



UNIVERSIDAD
COMPLUTENSE
MADRID

Proyecto de Innovación

Convocatoria 2021/2022

Nº de proyecto: 88

El encéfalo de los animales en 3D (primera parte)

Responsable del proyecto:

Juncal González Soriano

Facultad de Veterinaria

Sección Departamental de Anatomía y Embriología

1. Objetivos propuestos en la presentación del proyecto

Los objetivos de este proyecto fueron la elaboración de un material para facilitar el conocimiento tridimensional del encéfalo de los animales con interés veterinario y de experimentación animal. Para ello se propuso relacionar la anatomía con el uso de una técnica cada vez más extendida, la resonancia magnética, como herramienta útil para todas aquellas titulaciones que impartan docencia relacionada con la Neuroanatomía animal, como sucede en los Grados de Veterinaria y Biológicas y en el Máster de Neurociencia. La herramienta que se propuso cobra una importancia mayor en el contexto actual, en el que se quiere dotar a los estudiantes de herramientas no presenciales que les ayuden en su proceso de aprendizaje. El valor principal del proyecto era el de proponer el desarrollo de un recurso educativo en abierto, con posibilidades de internacionalización, útil tanto para estudiantes como para profesionales, siendo por tanto un ejemplo de transferencia universidad-empresa. Se trata también de resolver un problema de base en nuestros planes de estudio, en los que muchas veces hay falta de relación entre las materias básicas y aquellas que son más aplicadas. En el caso que nos ocupa, tanto en Veterinaria como en Biológicas se adquieren competencias en el conocimiento de la anatomía del sistema nervioso, pero muchas veces, este conocimiento no se combina con el uso de otras herramientas que facilitan el entendimiento de lo que se estudia, como es la impresión 3D, o de técnicas que en muchos casos tienen una enorme utilidad en la vida profesional, como es el caso de la resonancia magnética.

Además, el equipo interdisciplinar organizado para la consecución de los objetivos se incorporó también al profesor José Fernández Manrique, para asegurar la internacionalización y diseminación de resultados.

Con estas premisas, nuestros objetivos se dividieron en:

1. Objetivos Generales. - Realizar un atlas multidimensional del cerebro del perro y de la rata empleando imágenes de secciones cerebrales sin teñir, con tinciones que marcan diversas estructuras cerebrales y también de resonancia magnética. Todo ello para crear una herramienta educativa digital (una herramienta Flash interactiva) que podrá ser empleada por estudiantes y profesionales de la veterinaria y de la investigación en neurociencias. La idea es incluir en esta herramienta información de las regiones cerebrales más relevantes, estableciendo una correlación anatómica entre los tres tipos de imágenes que acabamos de enumerar.

2. Objetivos Específicos. – Se dividen en los siguientes puntos:

a. Establecer las regiones del encéfalo que se delimitarán en cada especie (perro y rata), así como sus componentes y estructuras principales, determinando las funciones y conexiones principales conocidas hasta la fecha de cada una de estas regiones. Esta información se añadirá también en la herramienta digital.

b. Tomar imágenes de los encéfalos seleccionados. Por este orden, se propone realizar imágenes de resonancia magnética y, además, se tomar imágenes de toda la superficie cerebral, en sus caras laterales, dorsales y ventrales. Después, hay que realizar secciones coronales de los encéfalos, y tomar imágenes de la superficie de estas secciones, sin teñir y de las mismas secciones una vez tratadas con tinciones que marcan diversas estructuras cerebrales.

c. Analizar e identificar las estructuras anatómicas de interés en las imágenes de las secciones cerebrales con y sin tinción y de resonancia magnética, realizando de esta manera una correlación entre los tres tipos de imágenes. También se van a delimitar las regiones cerebrales en las superficies laterales, dorsales y ventrales.

d. Realizar impresiones 3D de las secciones con tinciones que marcan diversas

estructuras cerebrales.

e. Creación de una herramienta educativa digital (herramienta Flash interactiva) de estudio del encéfalo de los animales en tres dimensiones, para su uso online en el campus virtual UCM o en cualquier otro espacio web, fuera de la Universidad Complutense, que facilite la adquisición, tanto de competencias generales, como de competencias específicas en relación con el conocimiento de la neuroanatomía de los animales. Esta herramienta tiene también un interés para profesionales de la veterinaria y de la investigación en neurociencias. Se facilitarán los archivos necesarios para poder realizar las impresiones 3D.

2. Objetivos alcanzados

Los objetivos anteriormente enumerados han sido alcanzados de forma satisfactoria. Siguiendo la misma estructura anterior, los objetivos conseguidos

1. Objetivos Generales. – Se han llevado a cabo dos tipos de atlas para cada especie: bidimensional y tridimensional, con imágenes en blanco, teñidas y de resonancia. Cabe destacar que el atlas bidimensional (en 2D) no estaba incluido en la propuesta del proyecto. En cada una de ellas se han identificado las estructuras principales, para la elaboración de la herramienta interactiva realizada mediante este proyecto de innovación educativa.

2. Objetivos Específicos. – Se dividen en los siguientes puntos:

a. En cada una de las regiones cerebrales de los cerebros de las especies propuestas se han delimitado las regiones principales, las estructuras dentro de ellas y sus principales conexiones. Esta información se ha añadido a la herramienta digital creada, que se pretende alojar en la web de la Sección Departamental de Anatomía y Embriología Veterinaria.

b. Se han tomado imágenes de los encéfalos seleccionados en el orden propuesto en los objetivos iniciales, es decir, de resonancia y de los encéfalos seccionados.

c. Se han analizado e identificado las estructuras anatómicas de interés, tanto en las secciones cerebrales como en las de resonancia magnética. En la actualidad nos encontramos en el proceso de impresión de las imágenes 3D.

e. Se ha creado una herramienta educativa digital interactiva de estudio del encéfalo de los animales en tres dimensiones, para su uso online en el campus virtual UCM o en cualquier otro espacio web, fuera de la Universidad Complutense.

3. Metodología empleada en el proyecto

La metodología empleada en el proyecto se resume a continuación:

- A. Obtención de los encéfalos necesarios para el desarrollo del proyecto. Se han utilizado cadáveres procedentes de la Sección Departamental de Anatomía y Embriología (Veterinaria) de la Facultad de Veterinaria de la UCM, o cedidos por grupos de investigación de la UCM que utilicen la rata como animal de experimentación. Los animales incluidos en el estudio no tenían evidencia de enfermedad en el momento del fallecimiento o eutanasia (realizada siempre por motivos ajenos a la realización de este proyecto).
- B. Realización de las resonancias magnéticas. Se han obtenido imágenes en los planos transversal, sagital y dorsal, empleando principalmente secuencia eco de espín y eco de gradiente (secuencias SE potenciadas en T1, SE potenciadas en T2 y secuencias FLAIR).
- C. Se han tomado imágenes de las superficies laterales, dorsales y ventrales de los encéfalos. Después, se han seccionado los encéfalos con el grosor indicado en cada caso. Igualmente, se han tomado fotografías.
- D. Tinción de las secciones y toma de imágenes de las mismas, para proceder a la identificación del mayor número posible de estructuras en el cerebro de ambas especies, sus relaciones y todos aquellos detalles necesarios para situar y comprender posibles procesos neurológicos que pueden afectar a estas especies.
- E. Se han escaneado las secciones teñidas para obtener las correspondientes impresiones 3D.
- F. Con este material se ha elaborado un atlas 3D, combinando cortes biológicos y resonancias, para identificar en ambas el mayor número de estructuras anatómicas posibles.
- G. Se ha elaborado una herramienta docente interactiva para poner los resultados del proyecto a disposición de estudiantes UCM y profesionales interesados.
- H. Estas actividades se han llevado a cabo en las siguientes instalaciones: - Sección Departamental de Anatomía y Embriología de la Facultad de Veterinaria y en el Departamento de Biología Celular de la Facultad de Ciencias Biológicas. - Servicio de Diagnóstico por Imagen del Hospital Clínico Veterinario Complutense (CAI de Bioimagen Complutense). - Unidad de Resonancia Magnética del CAI de Bioimagen Complutense. - CAI de Talleres de Apoyo a la Investigación de la Universidad Complutense de Madrid´
- I. El cronograma que se propuso en la solicitud se ha cumplido

4. Recursos humanos

Los recursos humanos utilizados para conseguir los resultados del proyecto responden a la propuesta inicial. Todos los miembros han participado de forma activa, aportando su especialidad en cada caso. Estos participantes son:

Juncal Milagros González Soriano

María Ardiaca García

Lidia Blázquez Llorca

David Castejón Ferrer

José Luis Corral Pumarega

Encarnación Fernández Valle

María Isabel García Real

Sara Jiménez Álvarez

Rosario Martín Orti

Andrés Montesinos Barceló

Nerea Moreno García

Pilar Pérez Lloret

M^a. José Ruiz Fernández

José Fernández Manrique

Cabe destacar la interdisciplinariedad, ya que son profesores, PAS y estudiantes de distintos Centros de la UCM, o externos, como es el caso de María Ardiaca García. A destacar también la participación de José Fernández Manrique, clave para la internacionalización del proyecto. Por último, hay que señalar a dos estudiantes del Grado en Veterinaria que han realizado su TFG con esta temática: Liliana Carolina Guerrero Delgado e Inmaculada de la Fuente Gómez.

5. Desarrollo de las actividades

El desarrollo de las actividades es consecuencia de los objetivos que hemos ido alcanzando en cada una de las etapas del desarrollo de este proyecto, y la metodología empleada en cada caso.

Las primeras actividades se centraron en la consecución de los encéfalos de los animales. Una vez que fueron aislados del cráneo, perfundidos, en el caso de la rata, y preparados para las fases siguientes. El siguiente paso consistió en la realización de resonancias magnéticas. Gracias a la participación del personal del CAI de Bioimagen UCM hemos podido ir haciendo pruebas, hasta conseguir los mejores resultados posibles. Al ser piezas ex vivo estas pruebas han sido mucho más sencillas de realizar que con el animal vivo.

Una vez que fotografiamos los cerebros, los seccionamos y volvimos a tomar fotografías, esta vez de las secciones encefálicas. Una vez que tuvimos todas las series completas de los encéfalos (es decir, de la parte más rostral a la parte más caudal), procedimos a teñirlos con técnicas histológicas habituales. Cuando tuvimos este material, y lo comparamos con las resonancias, pensamos que merecía la pena hacer un atlas en 2D (que son los clásicos), ya que teníamos que proceder a la identificación de estructuras para construir los encéfalos en 3D. Esta parte no estaba contemplada de esta manera, pero pensamos que era un buen complemento a la propuesta inicial.

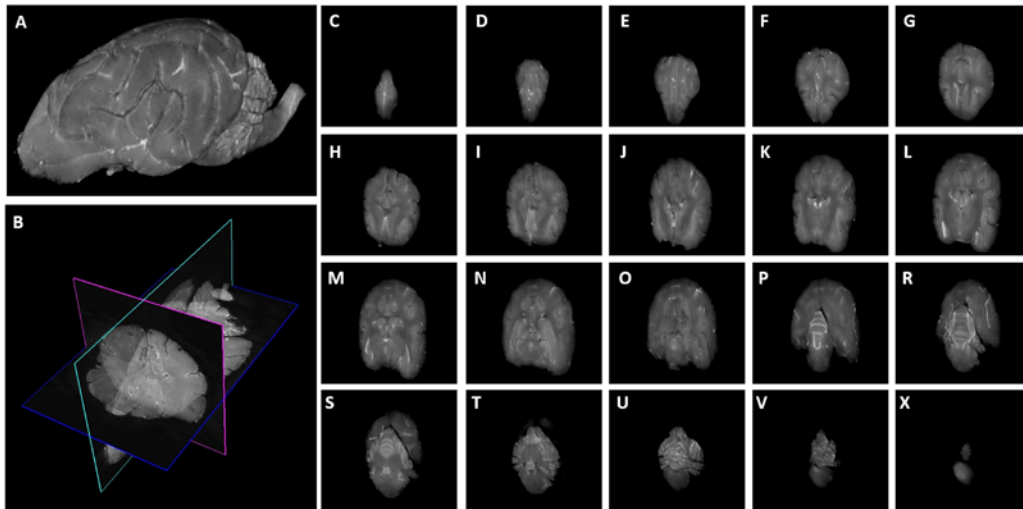
Lo que más ha costado ha sido esa transformación de las imágenes de 2 D en 3D, así como la puesta en común de todos los datos que hemos ido adquiriendo. Para ello hemos utilizado dos programas fundamentalmente: el ImageJ y el Espina. Para hacer las reconstrucciones tridimensionales hemos tenido que segmentar cada una de las estructuras de interés. La segmentación consiste en ir bordeando, una por una, las estructuras para que estos programas generen imágenes en 3D en las que se pueden, tanto rotular estas estructuras, como ver la relación que tienen tridimensionalmente. Esto resulta fundamental, ya que una de las claves para entender el encéfalo desde el punto de vista anatómico es conocer la relación que guardan cada una de las estructuras de interés.

Una vez concluida esa fase, hemos tenido dos objetivos. El primero, dar a los encéfalos tridimensionales un formato adecuado para que hacerlo accesible, tanto a los estudiantes UCM, como a otros externos no UCM, y profesionales, tanto biólogos como veterinarios. Además, hay que contar con José Fernández Manrique, de la Universidad de los Llanos, en Colombia y participante en este proyecto, ya que también va a estar alojado en la web de su universidad. El segundo, conseguir impresiones 3D de calidad. Nuestro objetivo es producir un material, que entendemos necesario, tanto para las prácticas en Veterinaria como en Ciencias Biológicas. Las pruebas realizadas hasta ahora son prometedoras, por lo que aspiramos a crear una especie de aula 3D, accesible a todos los estudiantes que deseen utilizarla.

Pensamos que es interesante también incluir, dentro de este apartado de desarrollo de actividades, la realización de dos TFGs, de dos estudiantes de Grado en Veterinaria, que han estudiado el encéfalo de la rata (Inmaculada de la Fuente) y el del perro (Liliana Carolina Guerrero), tanto bidimensional, como tridimensionalmente. Hay que destacar que para nosotros, estas dos estudiantes son el primer retorno inmediato de los resultados de este proyecto, ya que se han sentido seguras, cómodas trabajando con este material, y lo más importante, han conseguido entender cómo está el encéfalo de los animales organizado en su interior, sus conexiones, y las relaciones que guardan las distintas estructuras.

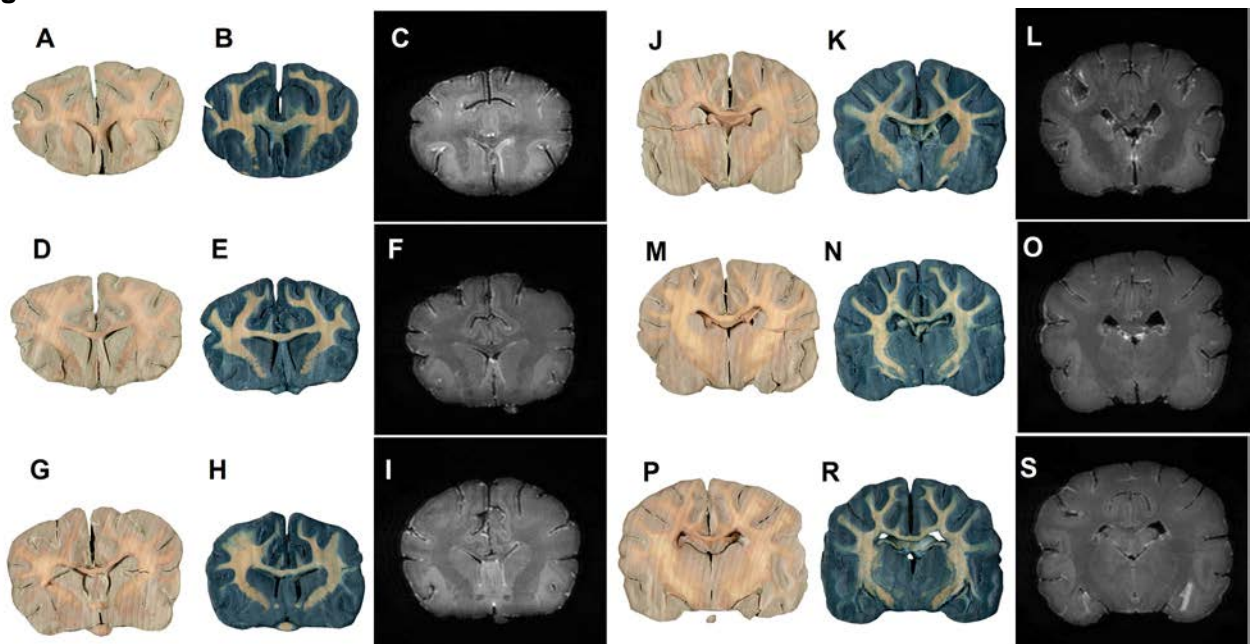
6. Anexos

Figura 1



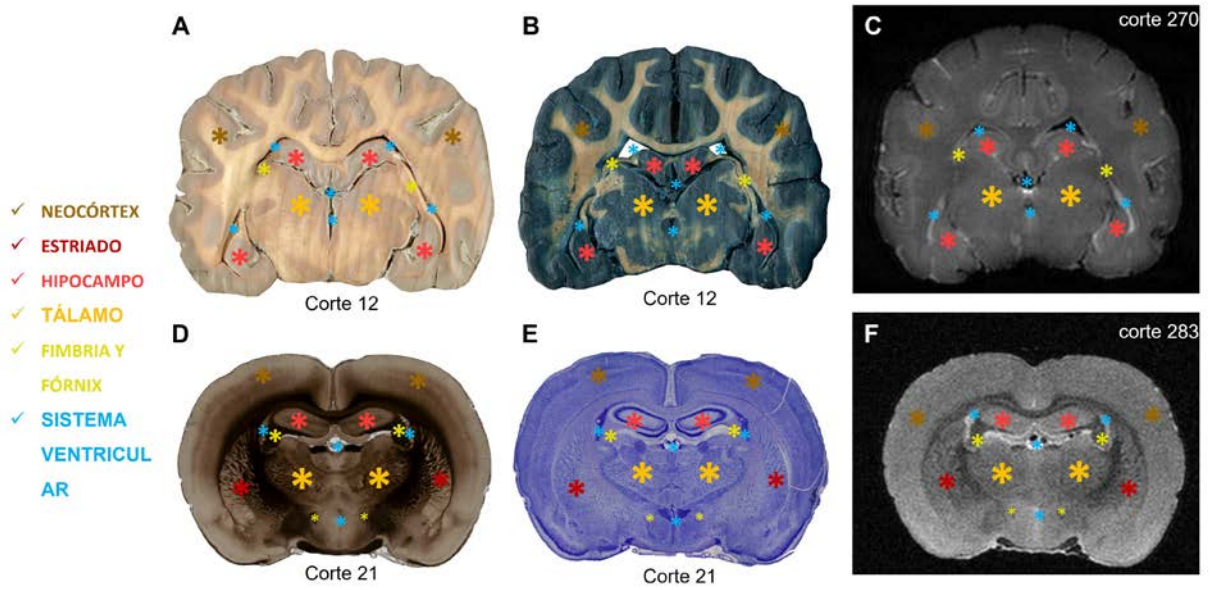
Reconstrucción volumétrica de los encéfalos mediante imágenes de resonancia magnética, ejemplo en el perro. A, Imagen de la superficie cerebral del perro creada a partir de las imágenes de resonancia magnética. B, Visualización del encéfalo del perro en tres planos ortogonales. C-X, secciones gruesas transversales de resonancia magnética (grosor 3,5 mm) desde la parte más craneal (C) hasta la más caudal (X).

Figura 2



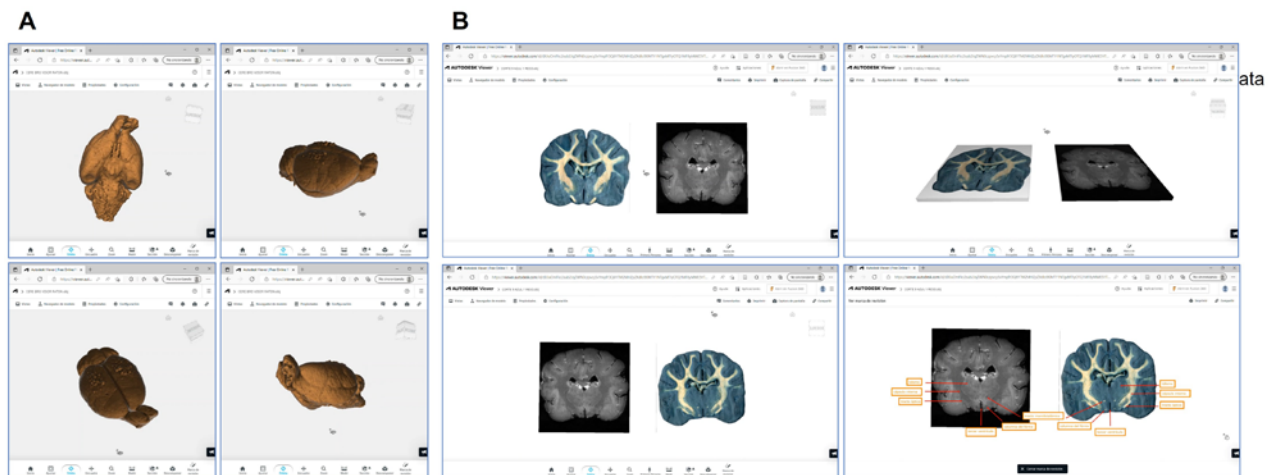
Procesamiento de los encéfalos, ejemplo en el perro. A, B, D, E, G, H, J, K, M, N, P, R, secciones histológicas transversales del cerebro del perro de un nivel equivalente al de la resonancia magnética (C, F, I, L, O, S)

Figura 3



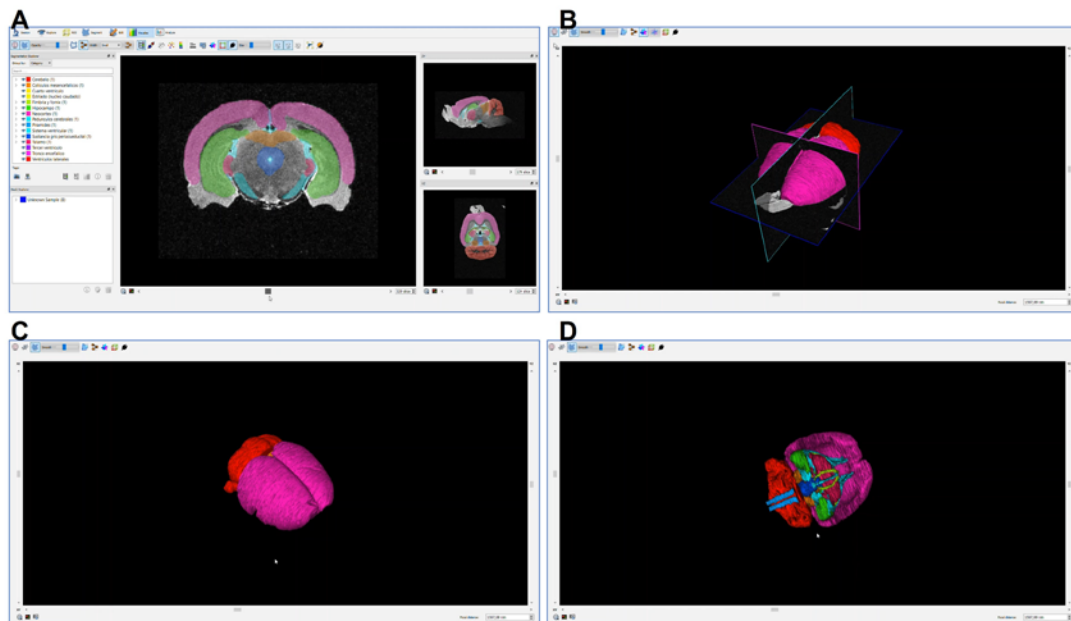
Etiquetado de las regiones cerebrales en 2D. A, B, D, E, secciones cerebrales histológicas del perro (A, B) y de la rata (D, E). C, F, secciones de resonancia magnética de un nivel equivalente a las secciones histológicas. Los asteriscos indican distintas regiones cerebrales según el código de colores de la leyenda.

Figura 4



Visualizador de modelos 3D. A, objeto 3D creado a partir de las imágenes de resonancia magnética del encéfalo de la rata. Podemos observar cuatro vistas distintas de dicho encéfalo. B, objeto 3D creado a partir de secciones cerebrales histológicas y de resonancia magnética equivalentes en el perro. El usuario puede interactuar con el objeto 3D y observar el etiquetado de las regiones cerebrales.

Figura 5



Reconstrucción de regiones cerebrales en 3D. A, Interfaz del programa EspINA empleado para realizar las reconstrucciones. Cada región cerebral se segmenta en las secciones de resonancia magnética donde está presente con un color diferente. B, C, D, distintas vistas del visualizador 3D. Podemos observar en 3D, con distintos colores, las regiones cerebrales reconstruidas.