

Marlena Wełniak-Kamińska

Rozprawa doktorska

**Badania drogi wzrokowej u gryzoni laboratoryjnych
metodami rezonansu magnetycznego *in vivo***

Promotor:

Prof. dr hab. n. med. Paweł Grieb

Promotor pomocniczy:

dr n. med. Maciej Świątkiewicz

Środowiskowe Laboratorium

Rezonansu Magnetycznego Małych Zwierząt

Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej

im. Mirosława Mossakowskiego

Polskiej Akademii Nauk

Warszawa 2023

RT (ang. *retinal thickness*) - grubość siatkówki

S1 (ang. *primary somatosensory cortex*) - pierwszorzędowa kora sensoryczna

SC (ang. *superior colliculus*) - wzgórek górny

SNR (ang. *signal to noise ratio*) - stosunek sygnału do szumu

SPECT (ang. *single-photon emission computed tomography*) - tomografia emisyjna pojedynczych fotonów

svMRS (ang. *single-voxel MR spectroscopy*) – protonowa spektroskopia rezonansu magnetycznego pojedynczego woksela

T1-w (ang. *T1-weighted image*) - obrazowanie T2- zależne

T1 (ang. "*spin-lattice*" *relaxation time*) – czas relaksacji podłużnej zwany T1

T2 (ang. "*spin-spin*" *relaxation time*) – czas relaksacji poprzecznej zwany T2

T2-w (ang. *T2-weighted image*) - obrazowanie T2- zależne

TA (ang. *acquisition time*) - czas akwizycji, czas gromadzenia danych

Tau (ang. *taurine*) - tauryna

tCho (ang. *glycerylphosphorylcholine + phosphocholine*) - glicerylofosfocholina + fosfocholina

tCr (ang. *creatine + phosphocreatine*) - kreatyna całkowita (suma kreatyny i fosfokreatyny)

TE (ang. *echo time*) – czas echa

Teff (ang. *effective time*) - efektywny czas echa

TPM (ang. *tissue probability maps*) - mapy prawdopodobieństwa tkanek

TR (ang. *repetition time*) – czas repetycji

Tu (ang. *olfactory tubercle*) - guzki węchowe

TurboRARE (ang. *Rapid Acquisition with Refocused Echoes*) – sekwencja szybkiego echa spinowego

USG (ang. *ultrasonography*) - technikach ultrasonograficznych

V1 (ang. *primary visual cortex*) – pierwszorzędowa kora wzrokowa

V2M (ang. *secondary visual cortex middle*) - drugorzędowa kora wzrokowa środkowa

V2L (ang. *secondary visual cortex lateral*) - drugorzędowa kora wzrokowa środkowa i boczna

VC (ang. *visual cortex*) - kora wzrokowa

VCD (ang. *vitreous chamber depth*) - głębokość komory ciała szklanego

vLGN (ang. *ventral geniculate lateral nucleus*) - jądro brzuszne ciała (jądra) kolankowatego bocznego

VOI (ang. *volume of interest*) - obszar lub objętość zainteresowania

WI (ang. *Wistar Rat*) – szczur stada Wistar

WWCPS (ang. *Wild Warsaw Captive Pisula-Stryjek*) - linia dzikiego szczura wędrownego

STRESZCZENIE

W związku z globalnym starzeniem się społeczeństw liczba osób dotkniętych upośledzeniem widzenia stale rośnie. Równolegle wzrasta liczba badań podstawowych i przedklinicznych dotyczących struktury i funkcji układu wzrokowego. W badaniach tych najczęściej wykorzystywane są gryznie laboratoryjne. W szczególności, ze względu na powszechność zależnych od wieku chorób związanych z retinopatią (dysfunkcjami siatkówki oka) potrzebna jest dokładna charakterystyka zmian anatomopatologicznych w drogach wzrokowych. W wyniku retinopatii dochodzi do zmniejszenia ilości informacji docierających z siatkówki do mózgu, to zaś prowadzi do zmian degeneracyjnych w dalszych odcinkach drogi wzrokowej. W związku z tym wskazane jest doskonalenie metod wykrywania i śledzenia tych zmian.

W niniejszej pracy do badań drogi wzrokowej gryzoni wykorzystany został skaner MRI/MRS z magnezem o indukcji pola 7T i wybrane metody rezonansu magnetycznego (MR). Umożliwiło to uzyskanie obrazów o wysokiej rozdzielczości i wyraźnych kontrastach tkankowych pozwalających na uwypuklenie różnic między strukturami anatomicznymi, które są trudne do uchwycenia za pomocą innych technik obrazowania. Celem tych badań było porównanie danych wolumetrycznych, funkcjonalnych i profili metabolicznych struktur drogi wzrokowej pomiędzy zwierzętami ze spontaniczną retinopatią i zwierzętami kontrolnymi.

W pierwszym etapie badań wykonano obrazowanie anatomiczne (MRI) i spektroskopię protonową (H-MRS) u trzech grup szczurów. Modelem retinopatii był albinotyczny szczur stada Wistar (WI), często wykorzystywany w badaniach biomedycznych; brak ochronnego działania pigmentu w galce ocznej prowadzi do postępującej degeneracji siatkówki. Modelami kontrolnymi były szczury pigmentowane, laboratoryjny szczur Brown Norway (BN), a także laboratoryjny model dzikiego szczura Warsaw Wild Captive Pisula-Stryjek (WWCPS). W badaniach wolumetrycznych wykorzystano cyfrowy atlas mózgu szczura i oprogramowanie umożliwiające zautomatyzowanie wolumetrii struktur. U szczurów WI stwierdzono mniejszą względną objętość kory wzrokowej oraz kompensacyjne powiększenie objętości niektórych ośrodków mózgu związanych z innymi zmysłami. Dodatkowo przeprowadzono ocenę zmian w mózgu powstałych w procesie udomowienia szczura. Okazało się, że w trakcie udomowienia szczura doszło do zmniejszenia objętości pewnych struktur związanych z przetwarzaniem wrażeń zmysłowych.

Mysim modelem dziedzicznej, zależnej od wieku degeneracji siatkówki były myszy szczepu DBA/2J obciążone mutacją powodującą uwalnianie barwnika z tęczówki, co prowadzi do rozwoju jaskry. Kontrolę stanowiły myszy szczepu C57Bl/6J. Nieinwazyjność metod rezonansowych umożliwiła monitorowanie rozwoju zmian patologicznych na różnych etapach jaskry.

Podobnie jak u albinotycznych szczurów WI, analiza wolumetryczna wykazała mniejszą względną objętość kory u myszy DBA/J2. Natomiast zastosowanie obrazowania wzmocnionego

kontrastem manganowym (MEMRI) umożliwiło ocenę funkcjonalną struktur drogi wzrokowej u myszy *in vivo*. U starszych myszy DBA/2J doszło do zmniejszenia aktywnego transportu aksonalnego manganu. Z kolei wyniki morfometrii gałki ocznej pozwoliły wysunąć sugestię, że dynamika zmian wymiarów struktur gałki ocznej może być wykorzystana jako marker rozwoju jaskry u myszy DBA/2J.

Badania metodą lokalizowanej spektroskopii z okolicy kory wzrokowej wykazały różnice w poziomach niektórych metabolitów (mio-inozytol, cholina, glutaminian i tauryna) w mózgu zwierząt z upośledzeniem widzenia; może to być konsekwencją zmian degeneracyjnych i reorganizacyjnych w korze wzrokowej, świadczących o dużym zaangażowaniu głęju w tych procesach.

Podsumowując, multiparametryczne techniki rezonansu magnetycznego z zastosowaniem skanera 7TMRI/MRS umożliwiają wszechstronną przyżyciową ocenę drogi wzrokowej u gryzoni laboratoryjnych. Ponadto badania wykazały strukturalne, funkcjonalne i metaboliczne zmiany w mózgu towarzyszące degeneracji siatkówki, co może przyczynić się do lepszego zrozumienia, jaki wpływ mają zmiany w siatkówce na neuroanatomie i funkcjonowanie głównych ośrodków wzrokowych w mózgu i ewentualną kompensację w ośrodkach związanych z innymi zmysłami.

ABSTRACT

Due to global ageing of the population, the number of people affected by visual impairment is constantly growing. In parallel the number of basic and preclinical studies on the structure and function of the visual system is increasing. Laboratory rodents are most commonly used in these studies. Due to the prevalence of age-dependent diseases associated with retinopathies, an accurate description of the anatomopathological changes in the visual pathways is warranted. Retinopathy results in a reduction in the number of optic nerve impulses reaching the brain, which leads to degenerative changes in other areas of the visual pathway. As such studies are required which will improve methods of detecting and tracking these changes.

In this thesis, the visual pathway of rodents was investigated using a 7T MRI/MRS scanner and selected magnetic resonance methods (MR). This allowed us to obtain high-resolution and high-contrast images, to identify potential differences between anatomical structures that are usually difficult to capture with other imaging techniques. The specific aim of this work was to characterise changes in the structures of the visual pathway in animals with spontaneous retinopathies and control animals using volumetric data, functional data, and metabolic profiles.

In the first stage of this work, magnetic resonance imaging (MRI) and proton spectroscopy (H-MRS) were performed on three groups of rats. Albino Wistar rats (WI) were used to model of retinopathy. They are widely used in biomedical research to investigate retinopathy due to the absence of protective pigment in the eye which leads to progressive retinal degeneration. Controls were Brown Norway rats (BN), and a laboratory model of a wild rat strain Warsaw Wild Captive Pisula-Stryjek rat (WWCPS). In the volumetric analyses, a digital rat brain atlas and software were used to allow automatic measurement of the volumetry of structures. WI rats had a reduced relative volume of their visual cortex and a compensatory increased volume of brain areas associated with other sensory processing. In addition, we examined potential neurological changes arising from the domestication process. It appeared that domestication of rats was associated with a reduced volume of structures associated with sensory processing.

We also examined DBA/2J mice, a model of hereditary, age-dependent retinal degeneration. This strain carries a mutation that causes the release of pigment from the iris, leading to the development of glaucoma. C57Bl/6J mice were used as controls. The non-invasiveness of the resonance methods allowed monitoring of the development of pathological changes at different stages of glaucoma. As in albino WI rats, volumetric analyses revealed a smaller relative volume of the visual cortex in DBA/J2 mice. The use of manganese-enhanced magnetic resonance imaging (MEMRI) enabled the functional assessment of visual pathway structures in mice *in vivo*. Older DBA/2J mice presented lower active axonal transport of manganese in the visual tract. Additionally, ocular morphometry results indicate that the changes in ocular dimensions could be a useful marker

of glaucoma in DBA/2J mice. Studies using the localised spectroscopy method on the visual cortex revealed differences in the levels of certain metabolites (myo-inositol, choline, glutamate and taurine) in the brains of animals with visual impairment. This may be associated with the degenerative and reorganisational changes in the visual cortex, and indicate a possible role for glia in these processes.

In conclusion, multiparametric magnetic resonance techniques using a 7T MRI/MRS scanner enabled comprehensive morphological, functional, and metabolic assessment of the visual pathway in laboratory rodents *in vivo*. Moreover, these findings indicate common neuroanatomical changes associated with retinal degeneration which help understand how changes in the vision affect central processing in the brain, and possible secondary compensatory effects.