



# XVII Reunión de la Sociedad Uruguaya de Física 2022 “José Ferrari”



# ULTRASONIDO FUNCIONAL PARA EL ESTUDIO DE ENFERMEDADES NEURODEGENERATIVAS

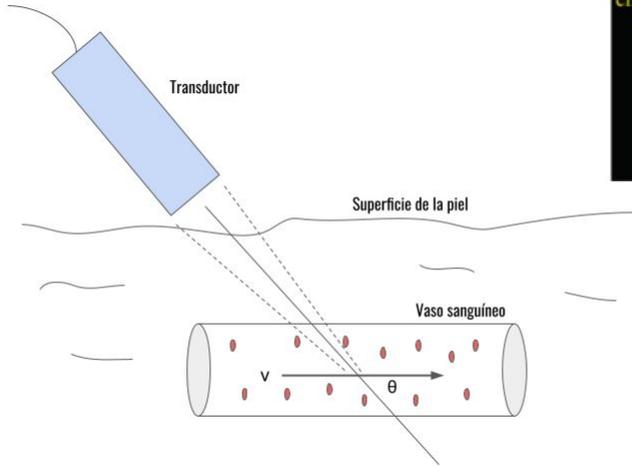
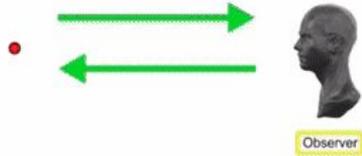
M. Zibbar Fialho<sup>1\*</sup>, L. Vázquez Alberdi<sup>2\*</sup>, M. Martínez<sup>2\*</sup>, M. Calero<sup>3</sup>, J. Baranger<sup>4</sup>, M. Tanter<sup>4</sup>, JP. Damián<sup>5</sup>, C. Negreira<sup>1</sup>, N. Rubido<sup>1,6</sup>, A. Kun<sup>2,7+</sup>, J. Brum<sup>1++</sup>

*1 - Instituto de Física, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay. 2 - Lab. Biología Celular del Sistema Nervioso Periférico, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Montevideo, Uruguay. 3 - Chronic Disease Programme, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain. 4 - Physics for Medicine Paris, CNRS, Paris, France. 5 - Departamento de Biociencias Veterinarias, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República. 6 - Institute for Complex Systems and Mathematical Biology, University of Aberdeen, King's College. 7 - Sección bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.*

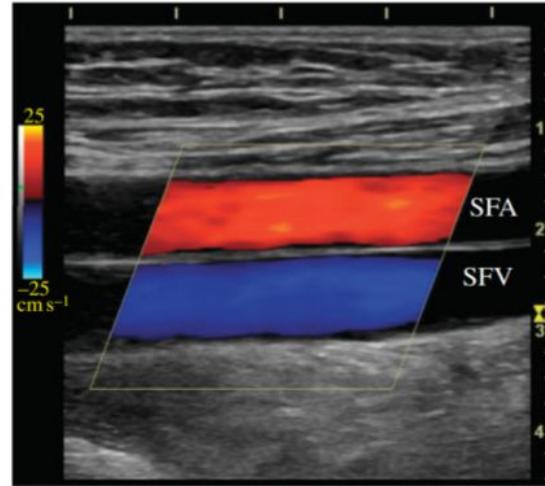
# Introducción - Doppler Ultrasónico



The Doppler Effect

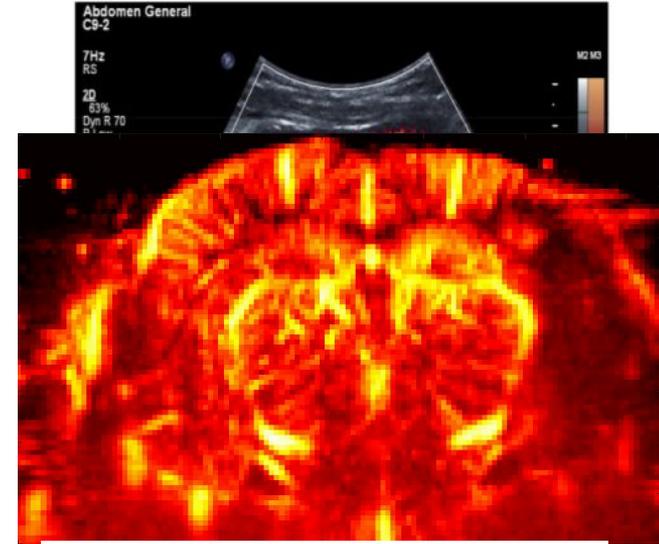


Color Doppler



$$v = \frac{cf_{Dop}}{2f_0 \cos\theta}$$

Power Doppler



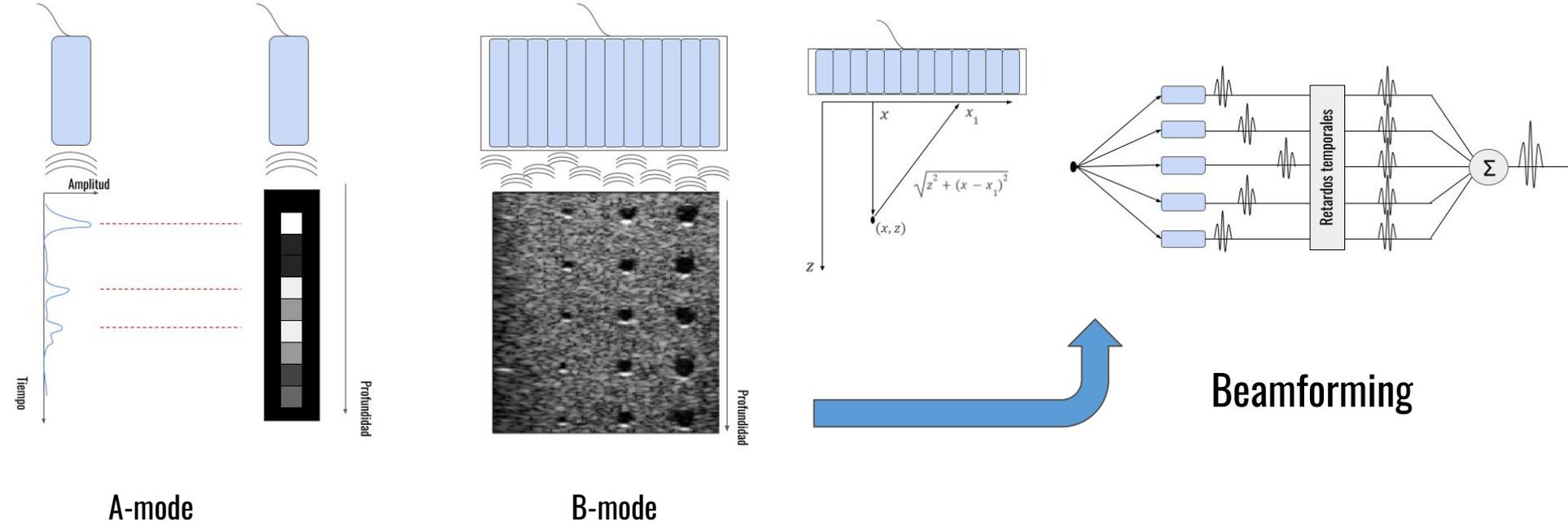
$$\int_{-\infty}^{\infty} S_{Doppler}(f)^2 df \approx \sum_{n=1}^N I^2(n) + Q^2(n)$$

Nos permitirá medir el **CBV** (cerebral blood volume)

# Introducción - Imágenes ecográficas



¿Cómo se forma una imagen ecográfica?



# Introducción - Imagenología ultrarrápida

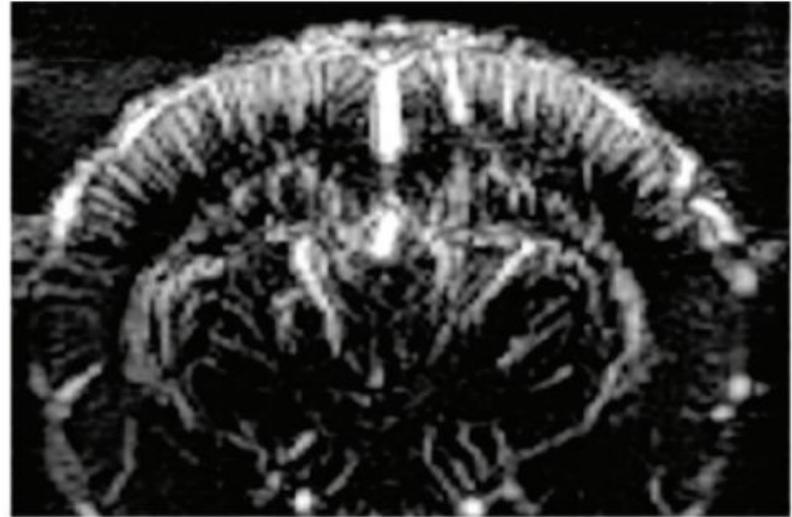
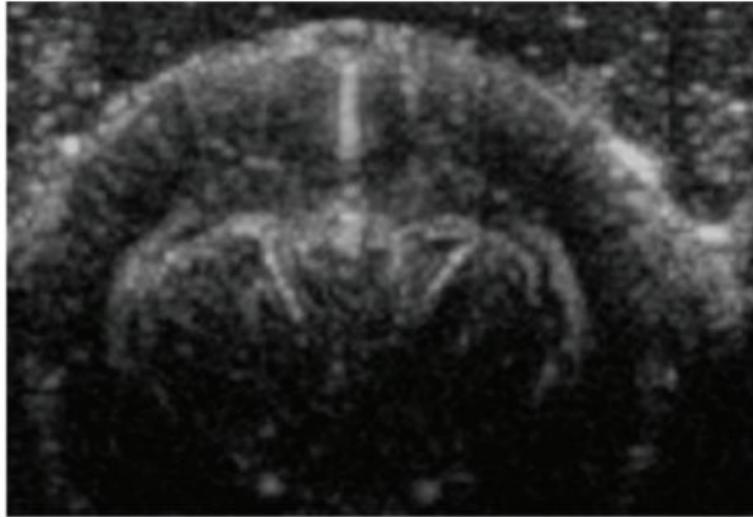


Conventional

Plane Wave

Plane Wave

Plane Wave



25 Frames/s

18 000 F/s

1000 F/s

350 F/s

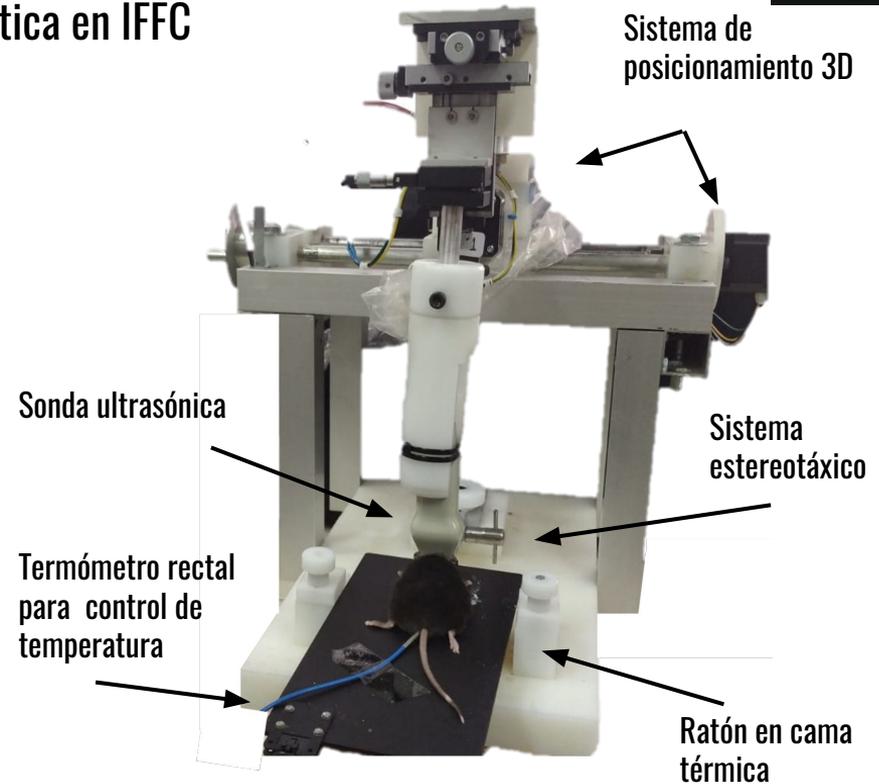
# Dispositivo experimental



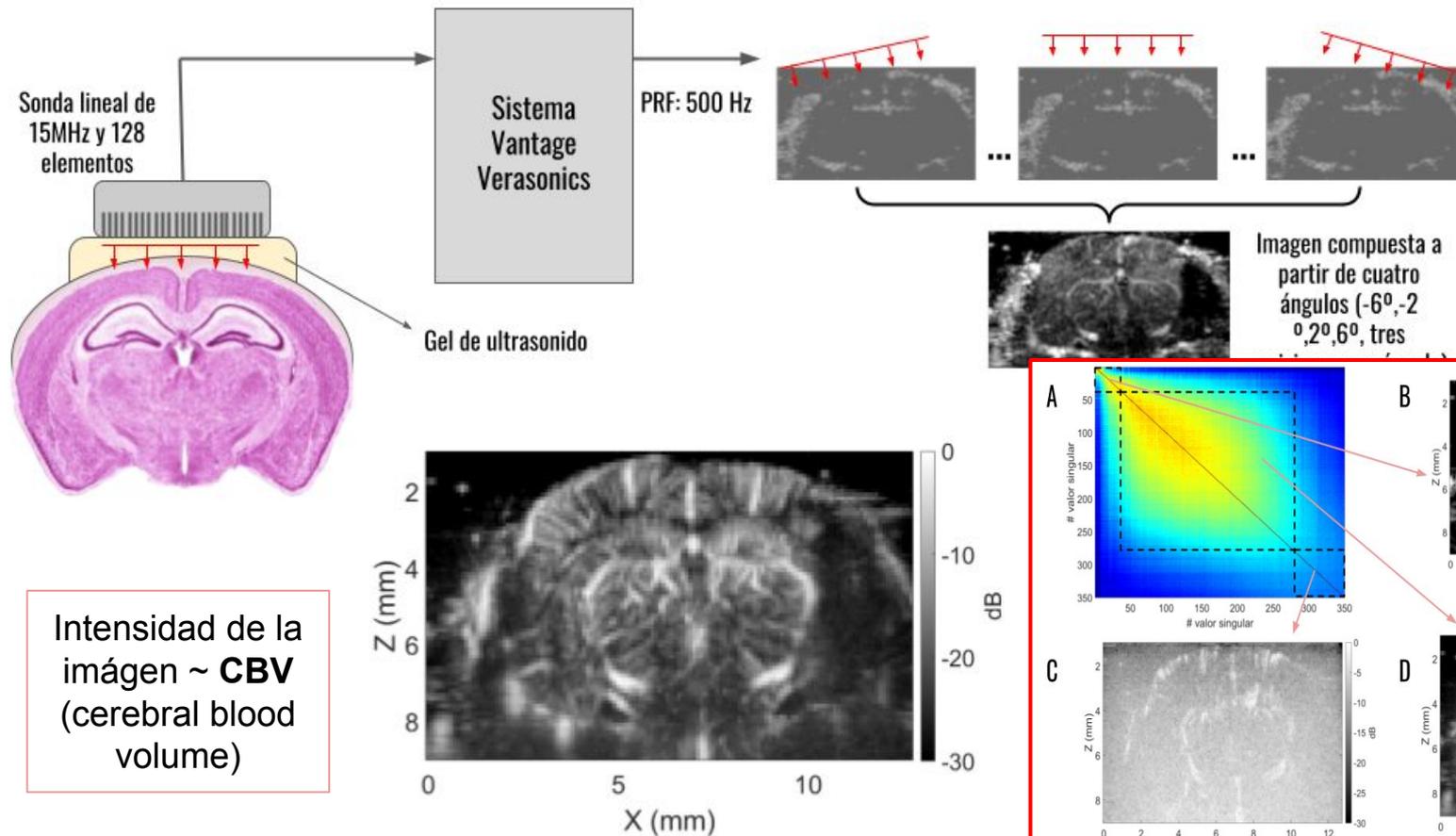
## Sistema Vantage Verasonics en el Laboratorio de Acústica en IFFC



- Ratones Wild Type y Trembler-J de 3 meses de edad
- Anestesia: solución de Ketamina y Xylacina
- Control de temperatura (~37°C)
- Depilación de la cabeza



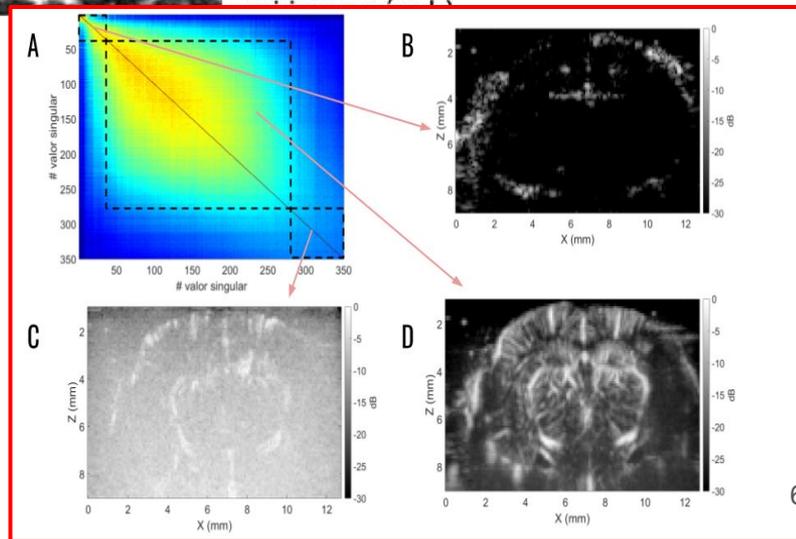
# Adquisición de imágenes - Ultrasonido Funcional



Resolución temporal:  
1 imagen por segundo

Tamaño del píxel:  
(0.1 x 0.1) mm

Intensidad de la  
imagen ~ **CBV**  
(cerebral blood  
volume)



# Antecedentes



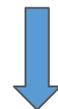
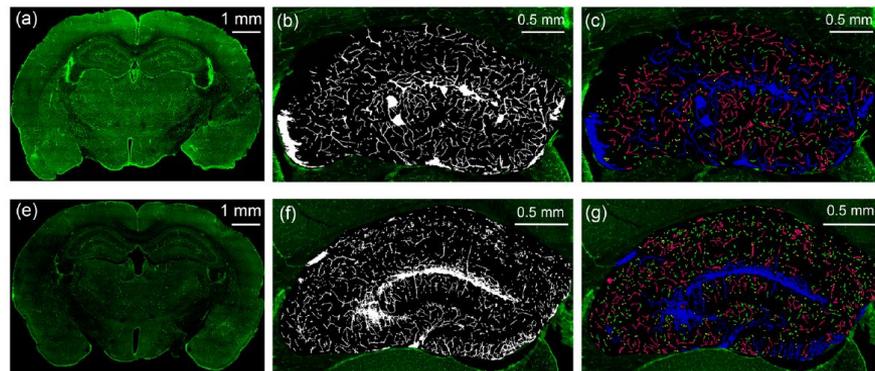
## scientific reports

Check for updates

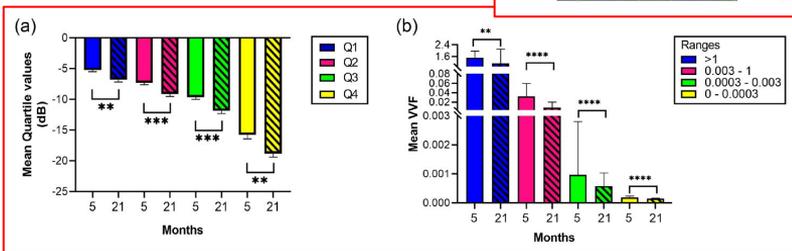
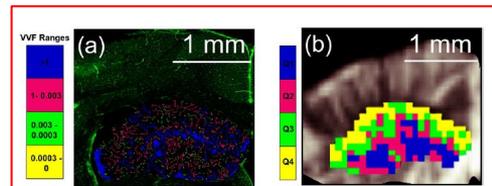
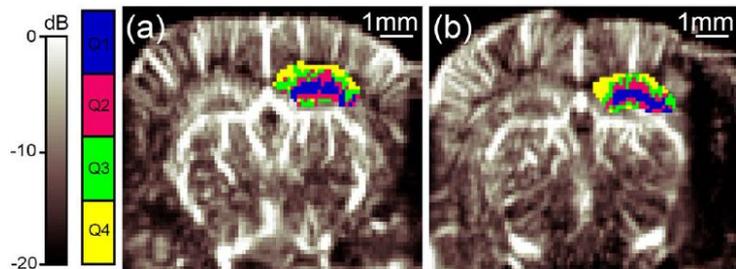
**Intensity distribution segmentation in ultrafast Doppler combined with scanning laser confocal microscopy for assessing vascular changes associated with ageing in murine hippocampi**

Maximiliano Anzibar Fialho<sup>1,2,9</sup>, Lucía Vázquez Alberdi<sup>3,9</sup>, Mariana Martínez<sup>3,9</sup>, Miguel Calero<sup>4</sup>, Jerome Baranger<sup>5</sup>, Mickael Tanter<sup>5</sup>, Juan Pablo Damián<sup>6</sup>, Carlos Negreira<sup>1</sup>, Nicolás Rubido<sup>2,7</sup>, Alejandra Kun<sup>3,8</sup> & Javier Brum<sup>1,2</sup>

## Microscopía Confocal



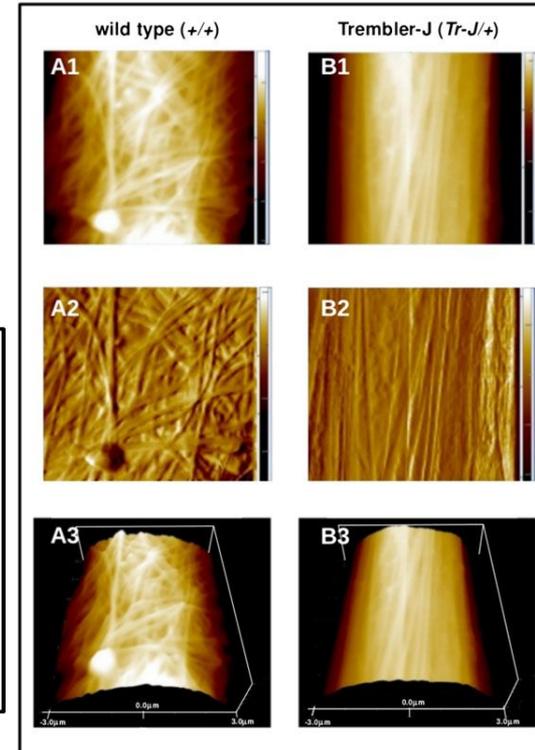
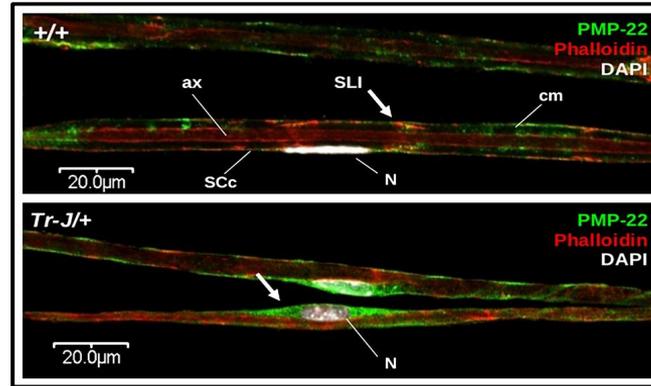
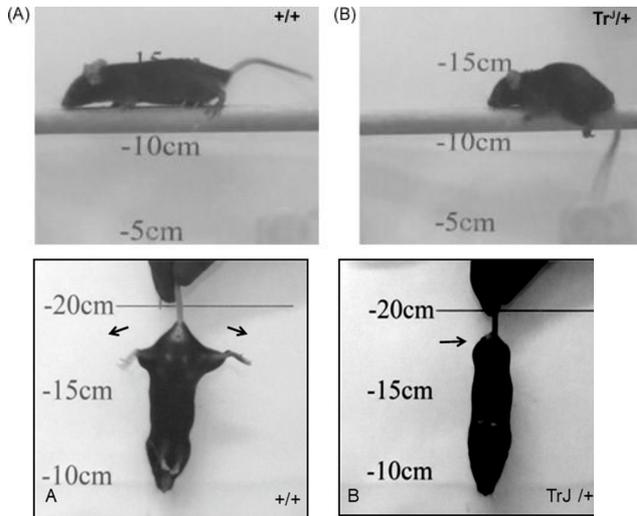
## Imagenología Doppler Ultrarrápida



# Antecedentes - Modelo Trembler-J (TrJ)



- TrJ es un modelo de la enfermedad Charcot-Marie-Tooth (CMT). Es la principal neuropatía periférica hereditaria humana (1:2500).
- TrJ porta una mutación espontánea en la proteína de la mielina compacta PMP22, idéntica a una mutación humana observada en CMT.
- Su mayor expresión se observa en las células de Schwann mielinizantes, se asocia a una afección del sistema nervioso periférico.



# Antecedentes - Modelo Trembler-J (TrJ)

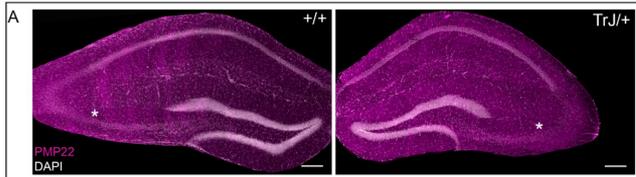
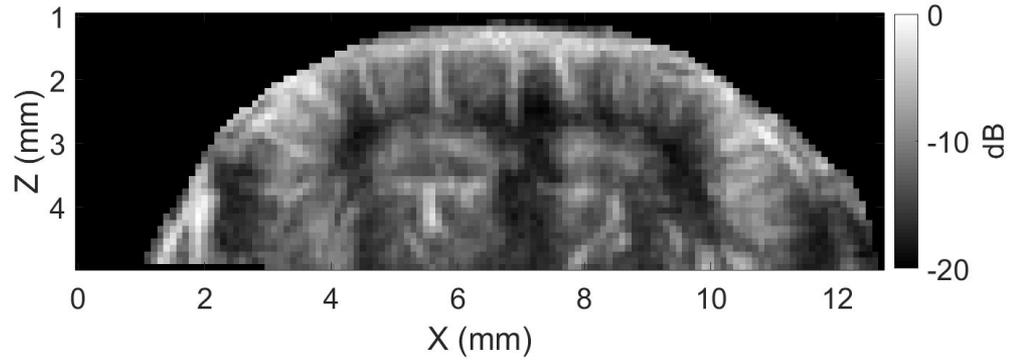


¿Qué pasa en el sistema nervioso central?

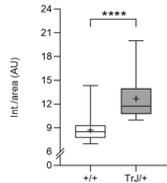
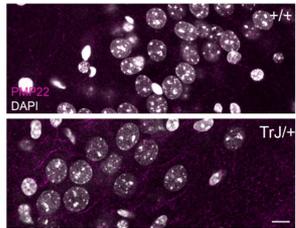


## Ultrasonido funcional

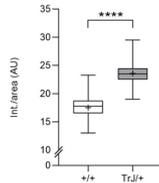
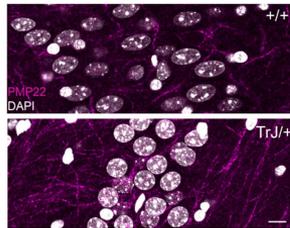
Mace et al, *Functional ultrasound imaging of the brain* (2011) Nature Methods.



B Expression of soluble-PMP22 in CA3 neurons (without formic acid)

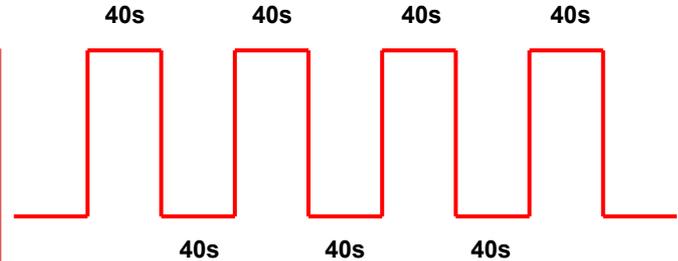
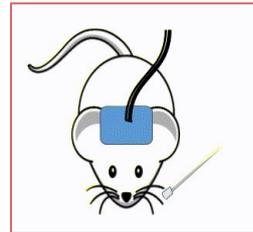
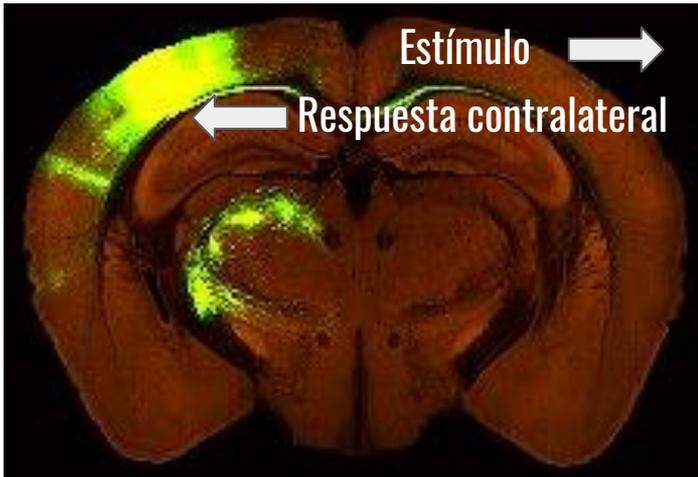
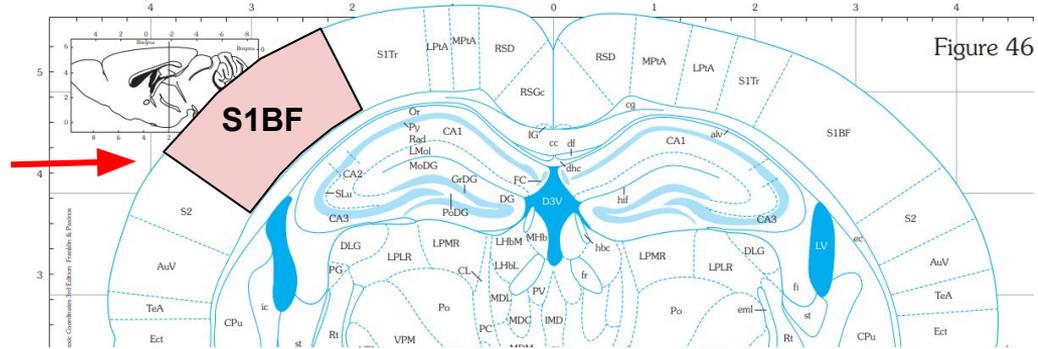
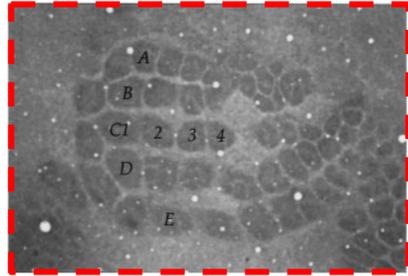
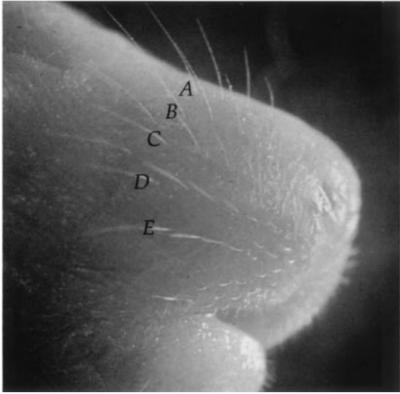


C Expression of aggregated-PMP22 in CA3 neurons (with formic acid)

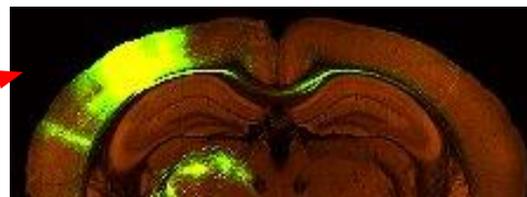
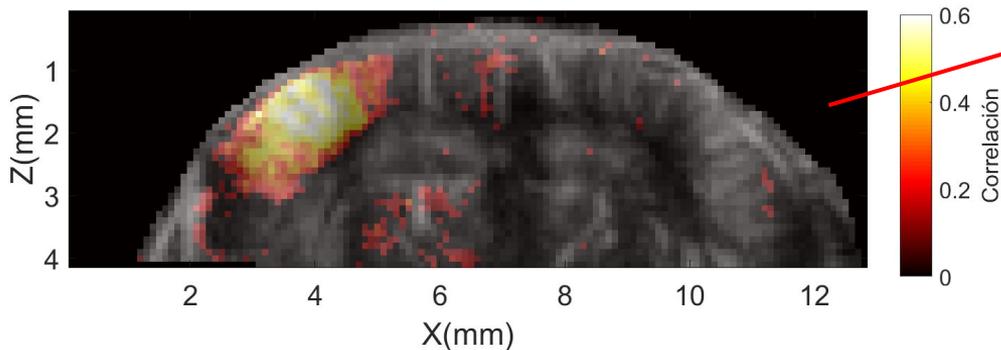


- Respuesta a un estímulo sensorial específico
- Conectividad

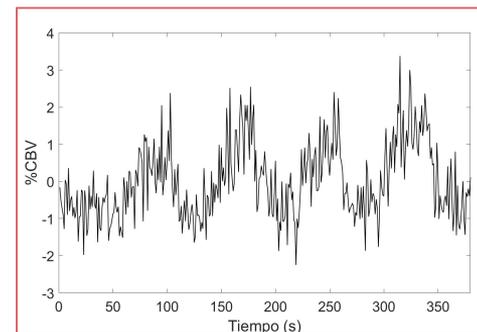
# Respuesta a un estímulo sensorial: vía de los bigotes



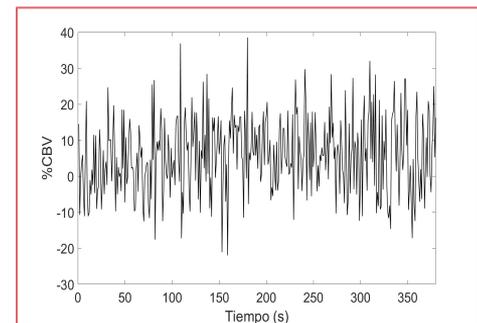
# Mapas de activación



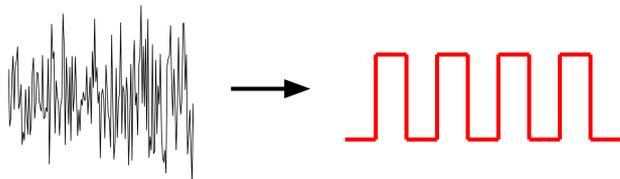
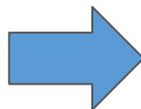
Alta correlación



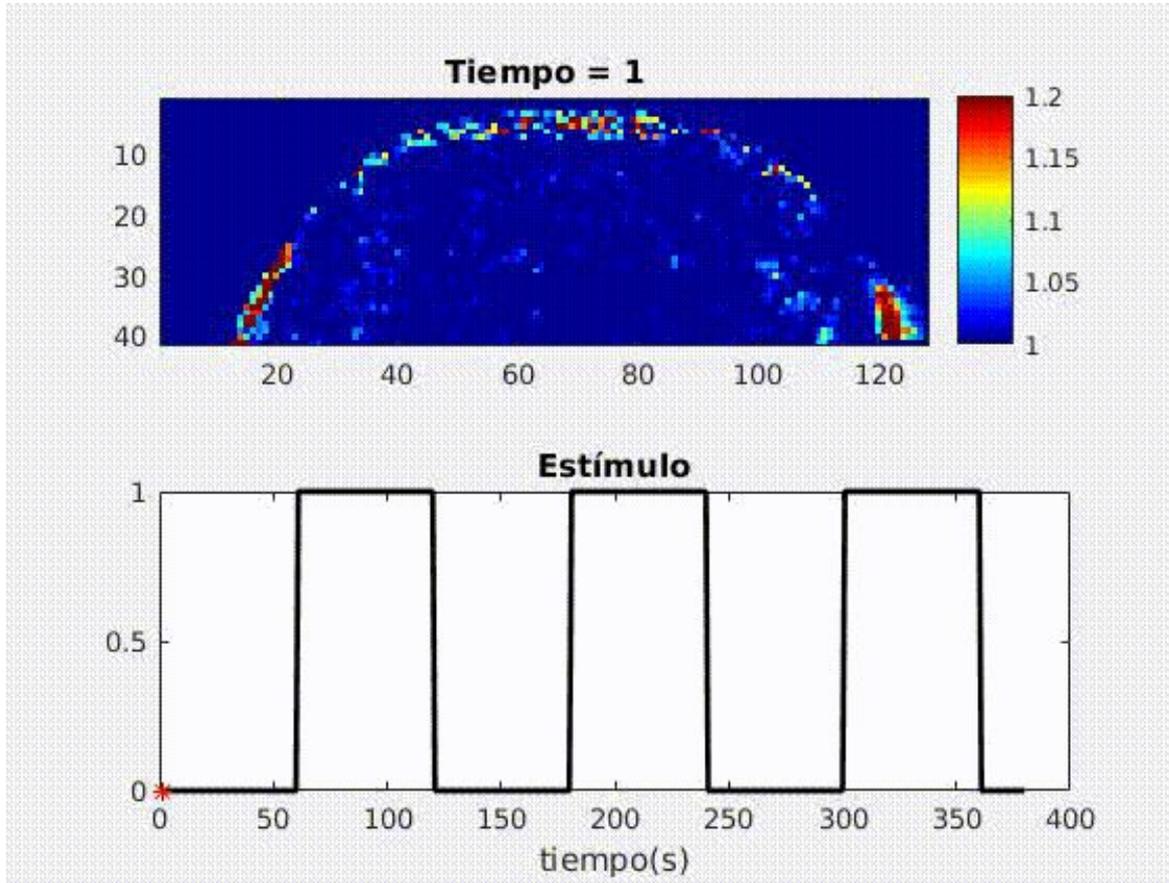
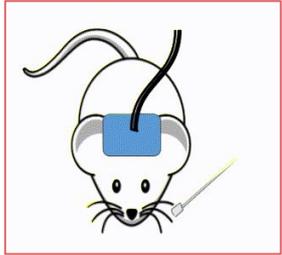
Baja correlación



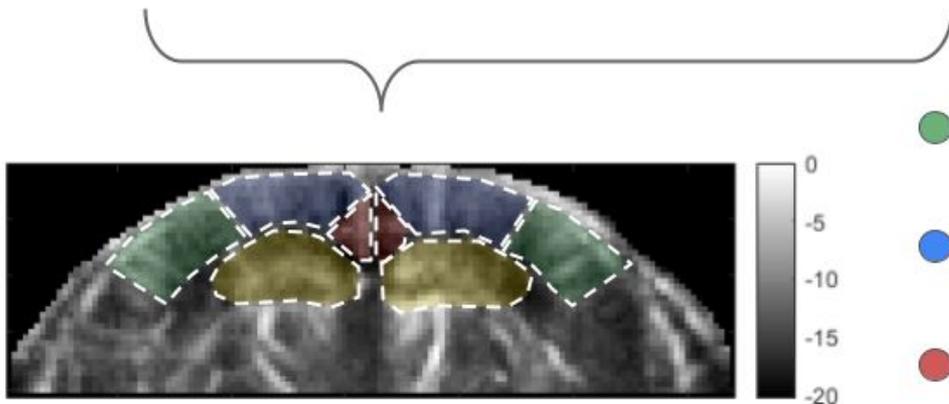
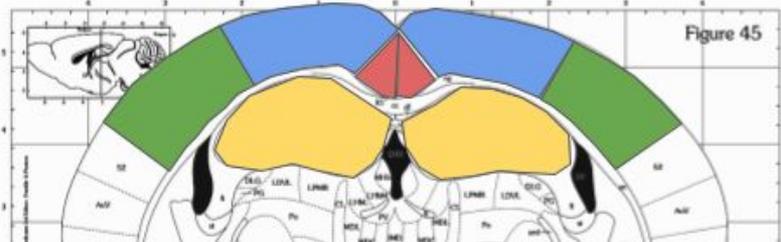
Correlación de la señal temporal de cada píxel con el estímulo



# Activación de S1BF - %CBV en cada pixel

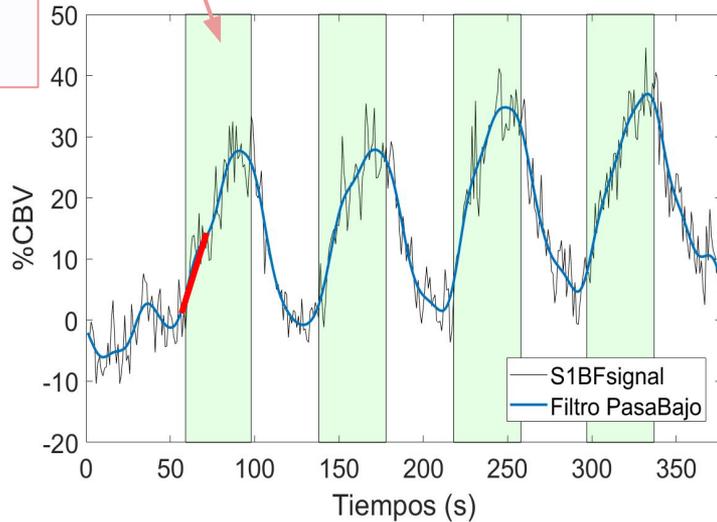
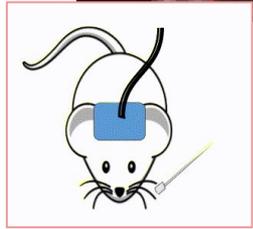
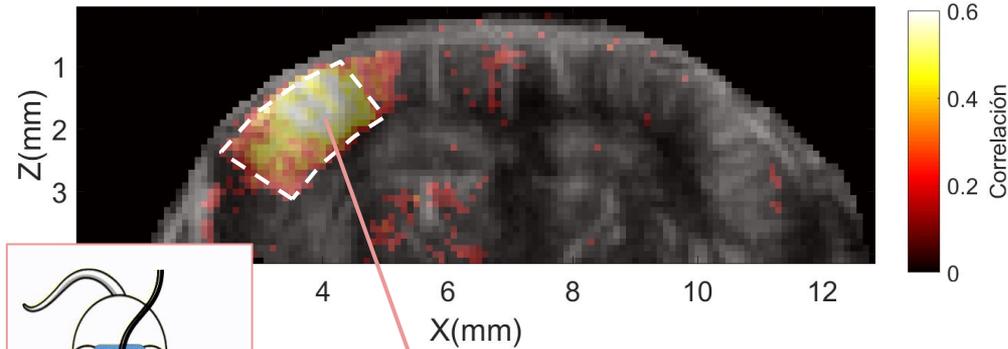


# Seccionamiento de la imagen



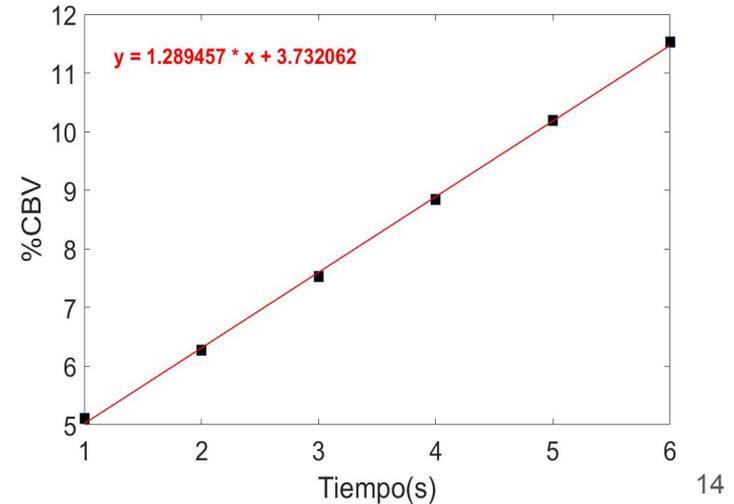
- Primary somatosensory cortex, barrel field (S1BF)
- Association cortex/ retrosplenial dysgranular cortex (AC/RDC)
- Retrosplenial granular cortex (RGC)
- Hippocampus (Hip)

# Señal temporal de la región S1BF

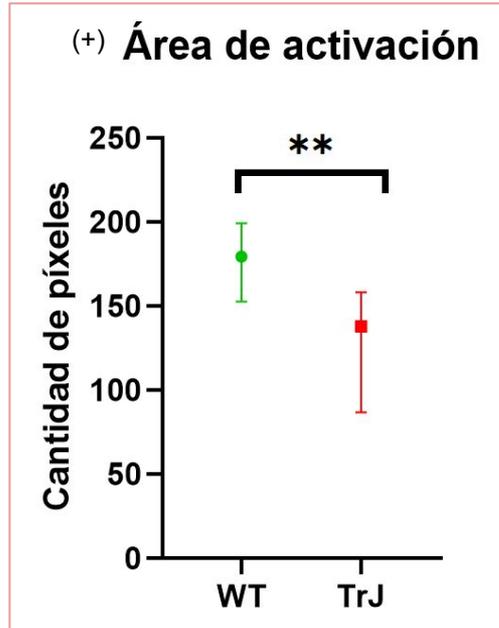
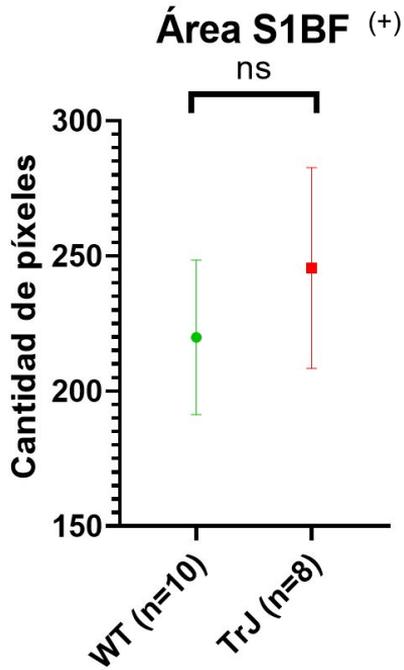


A partir de la respuesta al estímulo estudiamos para ambos genotipos (WT y Tr):

- Valor de correlación de S1BF
- Tiempo de respuesta: pendiente de la señal

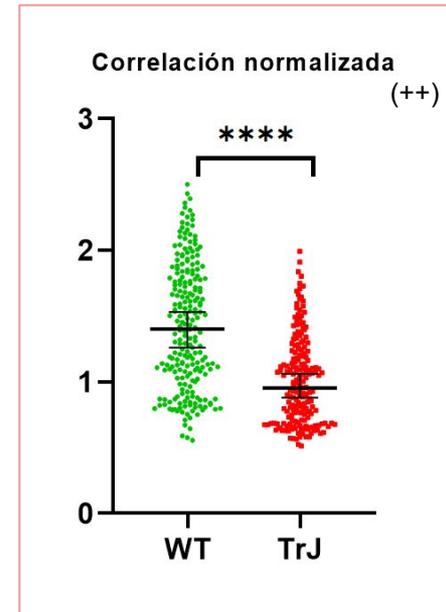


# Resultados: respuesta al estímulo - correlación



Normalizamos los valores de correlación de cada píxel como:

$(\text{correlación} / \text{área total S1BF}) * 1000$



# Resultados: respuesta al estímulo - pendiente

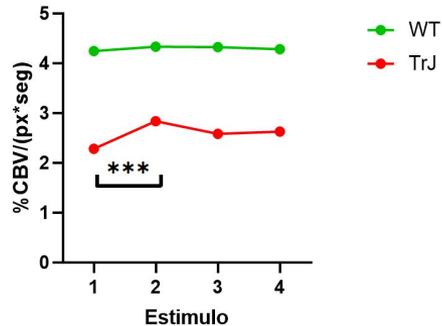


## Comparación entre genotipos por estímulo (++)

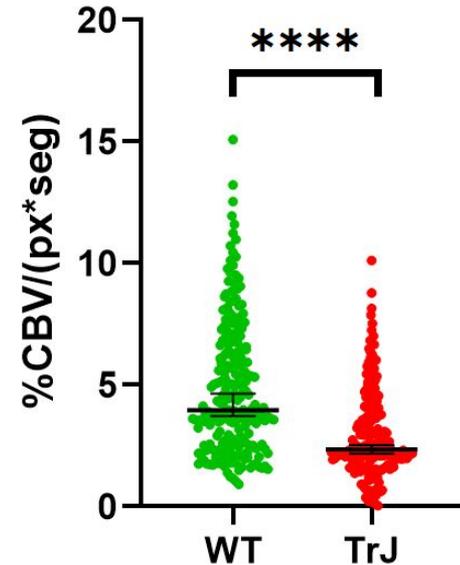
	Estímulo 1	Estímulo 2	Estímulo 3	Estímulo 4
Ratones WT	10	10	10	9
Ratones TrJ	8	8	8	7
Mediana WT (%CBV/seg*px)	4.245	4.332	4.321	4.280
Mediana TrJ (%CBV/seg*px)	2.280	2.837	2.583	2.625
P-valor	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
Diferencias	****	****	****	****

Normalizamos los valores de la pendiente de cada píxel como:

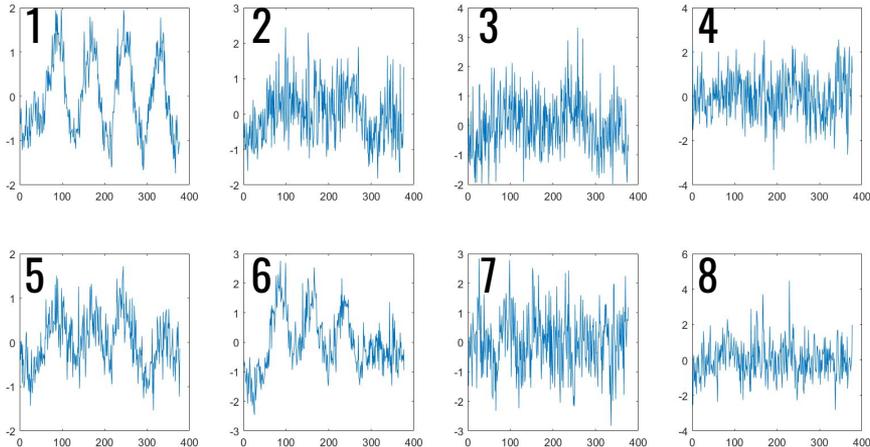
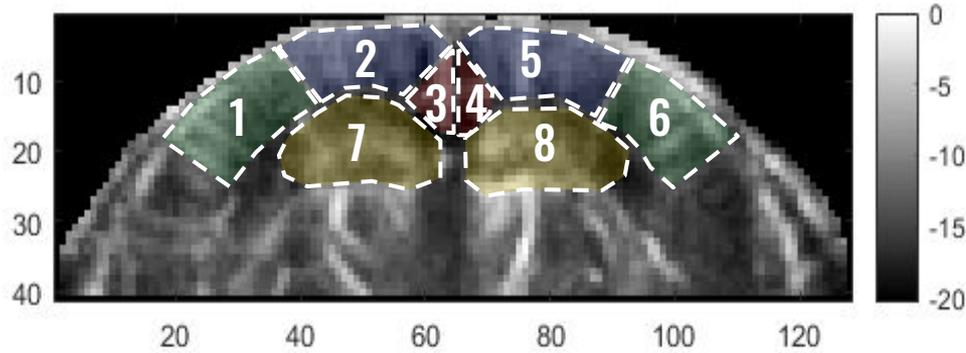
(valor pendiente/área total S1BF)\*1000



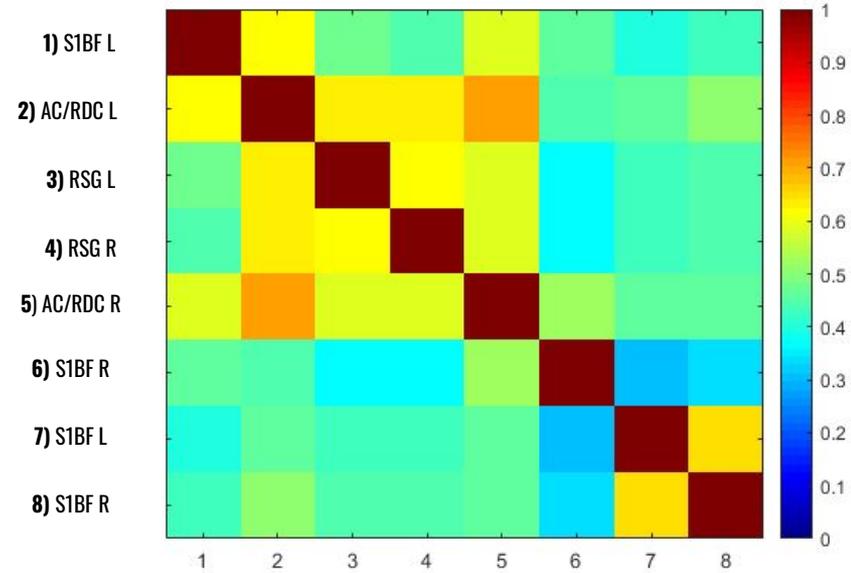
## Todos los estímulos (++)



# Análisis: conectividad



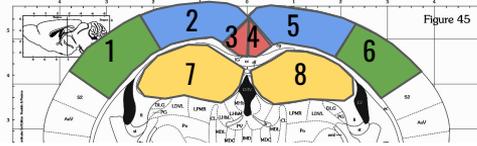
## Matriz de correlación entre regiones



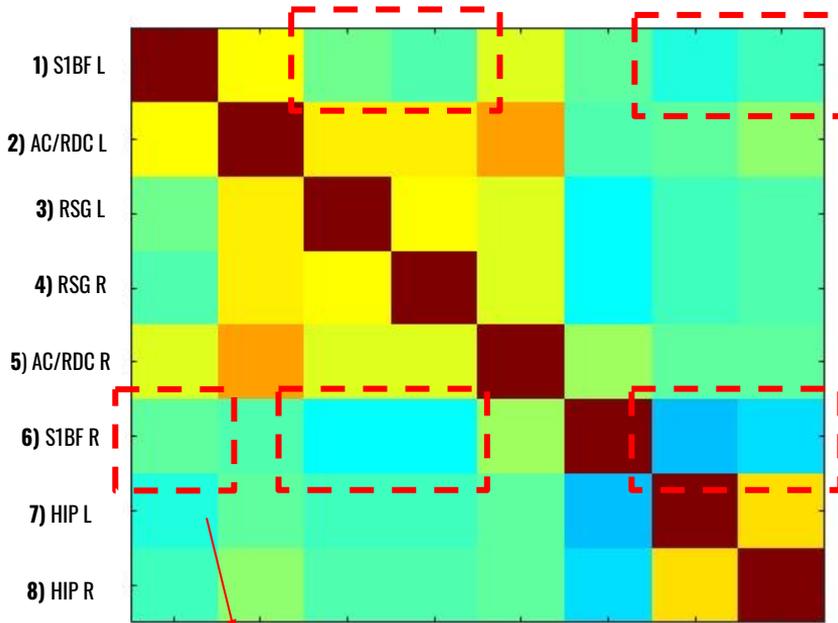
# Resultados: conectividad fUS vs RS en WT



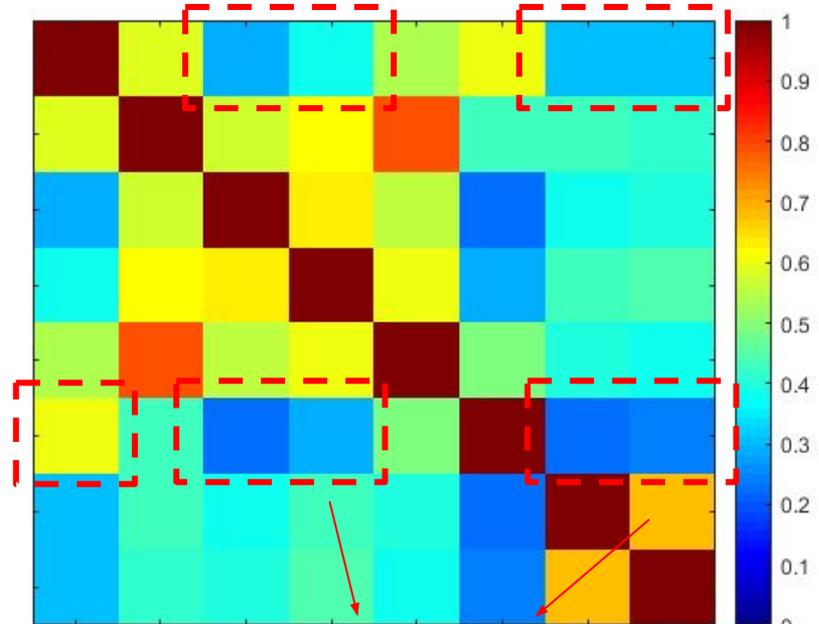
fUS (n=6)



RS (n=6)



Lateralidad S1BF

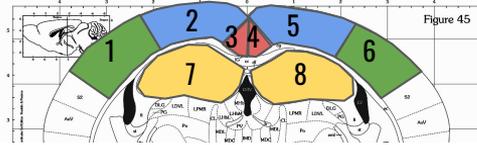


Desconexión de HIP y DMN

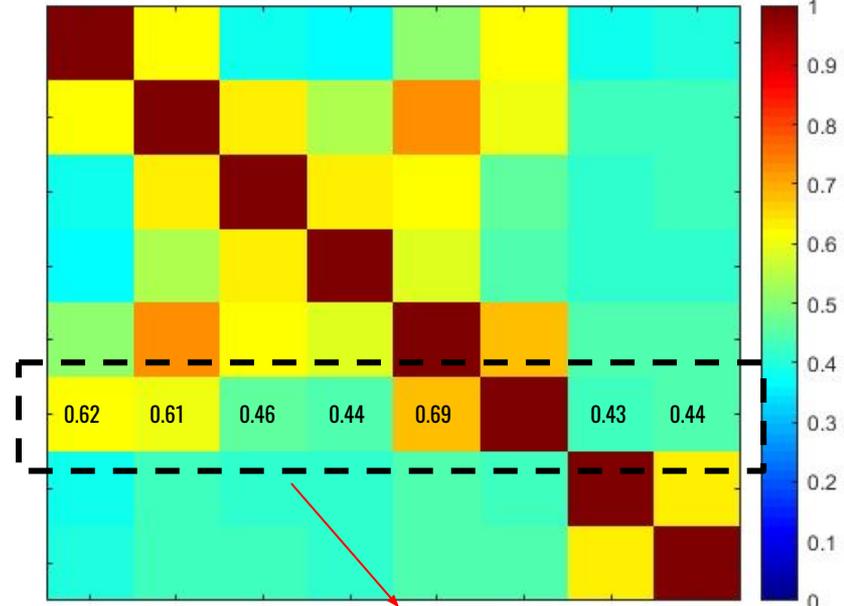
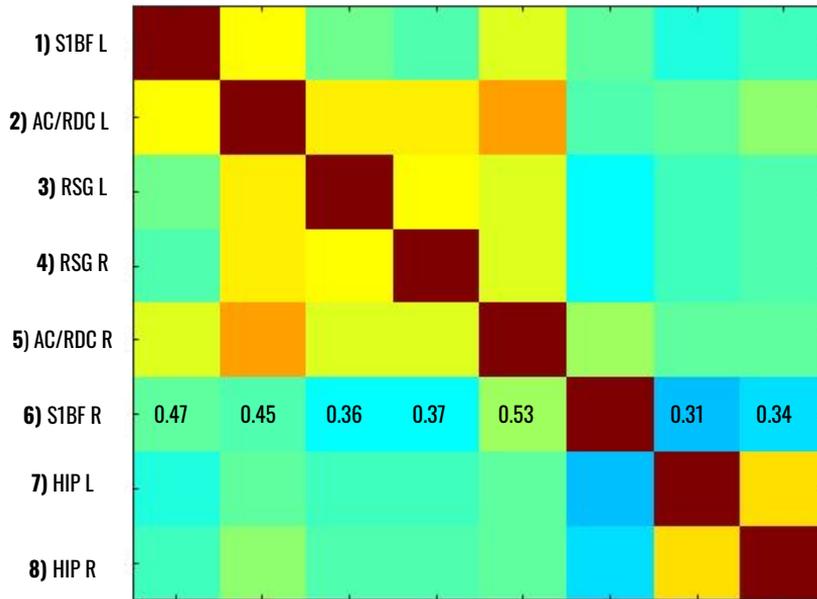
# Resultados: conectividad en fUS



WT (n=6)

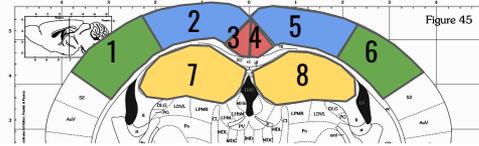


TrJ (n=6)



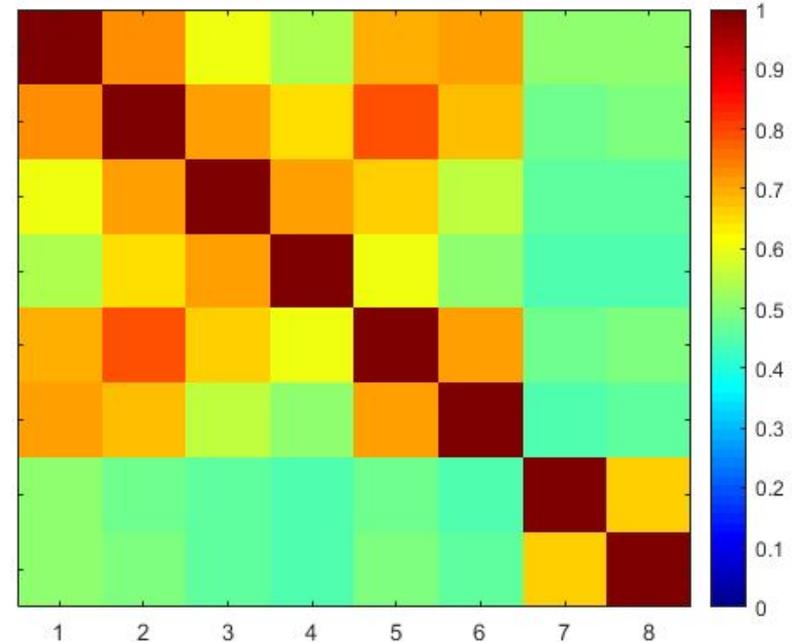
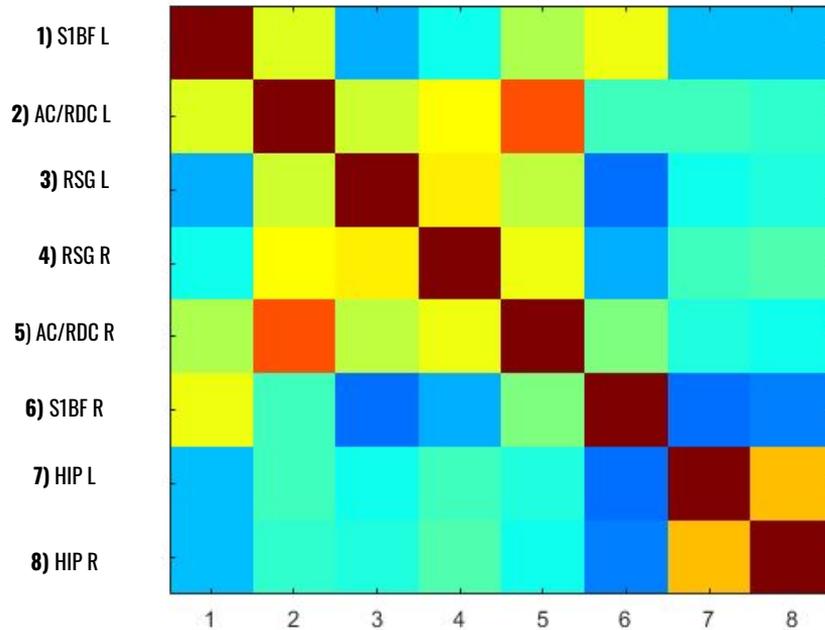
Alteración en la lateralidad de S1BF

# Resultados: conectividad en RS



WT (n=6)

TrJ (n=5)



Mayor conexión global del cerebro en TrJ

# Conclusiones y perspectivas

---



- **Afección en la vía de los bigotes para TrJ, marcada por la variación en el tiempo de respuesta y la correlación con el estímulo.**
- **La conectividad se ve afectada, tanto en el experimento realizando el estímulo (fUS) como en el estado de RS, sugiriendo cambios en la dinámica vascular a nivel central en el modelo TrJ. Es la primera vez que se describen alteraciones vasculares en TrJ, como componente del fenotipo neurodegenerativo CMT1E.**
- **El ultrasonido funcional resulta una técnica no invasiva capaz de detectar variaciones neurovasculares, y la posibilidad de realizar un seguimiento del sujeto de estudio en el desarrollo de la enfermedad (Ej: tratamiento con Curcumina)**
- **Único laboratorio a nivel regional actualmente realizando fUS**
- **Implementar la técnica de “Ultrasound Localization Microscopy (ULM)” y ULMF**

# Integrantes del equipo



M. Anzibar Fialho



M. Martínez



L. Vázquez Alberdi



JP. Damián



C. Negreira



M. Tanter



J. Baranger



M. Calero



N. Rubido



J. Brum



A. Kun

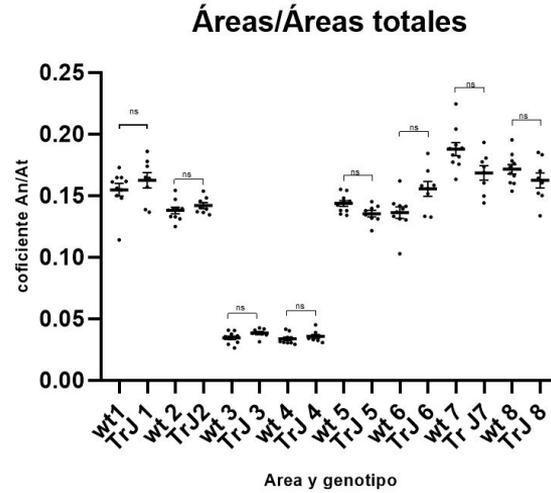
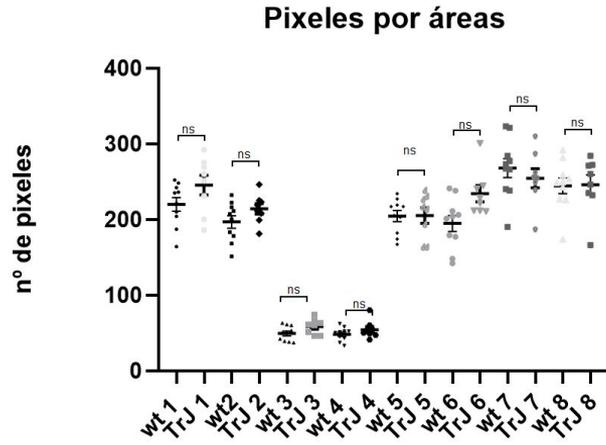


LIA  
Institut Franco –  
Uruguayen de  
Physique  
(IFUP)



FCE\_1\_2019\_1\_155539 and POS\_NAC\_  
M\_2020\_1\_164127 and POS\_FCE\_2020\_1\_1009181

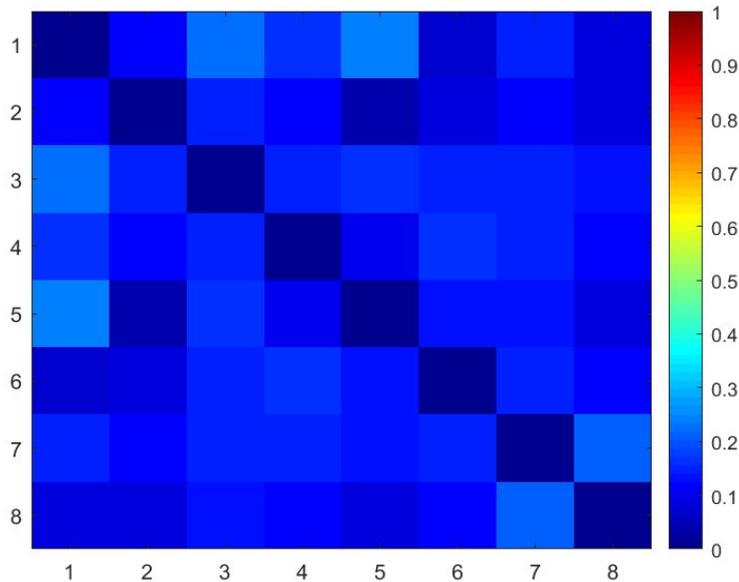




# Matrices de conectividad (desviación estándar)



WT (n=6)



TrJ (n=6)

