofetil attenuates plaque inflammation in patients with symptomatic carotid artery stenosis. *Atherosclerosis*, 2010; 211(1): 231-6.
13. Jan, G.K., S. Patrick, and L.M.V. Bortel., Identifying the vulnerable plaque: A review of invasive and non-invasive imaging modalities. *J.artres*, 2008; 2(1): 21-34.
14. Parmar, J.P., et al., Magnetic resonance imaging of carotid atherosclerotic plaque in clinically suspected acute transient ischemic attack and acute ischemic stroke. *Circulation*, 2010; 122(20): 2031-8.
15. ten Kate, G.L., et al., Noninvasive imaging of the vulnerable atherosclerotic plaque. *Current problems in cardiology*, 2010; 35(11): 556-91.
16. Wintermark, M., et al., High-resolution CT imaging of carotid artery atherosclerotic plaques. *AJNR Am J Neuroradiol*, 2008; 29(5): 875-82.
17. Esposito, L., et al., MRI plaque imaging reveals high-risk carotid plaques especially in diabetic patients irrespective of the degree of stenosis. *BMC medical imaging*, 2010; 10: 27.
18. Esposito, L., et al., Detection of unstable carotid artery stenosis using MRI. *J Neurol*, 2007; 254(12): 1714-22.
19. Gortler, M., et al., Tissue characterisation of atherosclerotic carotid plaques by MRI. *Neuroradiology*, 1995; 37(8): 631-5.
20. Saam, T., et al., The vulnerable, or high-risk, atherosclerotic plaque: noninvasive MR imaging for characterization and assessment. *Radiology*, 2007; 244(1): 64-77.
21. Yoshida, K., et al., Characterization of carotid atherosclerosis and detection of soft plaque with use of black-blood MR imaging. *AJNR Am J Neuroradiol*, 2008; 29(5): 868-74.
22. Zhao, X., Z.E. Miller, and C. Yuan, Atherosclerotic plaque imaging by carotid MRI. *Curr Cardiol Rep*, 2009; 11(1): 70-7.
23. Maynor, C.H., et al., Chemical shift imaging of atherosclerosis at 7.0 Tesla. *Invest Radiol*, 1989; 24(1): 52-60.
24. Toussaint, J.F., et al., T2-weighted contrast for NMR characterization of human atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1995; 15(10): 1533-42.
25. Yuan, C., T. Hatsukami, and K. Beach, In vivo MR evaluation of atherosclerosis in human carotid artery using phased array coils. *J Vasc Invest*, 1996; 7: 46-47.
26. Tartari, S., et al., High-resolution MRI of carotid plaque with a neurovascular coil and contrast-enhanced MR angiography: one-stop shopping for the comprehensive assessment of carotid atherosclerosis. *AJR. American journal of roentgenology*, 2011; 196(5): 1164-71.
27. Yuan, C., et al., In vivo accuracy of multispectral magnetic resonance imaging for identifying lipid-rich necrotic cores and intraplaque hemorrhage in advanced human carotid plaques. *Circulation*, 2001; 104(17): 2051-6.
28. Toussaint, J.F., et al., Magnetic resonance images lipid, fibrous, calcified, hemorrhagic, and thrombotic components of human atherosclerosis in vivo. *Circulation*, 1996; 94(5): 932-8.
29. Rogers, W.J., et al., Characterization of signal properties in atherosclerotic plaque components by intravascular MRI. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 2000; 20(7): 1824-30.
30. Gulcan, H.G., et al., Lipids of human retina, retinal pigment epithelium, and Bruch's membrane/choroid: comparison of macular and peripheral regions. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 1993; 34(11): 3187-93.
31. Kierszenbaum, A.L., *Histology and cell biology an introduction to pathology*. 2002.
32. Osborn, A., *Diagnostic cerebral angiography: Atherosclerosis and carotid stenosis*. Second ed, Philadelphia, Lippincott William & Wilkins 1999; 359.
33. Anzalone, N., et al., Carotid artery stenosis: intraindividual correlations of 3D time-of-flight MR angiography, contrast-enhanced MR angiography, conventional DSA, and rotational angiography for detection and grading. *Radiology*, 2005; 236(1): 204-13.
34. Nederkoorn, P.J., et al., Carotid artery stenosis: accuracy of contrast-enhanced MR angiography for diagnosis. *Radiology*, 2003; 228(3): 677-82.
35. Randoux, B., et al., Carotid artery stenosis: prospective comparison of CT, three-dimensional gadolinium-enhanced MR, and conventional angiography. *Radiology*, 2001. 220(1): 179-85.
36. Balu, N., et al., Improvements in carotid plaque imaging using a new eight-element phased array coil at 3T. *J Magn Reson Imaging*, 2009; 30(5): 1209-14.
37. Yuan, C., et al., MRI of carotid atherosclerosis. *J Nucl Cardiol*, 2008; 15(2): 266-75.