

Fixatietafel voor ratten in de NMR: biotechnische assistentie op maat gaat verder dan het proefdier

Theo P.A. van den Ing, Mathieu G.J. Sommers

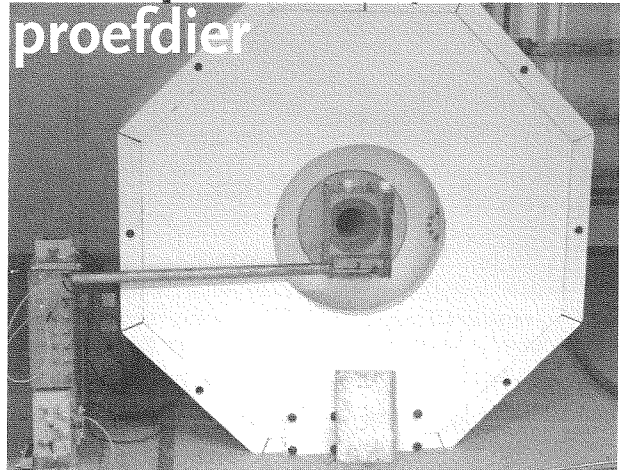
Centraal Dierenlaboratorium
UMC St Radboud, Nijmegen

Inleiding

In 1997 is het Nijmegen Center of Magnetic Resonance (NcMR) geopend, in de kelder van het CDL van het UMC St Radboud. Het NcMR heeft de beschikking over een geavanceerd NMR-systeem, speciaal bestemd voor dierexperimenteel onderzoek. (Afb 1. de NMR) Het apparaat is geschikt om afbeeldingen van het inwendige van proefdieren te maken en om non-invasief functionele metingen te verrichten, bijvoorbeeld aan metabole processen, diffusie en perfusie (contrast opname) en van zuurstofgerelateerde hersenactiviteit. Met behulp van radiogolven in combinatie met een oplopend magneetveld is het mogelijk weefsels zoals de hersenen denkbeeldig in plakken te snijden, bijvoorbeeld van 1 mm dikte.

Het 'hart' van de machine bestaat uit een horizontale 7-T-magneet, de hoogste veldsterkte voor deze toepassing in Nederland, met een bore diameter van 12 cm. Daarmee is het systeem geschikt voor experimenten aan kleine proefdieren (muis, rat, jonge cavia, marmoset) of objecten van overeenkomstig omvang.

De werking van een NMR kan worden vergeleken met die van het oog. Als wit licht op een voorwerp valt 'doet' dat voorwerp iets met dat licht: het absorbeert een deel van het spectrum en weerkaatst een ander deel, dat het oog dan weer opvangt. Aan het oog hangt een 'computer', de hersenen, die een interpretatie geven van de door het oog opgevangen signalen, waarmee het voorwerp geïdentificeerd kan worden. Eigenlijk gebeurt in de NMR hetzelfde, alleen niet met wit licht, maar met radiogolven van 300 MHz. Eenmaal



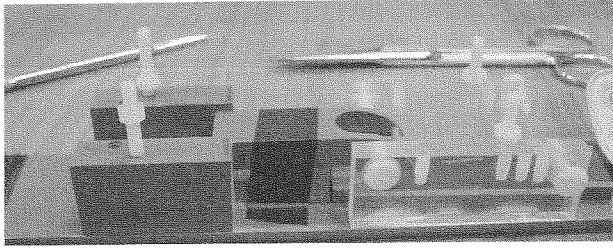
Afbeelding 1. De 7 Tesla-magneet zoals deze is geplaatst in het NcMR van het UMC St Radboud te Nijmegen.

in de magneet zendt een elektronische spoel op afroep de radiogolven uit en vangt enkele milliseconden later als een antenne de radiogolven die het weefsel 'weerkaatst' op. Het 'omvormen' van die radiogolven gebeurt binnen een sterk magnetisch veld en niet gewoon op de labtafel. De opgevangen signalen gaan naar de computer en die maakt daarvan vervolgens mooie plaatjes. Je kunt oneindig spelen met de radiopulsen die je geeft. Verandering van één kleine parameter heeft tot gevolg dat je iets totaal anders te zien krijgt.

Een van de onderzoeken waarbij gebruik wordt gemaakt van het NcMR, is een samenwerkingsproject van het Centraal Dierenlaboratorium (CDL) met de afdeling Anesthesiologie. In dit project wordt gezocht naar nieuwe parameters voor de monitoring van anes-



Afbeelding 2. Overzicht van een complete cilinder waarmee proefdieren in een specifieke opstelling in de magneet kunnen worden gebracht.



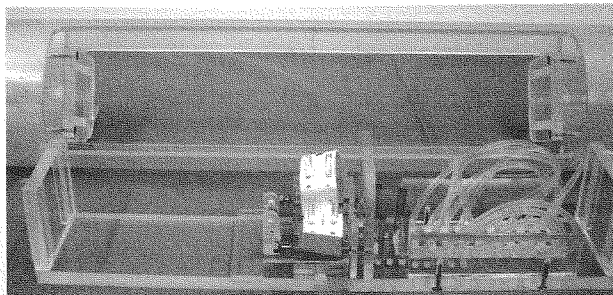
Afbeelding 3. Opstelling van het Bio Imaging Laboratorium in Antwerpen, die is gebruikt als voorbeeld voor de NcMR fixatietafel.

thesiediepte bij ratten. De gouden standaard voor anesthesiediepte is de activiteit in de hersenschors, afkomstig uit een bewerkt elektro-encefalogram (EEG). Men hoopt met functionele MRI (fMRI) in de hersenen de precieze lokalisatie van de met een EEG gemeten activiteit te vinden.

Vraagstelling

De dieren worden geplaatst in een kleine cilinder (doorsnede 12 cm) die in het midden van de magneet wordt geschoven. In deze cilinder, een soort 'houder', bevindt zich een onderzoeks-specifieke opstelling, waaronder de eerder genoemde spoel. (Afb 2. overzicht cilinder). De cilinder maakt het mogelijk om het dier goed te positioneren in drie richtingen ten opzichte van het midden van de magneet. In de opstelling is een aantal voorzieningen aangebracht om het dier goed onder narcose te houden en de narcose nauwkeurig te kunnen controleren.

Het NcMR had een opstelling voor het meten van hersenactiviteit ontwikkeld. Deze had echter onder andere als nadeel dat het veel tijd kostte om het dier in de cilinder te positioneren. Ook de fixatie in de opstelling liet te wensen over. Het Bio Imaging Laboratorium in Antwerpen, gebruikte een opstelling die dergelijke problemen kon verminderen. (Afb 3. ontwerp Antwerpen). Onze opstelling is hier op aangepast, maar voldeed nog niet volledig aan de wensen van de onderzoeker.



Afbeelding 4. Fixatietafel met daarachter de cilinder, waar de tafel via de sledeachtige constructie aan boven en onderzijde in kan zakken.

Uiteindelijk werd Theo van den Ing – ooit opgeleid tot instrumentmaker, maar uiteindelijk ruim veertig jaar als biotechnicus in dienst van het CDI – benaderd om mee te denken en te werken aan aanpassing van de opstelling, met als doelen:

- 1 Mogelijkheid om de opstelling eenvoudig in en uit de cilinder te kunnen halen, met in standhouding van het universele buitenwerk van de cilinder.
- 2 Verstelbare, goede kopfixatie onder andere aan de snijtanden van de rat, maar met de mogelijkheid om te kunnen beademen via een tube.
- 3 Betere positionering van het (achter)lichaam van de rat.

Materiaal en bewerking

Omdat de opstelling in de magneet moet worden gebracht, diende het geheel gemaakt te worden van producten die het magnetisch veld niet beïnvloeden zoals perspex en messing. De meest beperkende factor was eigenlijk het ontbreken van goede machines om dergelijke materialen professioneel te kunnen bewerken.

In de originele opstelling werd veel gebruik gemaakt van schroefbevestigingen, wat zeer bewerkelijk was. Daarbij was aan het origineel weinig verstelbaar, wat problemen opleverde bij het gebruik van ratten van verschillende grootte. Het is van groot belang dat een dier goed in de opstelling ligt: de spoel moet midden boven de kop van het dier en in het midden van de houder (en dus van de magneet) geplaatst kunnen worden.

1 Plaatsing in cilinder

Het buitenwerk van een cilinder is multifunctioneel. Dat wil zeggen dat er een standaard cilinder is waarin diverse opstellingen voor onderzoekstoepassingen geplaatst kunnen worden. Daarvoor zijn in de cilinder, zowel voor als achter, twee schroefgaten gemaakt waarop opstellingen kunnen worden bevestigd. Het was echter onhandig met een schroevendraaier te manoeuvreren als een dier eenmaal in de opstelling geplaatst was. Daarom zijn van perspex twee plaatjes gemaakt met daarin twee verticale sleuven. Die plaatjes worden in de cilinder geschroefd. Door nu de opstelling aan voor- en achterzijde te passen met een wand met twee rails, die precies passen in de bovengenoemde sleuven, kan men de opstelling na het plaatsen van de rat eenvoudigweg in de cilinder laten zakken, zonder nog te hoeven schroeven. (Afb 4. fixatietafel)

2 Fixatie van de kop

Van het Antwerpse ontwerp werd het principe van het plaatsen van de bovensnijtanden van de rat over

een staafje (een beugel zoals die ook wordt gebruikt bij stereotacten) overgenomen. De kop rustte vervolgens op een stoffen hangmatje, dat hing tussen twee wanden links en rechts naast de kop. De tandbeugel was in de lengterichting verplaatsbaar ten opzichte van deze wanden doordat deze was geplaatst op een bodemplaatje dat verschoven kon worden in sleuven onder in de wanden. Het idee was uitstekend. Nadelen waren er echter ook: bij de steun van de tandbeugel was weinig ruimte om een slang ten behoeve van beademing naar de rat te leiden en het was lastig om de tandbeugelopstelling te fixeren.

Om dat laatste probleem op te lossen werd in het midden van de zijwanden, ter hoogte van de genoemde sleuven een gat met schroefdraad getapt, waardoor het plaatje waarop de tandbeugel is geplaatst, met kunststof schroeven kan worden vastgeklemd. De tandbeugel is zodanig van ontwerp veranderd, dat er ruimte is om het dier goed te kunnen beademen.

Ook is gezorgd voor verstelbaarheid van de 'hangmat' door bandelastiek op diverse plaatsen te perforeren. Het gebruik van elastiek dient afknelling te voorkomen. Door nu aan de bovenzijde van de zijwanden op verschillende afstanden gaten te boren kan het elastiek met tapse perspex plugjes worden vastgezet op verschillende plaatsen in zowel hoogte als lengterichting. (Afb 5. kopfixatie)

Ook werd er een aanpassing voor de spoelbevestiging gedaan. De spoel wordt nu bevestigd met een brug die over de rat wordt geplaatst. Met behulp van opvulplaatjes kan ook deze nu naar gelang de grootte van de rat verder naar achter geplaatst worden.

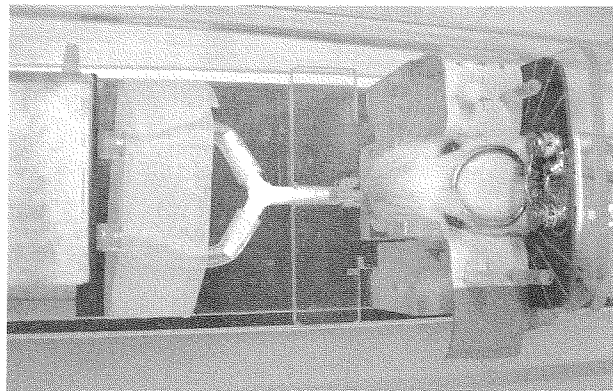
3 Positionering achterlijf

Achter de plaats voor het kopje van de rat zijn aan weerszijden om de halve cm gaatjes geboord. Met behulp van perspex palletjes bekleed met kunststof slang, kunnen daarmee, ook weer naar gelang de grootte van de rat, de schouders gefixeerd worden.

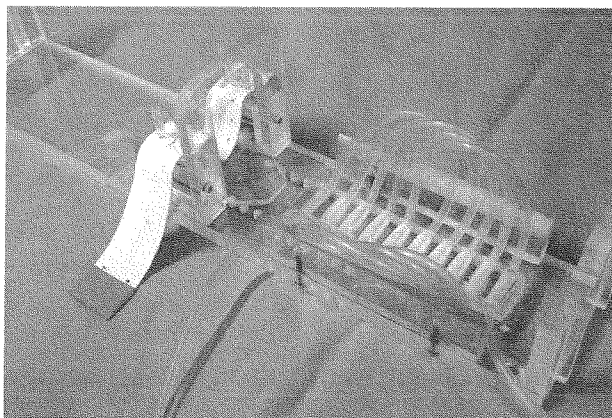
In de originele opstelling was een warmtevoorziening opgenomen middels een onder de rat heen en weer slingerende siliconenslang, waardoor (warm) water geleid kan worden. We hebben het contactoppervlak vergroot door aan de zijkanten een opstaande kant te maken. De rat ligt nu als het ware in een verwarmd hulletje. (Afb 6. warmtevoorziening)

Nawoord

De verfijning van deze opstelling is een dankbare klus voor een biotechnicus die meer geleerd heeft dan proefdierkunde alleen.



Afbeelding 5. Door een hangband van elastiek (of een elastische hangband) en een verplaatsbare tandbeugel kan de kop van de rat in alle richtingen naar wens gepositioneerd worden.



Afbeelding 6. Met lussen van siliconenslang is een gevormde en flexibele warmtevoorziening voor het onderlijf aangebracht.

In deze tijd, waarin de opleidingen tot proefdierversorger en biotechnicus tot volwaardige dagopleidingen zijn uitgegroeid, is dit soort medewerkers een uitstervend ras. Per 1 april 2002 verliet de eerste auteur het CDL wegens het bereiken van de pensioengerechtigde leeftijd.

Op de Biotechnische Dagen van datzelfde jaar heeft co-auteur Mathieu Sommers het beroepenveld deelgenomen gemaakt van het fMRI-onderzoek dat hij kan doen dank zij dit soort inventieve betrokkenen.