

Optimización de Métodos de Imagen por Resonancia Magnética para la Cuantificación de Mielina en Sustancia Blanca en un Modelo roedor de Desmielinización.

Yessenia García-Rizo, Luis Concha

Instituto de neurobiología, UNAM Campus Juriquilla, Querétaro México

Objetivo. Estandarizar un método basado en imagen por resonancia magnética y transferencia de magnetización (IRM-TM) para la evaluación de la mielina en la sustancia blanca, utilizando un modelo de desmielinización inducido por cuprizona en ratones.

Justificación. La mielina es fundamental para la transmisión rápida de impulsos nerviosos, y su cuantificación in vivo tiene importantes implicaciones en el estudio de enfermedades desmielinizantes como la esclerosis múltiple. Aunque existen diversas técnicas de IRM para visualizar la mielina, muchas son cualitativas o requieren largos tiempos de adquisición. La técnica de transferencia de IRM-MT y el índice de Transferencia de Magnetización (MTR) son métodos clásicos que ofrecen una opción prometedora, permitiendo una evaluación cuantitativa de la mielina (Sled, Neuroimage 2018). El desarrollo de un protocolo estandarizado de IRM-MT en modelos de desmielinización por cuprizona facilitará su estudio, mejorando la sensibilidad y reduciendo los tiempos de adquisición.

Métodos

Imagen por resonancia magnética y transferencia de magnetización (IRM-MT)

Se utilizó un protocolo adaptado de (Rahman et al., 2021) de IRM-MT en un modelo roedor in vivo con un escáner Bruker de 7 Teslas para especies pequeñas, utilizando una antena de transmisión circular. Se adquirieron dos exploraciones FLASH-3D: una ponderada por MT y una de referencia ponderada por densidad de protones PD, siguiendo los siguientes parámetros: $TR/\alpha = 33.89 \text{ ms}/9^\circ$ para PD y MT. La ponderación de MT se llevó a cabo con un pulso de radiofrecuencia con forma Gaussiano fuera de resonancia (385° de ángulo de giro nominal, 2.6 kHz de desplazamiento de frecuencia, amplitud máxima de RF de 5T). Configuraciones adicionales: TE = 3.5 ms, resolución = $0.2 \times 0.2 \times 0.2 \text{ mm}^3$, campo de visión = $12 \times 20 \times 8 \text{ mm}^3$ y 10 repeticiones de PD y 10 de MT, con tiempo de exploración de 30 minutos (PD y MT)

Calculo MTR. Se utilizaron herramientas disponibles en las suites de software de mrtrix, fsl y ANTs. La imagen obtenida se convirtió al formato Nifti, partiendo de 20 volúmenes: 10 correspondientes a la imagen con pulso de saturación y 10 a la imagen sin pulso. Se utilizó la herramienta mrconvert para ajustar el header del archivo y reportar vóxeles de mayor tamaño. Para el registro de los volúmenes, se empleó mcflirt utilizando como referencia el volumen 0. Los volúmenes se dividieron en dos imágenes con mrconvert, asignando los volúmenes 0 al 9 a la imagen con pulso de saturación y los volúmenes 10 al 19 a la imagen sin pulso.

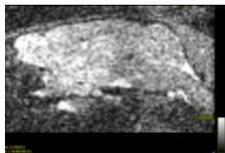
A continuación, las imágenes fueron promediadas utilizando fslmaths, y se aplicó la herramienta DenoiseImage para reducir el ruido. Finalmente, el cálculo del MTR se realizó mediante mrcalc utilizando la siguiente ecuación:

$$MTR = \left(\frac{S_0 - S_{MT}}{S_0} \right) \times 100$$

Donde S_0 es la imagen sin pulso y S_{mt} con pulso. Generando así un mapa de MTR, una medida indirecta de la mielina.

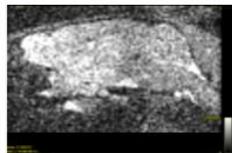
01

IRM obtenida del Resonador Bruker con 20 volúmenes



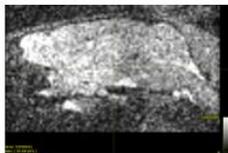
02

Cambiar el header del archivo para que reporte volúmenes más grandes



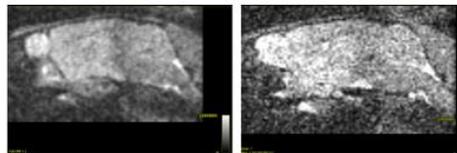
03

Registrar volúmenes



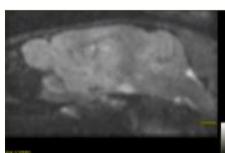
04

Separar imágenes sin pulso de saturación y con pulso de saturación

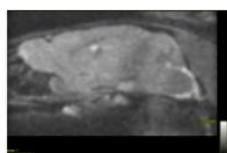


05

Promediar volúmenes



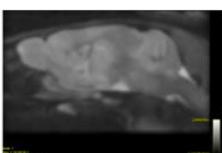
Sin saturación



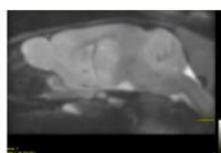
Con saturación

06

Denoisear imágenes



Sin saturación



Con saturación

07

Obtener MTR

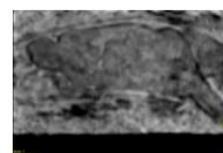


Imagen 1: metodología para obtención de MTR.

Correlación con histología. Se trabajará con 24 ratones C57 de 8 semanas, divididos en dos grupos: 12 controles y 12 sometidos a desmielinización con cuprizona al 0.3% durante 3 semanas, seguido de una dieta estándar por otras 3 semanas para estudiar la remielinización. Se utilizará el método IRM-MT para evaluar y cuantificar los cambios en la mielina en el cuerpo calloso. Transcurridas las 6 semanas, se realizará la perfusión de los ratones y se analizarán las vainas de mielina mediante microscopía electrónica para correlacionar los resultados con las medidas de MTR.

Resultados. Hasta el momento, la implementación del protocolo de IRM-MT ha permitido la obtención de imágenes preliminares de MTR para la cuantificación de la mielina en cuerpo calloso. Sin embargo, aún es necesario realizar más pruebas para determinar los parámetros óptimos de adquisición de IRM-MT en ratones, con el objetivo de estandarizar el protocolo para su uso en estudios de mielina. Una vez optimizado, se espera que el protocolo permita evaluar de manera precisa la sensibilidad y especificidad de la técnica IRM-MT para la cuantificación de la mielina, validándola a través de la comparación con métodos histológicos estandarizados, como la microscopía electrónica.

Conclusiones. Se espera que la optimización del método de imagen por resonancia magnética con transferencia de magnetización (IRM-TM) permita la cuantificación no invasiva de la mielina en la sustancia blanca. Se espera que las mediciones obtenidas mediante MTR se correlacionen adecuadamente con los análisis estructurales directos obtenidos por microscopía electrónica, proporcionando así una validación de la técnica.

Este protocolo permitirá evaluar la mielina en la sustancia blanca, con una metodología que, pueda ser aplicada en futuras investigaciones de manera accesible.