



Universiteit
Leiden

The Netherlands

Microstructural and metabolic alterations in the zebrafish brain induced by toll-like receptor 2 deficiency: insights from ultra-high field magnetic resonance imaging and spectroscopy

Singer, R.

Citation

Singer, R. (2025, March 25). *Microstructural and metabolic alterations in the zebrafish brain induced by toll-like receptor 2 deficiency: insights from ultra-high field magnetic resonance imaging and spectroscopy*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/4208928>

Version: Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/4208928>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

SAMENVATTING

Microstructurele en Metabole Veranderingen in het Zebravis Brein veroorzaakt door Toll-Like Receptor 2 Deficiëntie

Inzichten verkregen met Ultra-Hoogveld beeldvorming met magnetische resonantie en Spectroscopie

Geavanceerde UHF MRI technieken bieden krachtige methoden voor onderzoek naar het brein van zebravissen, een opkomend model in neurologisch onderzoek. In dit werk worden verschillende MRI en gelokaliseerde-MRS methoden geoptimaliseerd en toegepast voor gebruik bij UHF-sterkte, specifiek voor onderzoek naar zebravis hersenen. Deze technieken worden gebruikt om het effect van TLR2-deficiëntie te bestuderen. Toll-like receptoren, en met name TLR2, zijn van vitaal belang voor het herkennen van pathogenen en het initiëren van immuunreacties in het lichaam. Er is echter sterk bewijs dat TLR2 ook betrokken is bij de ontwikkeling van verschillende neurologische aandoeningen. Hoewel essentieel voor het bestrijden van infecties, kan TLR2 dysregulatie leiden tot neuro-inflammatie - ontstekingen in het brein, en neurodegeneratie - de geleidelijke afbraak van zenuwcelstructuren. De volledige rol van TLR2 in de normale hersenfunctie is nog steeds slecht begrepen en vereist verder onderzoek. Dit onderzoek toont aan dat geavanceerde MRI technieken het mogelijk maken om microstructurele en metabolische veranderingen in de hersenen van een TLR2-deficiëntie zebravismodel te monitoren. Deze aanpak biedt ongekeerde details en nauwkeurigheid bij het bestuderen van de effecten van TLR2-deficiëntie op de structuur en functie van de zebravishersenen.

Hoofdstuk 1 van dit proefschrift biedt de context en theoretische achtergrond van de verschillende MRI-, diffusie MRI - en MRS-technieken die in dit onderzoek worden gebruikt. Dit hoofdstuk legt de basis door de principes en toepassingen van deze technieken uit te leggen en te beschrijven hoe ze bijdragen aan het onderzoek. Bovendien wordt de reikwijdte van het proefschrift geschetst, waarbij de specifieke doelstellingen en onderzoeksvragen in de volgende hoofdstukken de revue passeren.

Hoofdstuk 2 richt zich op de toepassing van UHF MRI bij 28.2 T voor de visualisatie van hersenstructuren en witte stofbanen in zebravissen. De longitudinale relaxatietijden T_1 en transversale relaxatietijden T_2 worden bepaald, waarbij een toename van T_1 en een afname van T_2 is geobserveerd in vergelijking met lagere veldsterktes. Voor de visualisatie van hersenstructuren wordt de RARE sequentie geoptimaliseerd, wat resulteert in hoog-resolutie anatomische beelden met een resolutie van $23 \mu\text{m} \times 23 \mu\text{m}$. Bovendien wordt aangetoond dat extra contrast wordt verkregen door gebruik te maken van diffusie-eigenschappen

in hersenweefsel via DWI. Daarnaast wordt DTI geoptimaliseerd voor de schatting van diffusiviteitsmetingen. Voor de visualisatie van witte stofstructuren wordt dMRI-tractografie toegepast met behulp van stTDI msmt CSD. De eerste resultaten van deze methoden voor intacte zebrafissen, laten het vermogen zien om kleine witte stofstructuren in de zebrafishersenen te visualiseren.

In **hoofdstuk 3** worden MRI-, dMRI- en dMRI-tractografie-methoden gebruikt om microstructurele veranderingen in de hersenen van *tlr2^{-/-}* zebrafissen te monitoren. Anatomische MRI onthult significante veranderingen in de *tlr2^{-/-}* hersenmorfologie, terwijl MSME verhoogde T_2 aantoonde in verschillende hersengebieden. Mono- en multi-componentanalyse van de DWI-gegevens toont een afname van de ADC, specifiek toe te schrijven aan een toename van de langzame ADC component. Deze resultaten wijzen mogelijk op astrogliosis, cytotoxisch oedeem of ontstekingsprocessen in de hersenen *tlr2^{-/-}* zebrafissen. Analyse van witte stofstructuren, onthult een significante afname van de diffusiviteit en een toename van de diffusie-kurtose in meerdere witte stofstructuren, wat wijst op verminderde witte stofintegriteit of ontstekingsprocessen. Opvallend is dat er een mogelijke link kan worden gelegd naar gedragsveranderingen die zijn waargenomen in *tlr2^{-/-}* modellen, zoals verminderde spontane activiteit, verminderde voedselinname en verstoorde circadiane ritmes. De resultaten tonen aan dat UHF MRI, dMRI en dMRI-tractografie de benodigde resolutie en SNR bieden om microstructurele veranderingen in kleine structuren in de hersenen van pathologische zebrafismodellen te bestuderen.

Hoofdstuk 4 richt zich op de optimalisatie van enkelvoudige voxel gelokaliseerde ^1H MRS om de neurochemische samenstelling van de zebrafishersenen bij 28.2 T te monitoren. Er wordt aangetoond dat UHF MRS MR-spectra levert van geselecteerde regio's tot 125 nL. "Chemical shift displacement effects" verstoren de waarnemingen bij 28.2 T, waardoor het gebruik van sterke gradientpulsen en een goed afgestemde excitatiefrequentie specifiek voor de gewenste metabolieten vereist is. Na optimalisatie worden stabiele metabole profielen verkregen op verschillende locaties in de zebrafishersenen. Dit maakt monitoring van het neurochemische milieu in verschillende hersengebieden mogelijk. Door acquisitieparameters aan te passen en gebruik te maken van de hoge spectrale resolutie die beschikbaar is bij 28.2 T, is het mogelijk om MRI artefacten te minimaliseren en de betrouwbaarheid van de metabolietkwantificatie te maximaliseren. Dit stelt ons in staat om precieze en reproduceerbare veranderingen van de concentraties van metabolieten te observeren, wat cruciaal is voor het bestuderen van de biochemie van de hersenen onder verschillende fysiologische en pathologische omstandigheden.

In **hoofdstuk 5** wordt HR-MAS spectroscopie gebruikt om neurochemische veranderingen in de hersenen van TLR2-deficiente zebravis te monitoren. Significante veranderingen in de concentraties van glutamaat, GABA, glutamine, alanine, lactaat en myo-inositol werden gevonden. Deze gegevens wijzen op veranderingen in neurotransmissie en metabole processen, mogelijk indicatief voor excitotoxiciteit, verhoogde cerebrale energievraag en astrogliosis. Verder werd gelokaliseerde MRS gebruikt om informatie te verkrijgen over het metabole profiel van specifieke hersenregio's bij de zebravis. Met een focus op verschillende gebieden binnen de hersenen, maakt deze techniek het mogelijk om ruimtelijke variaties in concentraties van metabolieten te meten, waardoor een gedetailleerd beeld ontstond van metabolische veranderingen die geassocieerd zijn met TLR2-deficientie. In de voor-, midden en achterhersenen werden hoge niveaus van lactaat waargenomen, wat wijst op een sterke energievraag in de hersenen als gevolg van TLR2-deficientie. Een laag niveau van NAA in de achterhersenen, in een gebied dat overlapt met belangrijke witte stofbanen, geeft aan dat TLR2-deficientie mogelijk een effect heeft op de integriteit van de witte stof.

Tot slot wordt in **hoofdstuk 6** de algemene conclusie en toekomstige vooruitzichten van dit werk gegeven.