

Biointegración de polímeros sintetizados por plasma

Morales J.¹, Escalona-Delgado A.⁶, Morales Axayacatl⁶, Álvarez-Mejía A.L.⁶, Mondragón-Lozano R.⁶, Díaz-Ruiz A.², Rios-Castañeda C.², Salgado-Ceballos H.^{3,5}, Cruz G. J.⁴, Olayo M.G.⁴, Aspiroz J.⁶, Rodríguez A.⁶, Olayo R.¹
jmor@xanum.uam.mx

¹Departamento de Física, Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa, México.

²Departamento de Neuroquímica, Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía Manuel Velasco Suárez S.S.A., México.

³Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Neurológicas, Hospital de Especialidades, Centro Médico Nacional Siglo XXI, México.

⁴Departamento de Física, Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares, México.

⁵Centro de Investigación del proyecto CAMINA A.C., México.

⁶Departamento de Ingeniería Eléctrica, Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa, México.

1. Resumen

En este trabajo estudiamos la biointegración de materiales poliméricos sintetizados por plasma en medulas lesionadas. Se evalúan las características generales de la LTME por medios visuales usando imágenes histológicas de la médula espinal teñida por la técnica de Eosina/Hematoxilina. Se presentan también algunos procedimientos computacionales de segmentación de médula espinal, sobre la integración del polímero al tejido de la médula lesionada. Se propone un algoritmo que relaciona el área del fondo-tejido con la suma de las áreas del tejido y del polímero implantado. Este procedimiento proporciona información del comportamiento de la biointegración ó destrucción del material polimérico en la médula espinal después de una lesión por sección completa.

2. Introducción

El sistema visual humano es uno de los mecanismos de procesamiento de imágenes más poderosos que existen. Es capaz de detectar, analizar y almacenar una gran cantidad de imágenes. La visión es sin duda el sentido más empleado por la especie humana. En general, el procesamiento de imágenes consiste en manejar la información visual para obtener mejores resultados o para aislar algunas características particulares de las imágenes [1]. En este trabajo se usa el procesamiento de imágenes histológicas para tratar de entender como se integra un polímero sintetizado por plasma en una LTME.

3. Experimental

Para este trabajo se sintetizaron películas delgadas de polipirrol/Iodo (PPy/I) y el copolímero polipirrol/polietilenglicol (PPy/PEG) por medio de polimerización por plasma. La síntesis se realizó en un reactor tubular de vidrio, con los siguientes parámetros: potencia 18W, radio frecuencia de 13.5MHz, presión 1.5×10^{-2} Torr, y temperatura 365K, el tiempo total de reacción fue de 300min. Las películas obtenidas se molieron y se compactaron para formar una pastilla (1.5cm de diámetro y 0.1cm de espesor) que se usó como implante en la LTME.

Se utilizaron ratas hembras adultas de la cepa Long Evans, entre 12–14 semanas de edad con peso corporal de entre 230-250g. Los animales fueron anestesiados y sometidos a un modelo de sección completa de la médula espinal utilizando tijeras de microcirugía y corroborando la desconexión completa con un gancho quirúrgico, al termino de la sección, justo en el sitio de lesión se introdujo en forma trasversal un trozo de polímero.

3.1 Imágenes Histológicas

Después de ocho semanas de la LPSC de la médula espinal los animales fueron perfundidos. Primero se anestesiaron con ketamina e hidrocloreuro de xilacina a dosis de 77.5 y 12.5mg/Kg. de peso corporal. Fueron perfundidos con formaldehído. Se retiró un segmento de la médula espinal de 1cm de largo aproximadamente centrado en el epicentro de la LPSC. Las muestras fueron microtomadas para el análisis histológico con la técnica de hematoxilina y eosina de Harris. Las imágenes de los segmentos de médula espinal fueron adquiridas y digitalizadas con una cámara sony 300FX, software IM 1000, y microscopio Leica V.4.01.

4. Resultados y Discusiones

4.1 Metodología en Procesamiento de Imágenes

Según las imágenes histológicas de la Fig. 1, si se quiere abstraer en un modelo único, comportamiento de la lesión con y sin implante, se pueden dar las siguientes posibilidades:

- Médula aparentemente integra sin polímero y sin destrucción de tejido
- Médula aparentemente integra con polímero en el centro sin destrucción de tejido ni quiste.
- Médula con destrucción sin polímero pero con quiste envuelto por tejido.
- Médula con destrucción con polímero y quiste envuelto por tejido.
- Médula aparentemente integra sin quiste pero con polímero semienvuelto por tejido
- Médula aparentemente integra con quiste y polímero semienvuelto por tejido
- Médula aparentemente integra sin polímero pero con quiste semienvuelto por tejido
- Médula con polímero destruido o esparcido.
- Combinaciones de las opciones.

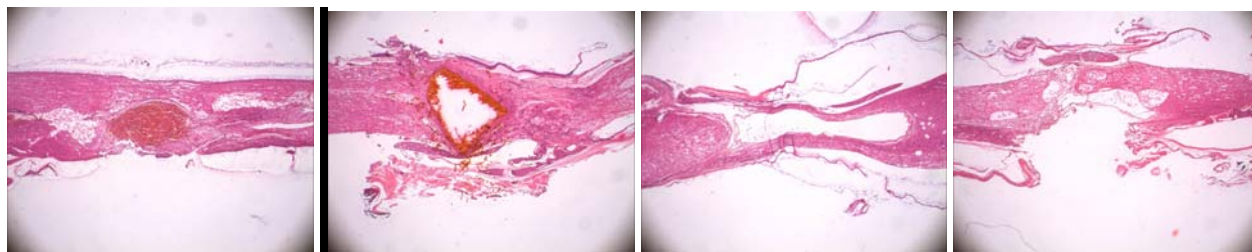


Figura 1. Imágenes Histológicas sobre el sitio de lesión [2.5X]

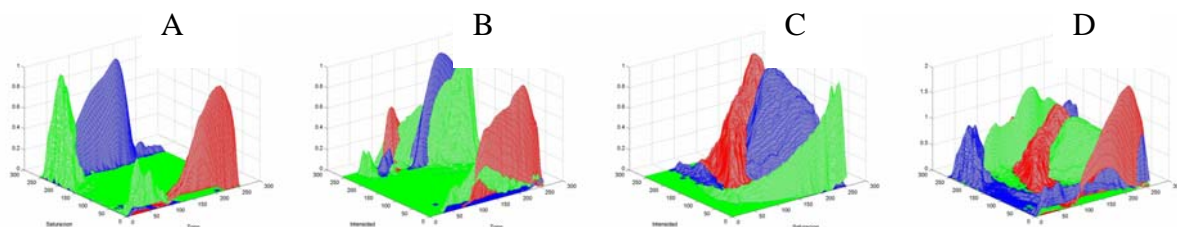


Figura 2. (a). Funciones de membresía de los grupos T (verde), P (rojo) y F (azul) en el plano [Saturación Tono]; (b). Funciones de membresía según el plano [Intensidad, Tono]; (c) Funciones de membresía según el plano [Intensidad, Saturación]; (d). Superposición de las funciones de membresía.

4.2 Entrenamiento: funciones de membresía de la lógica difusa

Indistintamente se tomó un grupo de imágenes de los diferentes grupos de ratas, se fragmentaron las imágenes formando tres grupos de imágenes

- Grupo T. Formado por 20 fragmentos de imagen en que los que predomina el tejido de la médula.
- Grupo P. Formado por 20 fragmentos de imagen en que los que predomina el polímero implantado.
- Grupo F. Formado por 20 fragmentos de imagen en que los que predomina el quiste o fondo.

El entrenamiento debe ser capaz de encontrar las funciones de distribución de cada grupo y que al superponerlas pueda modelarse como un clasificador con funciones de membresía de lógica difusa. En la Fig. 2 (a) se muestran las funciones parciales de membresía de las propiedades $[h, s]$ $K_{T_{HS}}(h, s)$ (Verde = Tejido), $K_{P_{HS}}(h, s)$ (Rojo = Polímero) y $K_{F_{HS}}(h, s)$ (Azul = Fondo y quiste). De la mismo forma las figuras 2 (b) y 2 (c), muestran las membresías parciales de $[h, v]$ y $[s, v]$ respectivamente. En la Fig. 2 (d) se muestra e comportamiento de la función de membresía global de los tres grupos T, P y F.

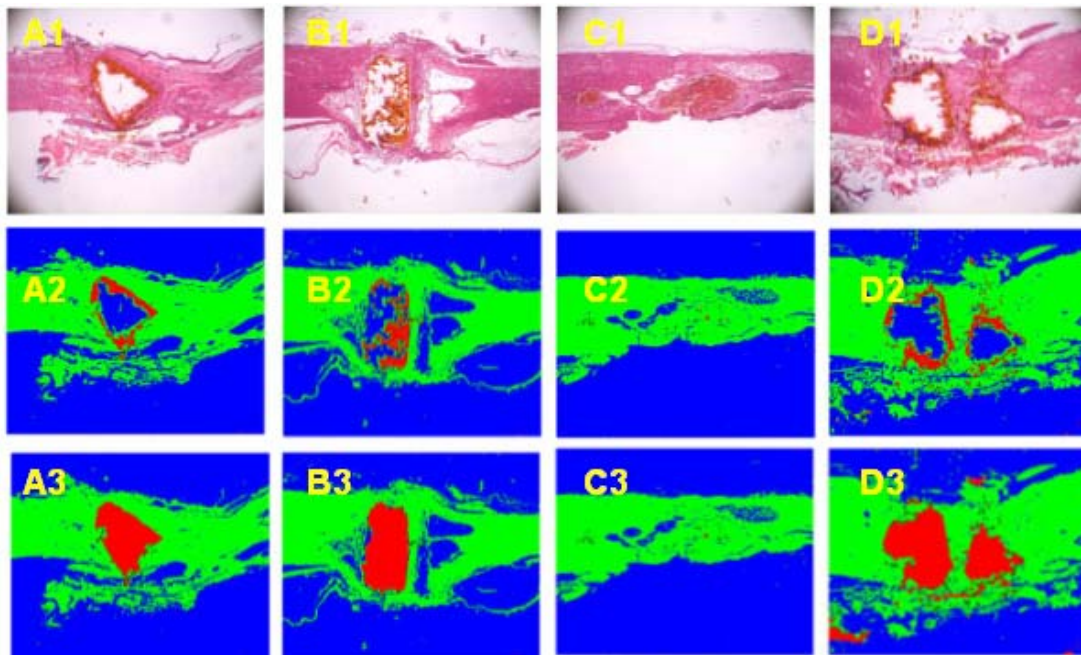


Fig. 3. Resultado de procesar 3 diferentes imágenes con el algoritmo de lógica difusa. Fila 1: Imágenes originales; Fila 2: Imágenes segmentadas con el modelo difuso; Fila 3: Imágenes con reconstrucción de área polimérica.

En la Fig. 3 se muestran los resultados de la aplicación del modelo de lógica difusa a los cortes de médula espinal. Se puede apreciar la biointegración del material polimérico (Rojo), tejido de médula espinal (Verde) y fondo-quiste (Azul). En la Fig.3 se muestra el resultado al procesar 4 imágenes de diferentes ratas, la fila 1 corresponde a las imágenes originales, la fila 2 corresponde a las imágenes segmentadas con el modelo difuso, y la fila 3 son las imágenes segmentadas con reconstrucción de área polimérica.

En la Fig. 4 se muestra una comparación de una estimación de áreas con el algoritmo y con 3 observadores distintos realizadas manualmente sobre el mismo grupo de imágenes.

5. Conclusiones

Con la reconstrucción de área polimérica se entiende que existe un riesgo en el que el programa aporte más área de polímero en zonas que no debe de existir, sin embargo, es un costo que puede tener esta reconstrucción pero se han realizado pruebas con diferentes elementos estructurantes en el que la reconstrucción sea conveniente y la sobre reconstrucción no sea demasiada. Las líneas que limitan el quiste del fondo es otro elemento del algoritmo con cierto riesgo aun así las comparaciones con las mediciones realizadas manualmente no sobresale como algo critico.

Se ha mostrado una propuesta para encontrar no solo cuantitativamente sino de manera automática y rápida un índice que proporciona información del comportamiento de la integración o destrucción de la médula espinal tras una lesión por sección completa más un implante polimérico conductor. Las imágenes se presentan en múltiples formas cortes, distribuciones, posición del polímetro, curvatura, etc. A pesar de esto el algoritmo pretende dar una solución generalizada e invulnerable a formas, aunque se han podido encontrar que son muchos los factores que intervienen desde el instrumental de la lesión hasta la fijación y el microtomo con el que hacen los cortes.

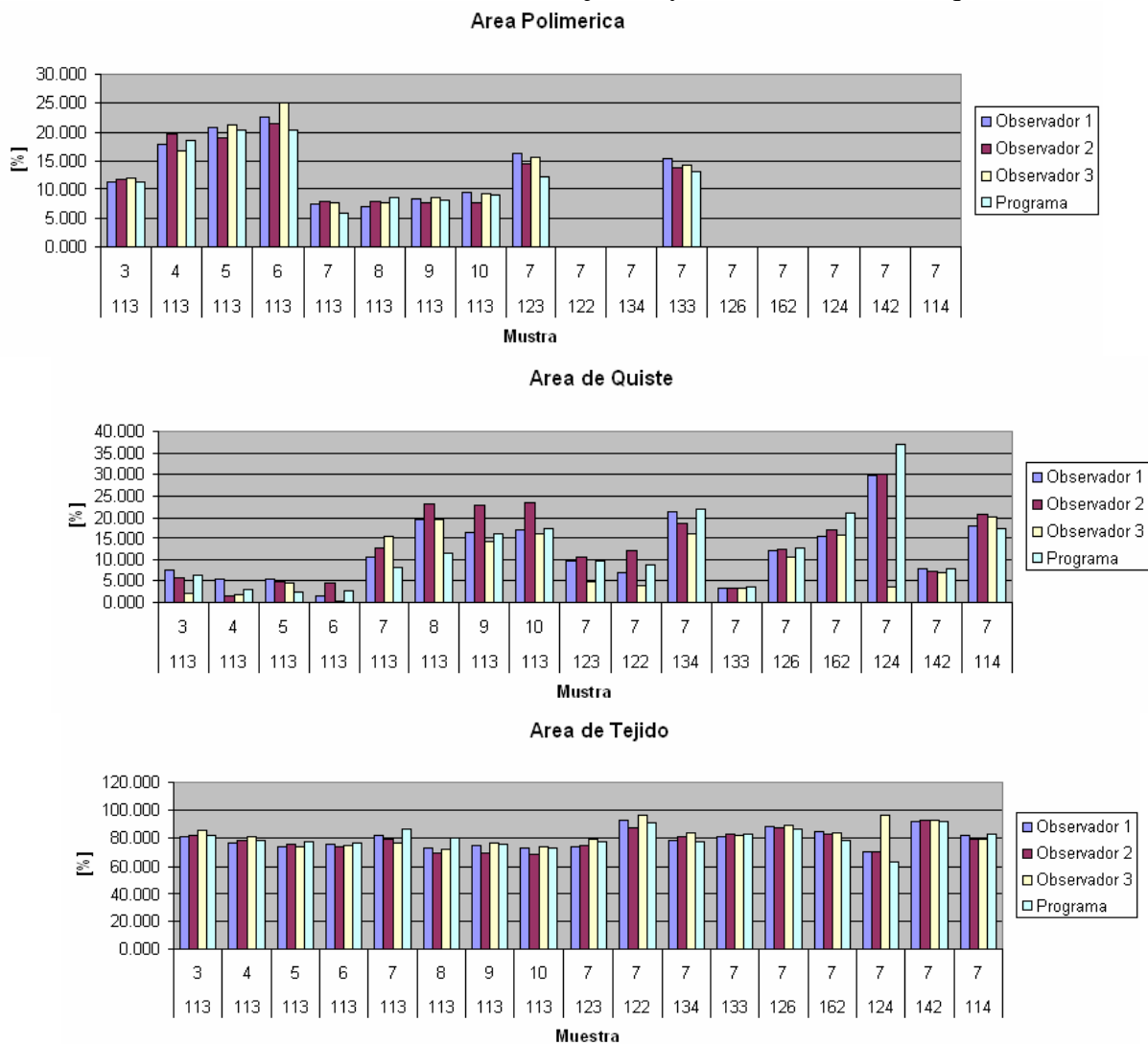


Figura 4. Comparación de las mediciones entre el algoritmo y tres observadores aplicado al mismo grupo de imágenes y donde se ha medido los tres componentes principales.

Los autores agradecen al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT-México) el financiamiento parcial de este proyecto SEP-2004-C01-46467.