

Nowe techniki tworzenia atlasów mózgów

Kartografia mózgu



PIOTR MAJKA

Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego
Polska Akademia Nauk, Warszawa
p.majka@nencki.gov.pl
Piotr Majka jest doktorantem w Pracowni Neuroinformatyki IBD PAN. Zajmuje się tworzeniem oraz udostępnianiem cyfrowych atlasów mózgu. Jest również członkiem Programu Cyfrowych Atlasów Mózgu w ramach International Neuroinformatics Coordinating Facility.

Atlasy mózgu są bardzo ważnym narzędziem w neurobiologii. Dziś metody ich tworzenia intensywnie się rozwijają także dzięki polskim badaczom

Wszyscy chyba znamy usługi takie jak Google Maps. Narzędzia te pokazują, w jaki sposób dane różnego pochodzenia zebrane przez wielu użytkowników mogą być udostępniane poprzez pojedynczy i wygodny interfejs. Dla przykładu: mamy zdjęcia satelitarne, mapy topograficzne, plany miast, informację o natężeniu ruchu ulicznego. Możemy wybrać pewien punkt (np. pomnik) i uzyskać natychmiastowy dostęp do związanych z nim zdjęć, filmów czy innych informacji w internecie. To pokazuje, w jaki sposób możemy zebrać i połączyć różnorodne dane, których wspólnym mianownikiem jest wyłącznie lokalizacja określona za pomocą współrzędnych geograficznych.

Kilkanaście lat temu nie było to możliwe. Do niedawna korzystaliśmy głównie z drukowanych atlasów, w górach towarzyszą nam arkusze map z wyznaczonymi szlakami. Informacje zawarte w drukowanych mapach są równoważne usługom typu Google Maps, ale trudniej jest je rozpowszechniać i przetwarzać. Jeżeli ktoś zaznaczy coś na swoim egzemplarzu, informacja ta będzie dostępna tylko dla tej osoby i nie będzie propagowana dalej.

Dlatego, pisząc o atlasach mózgu, zacząłem od nauk o Ziemi? Otóż w neurobiologii także uprawia się swoistą kartografię. Tam również kluczowe jest położenie, opisujące, co znajduje

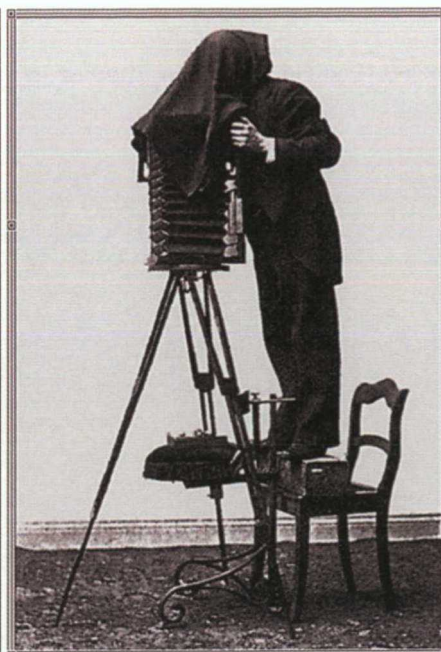
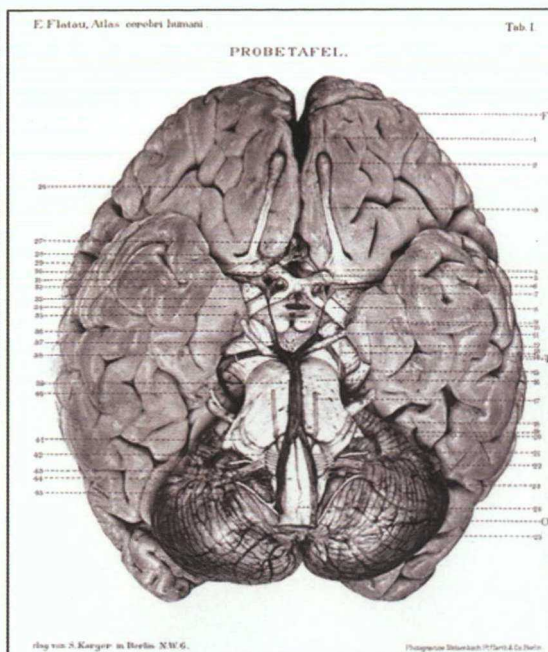
się w danej części mózgu lub też inaczej: w którym miejscu mózgu można znaleźć daną część określoną strukturalnie bądź też funkcjonalnie.

Niestety, tutaj analogie atlasów mózgu z atlasami geograficznymi się kończą. Planeta Ziemia jest jedna, natomiast atlas mózgu (np. danego szczepu myszy laboratoryjnej) został wykonany na podstawie pojedynczego mózgu albo próby zwierząt i przyjmuje się, że jest reprezentatywny dla całej populacji. Mózgi podczas przygotowywania takiego atlasu są bezpowrotnie tracone i siłą rzeczy nie można ich wykorzystać do innych doświadczeń. Konieczne jest zatem zbieranie wiedzy z poszczególnych badań w jednym, wspólnym miejscu. Taką funkcję pełnią właśnie atlasy mózgów.

Klasyczne atlasy mózgu

Początki atlasów mózgu wiążą się z początkami badań nad układem nerwowym. Pierwsze atlasy powstały pod koniec XIX wieku, kiedy na poważnie zaczęto zajmować się neurobiologią, neuroanatomią i naukami behawioralnymi. Warto tu wspomnieć naszego rodaka Edwarda Flatau, pioniera neuroanatomii. Wykonał on w 1894 roku atlas mózgu człowieka na podstawie serii własnoręcznie wykonanych fotografii skrawków mózgu.

Od tego czasu atlasy mózgu ewoluowały. Klasyczna forma atlasów mózgu to drukowana publikacja, analogiczna do znanych nam tradycyjnych atlasów geograficznych. W takim atlasie, strona po stronie, prezentowane są pieczołowicie opisywane fotografie skrawków mózgu wybarwionych różnymi metodami. Często całość opisana jest wyczerpującym komentarzem autorów. Wprowadzono również układy współrzędnych pozwalające na precyzyjne określenie położenia w mózgu za pomocą współrzędnych zamiast ogólniejszego opisu słownego. W każdym laboratorium badającym funkcjonowanie mózgu zwierząt jednym z podstawowych narzędzi jest właśnie atlas mózgu. Można zaryzykować stwierdzenie, że używany jest również często jak mikroskop.



Przykładowe zdjęcie z atlasu mózgu człowieka E. Flatau (z lewej). E. Flatau demonstrujący metodę wykonywania obrazów mózgu (z prawej)

Techniki i obliczenia

W ostatnich dekadach techniki doświadczalne, w tym techniki obrazowania, ale również techniki neurofizjologiczne, mocno się rozwinęły. Poprawiła się ich jakość, nastąpił również ogromny wzrost ilości wytwarzanych danych. Niektóre techniki (np. hybrydyzację *in situ*) stosuje się w reżimie wysokiej przepustowości (*high throughput*). Zaczęto masowo wykonywać obrazowanie metodą rezonansu magnetycznego (MRI, fMRI) i pozytonowej tomografii emisyjnej (PET). W dalszym ciągu mamy również do czynienia z różnymi technikami histologicznymi i immunohistochemicznymi. Nastąpił też dynamiczny rozwój nauk obliczeniowych. Zaczęto komputerowo modelować układ nerwowy. W niektórych obliczeniach tego typu kluczowe jest położenie oraz przestrzenna orientacja poszczególnych symulowanych komórek w mózgu.

Rozwój technik doświadczalnych i obliczeniowych oraz różnorodny i masowy charakter danych postawił nowe wymagania przed atlasami mózgowymi. Choć książka, którą możemy wertować, jest cenna ze względu na jej wysoką jakość merytoryczną, to nie spełnia ona jednak kryteriów, które stawiają przed nią nowe techniki.

Forma takich drukowanych, dwuwymiarowych atlasów nie przystaje do w pełni trójwymiarowego charakteru wytwarzanych obecnie danych. Mózg jest obiektem przestrzennym i naturalne jest analizowanie jego budowy oraz funkcji w kontekście trójwymiarowym. Pozbawienie atlasu trzeciego wymiaru zmniejsza precyzję lokalizowania danych w mózgu, a co za tym idzie - utrudnia przeprowadzanie

doświadczeń i jest przyczyną wielu błędów wykonywanych na etapie doświadczeń oraz na etapie analizy danych.

W trzeci wymiar

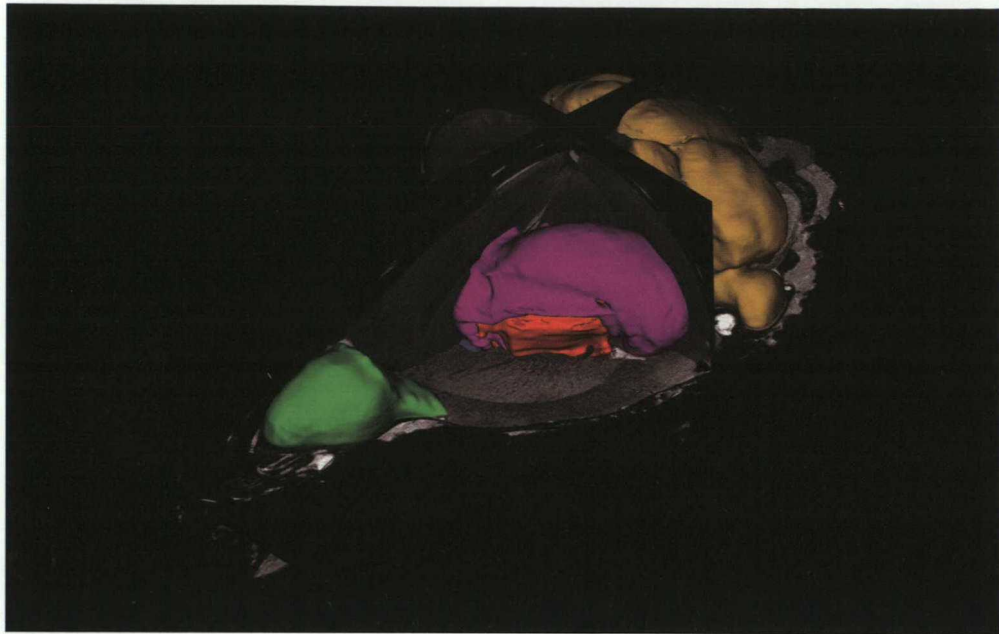
Kolejnym krokiem w rozwoju atlasów mózgowych zwierząt laboratoryjnych było przejście z dwóch do trzech wymiarów. Jakie zalety ma cyfrowy atlas trójwymiarowy w porównaniu z atlasem klasycznym, drukowanym? Bardzo powszechne w badaniach jest wykonywanie różnego rodzaju iniekcji do mózgu bądź też implantowanie w mózgu elektrod w ściśle określonym miejscu. Nawigowanie przy użyciu dwuwymiarowego atlasu jest trudne i wymaga olbrzymiego doświadczenia. Użycie atlasu trójwymiarowego ułatwia te czynności. Przekłada się to np. na precyzyjniejsze planowanie oraz wykonywanie iniekcji, dzięki czemu poświęcamy mniej zwierząt, a operacje są wykonane z większą precyzją. Poprawia to jakość zebranych danych oraz ułatwia ich analizę i interpretację wyników. Trójwymiarowy atlas jest niepo-



Przykład jednego ze skrawków z dwuwymiarowego atlasu mózgu myszy. Na prawej stronie preparatu wyróżniono oraz obrysowano struktury mózgowe

Nowe techniki tworzenia atlasów mózgów

Trójwymiarowy atlas mózgu myszy wykonany na podstawie obrazów MRI z obrysowanymi strukturami mózgowymi



<http://software.incf.org/software/waholm-space/>

równywalnie lepszym narzędziem do celów edukacyjnych oraz eksploracyjnych. Łatwiej jest też wyobrazić sobie położenia struktur (Które struktury do siebie przylegają? Którędy przebiegają wiązki nerwów?). Mając reprezentację mózgu w spójnej, trójwymiarowej formie, możemy ją również wirtualnie (na ekranie komputera) kroić na rozmaite sposoby na przykład w celu zaprojektowania doświadczalnego cięcia zachowującego wybrane połączenia między zadanymi strukturami w mózgu.

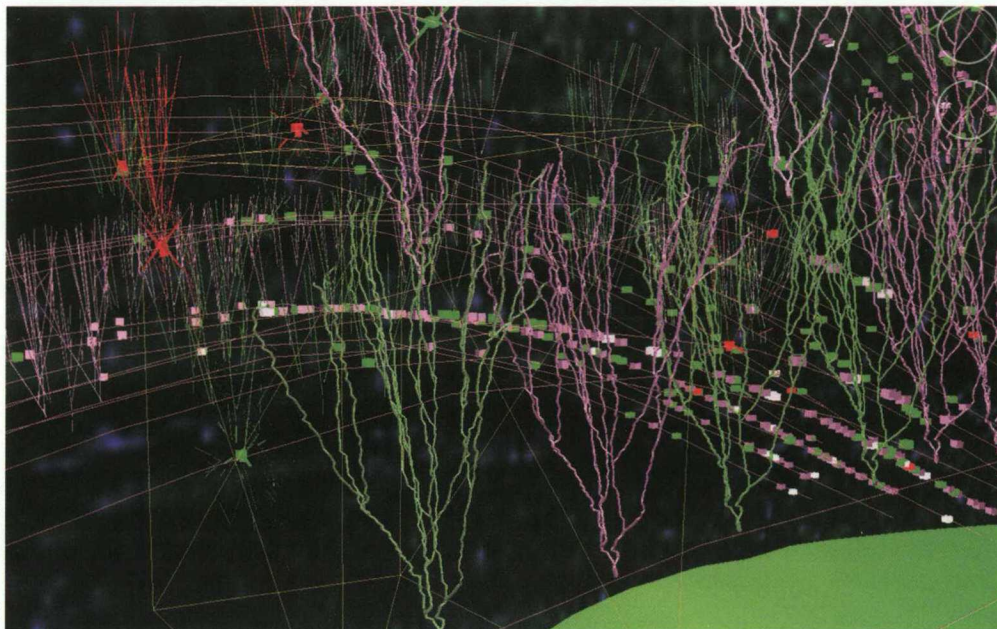
Standardowy mózg

Trójwymiarowy atlas nie tylko ułatwia eksplorację mózgu, ale, co równie istotne, tworzy referencyjną przestrzeń („standardowy mózg”). W takim układzie odniesienia można umieszczać (mapować) dane zebrane z różnych badanych osobników, podczas różnych doświadczeń, z różnych grup badanych w ramach danego doświadczenia, danych wykonanych różnymi technikami doświadczalnymi itd. Te różne rodzaje danych to np.: histologia, MRI, dane dotyczące ekspresji genów, białek, dane elektrofizjologiczne czy też np. obrysy struktur mózgu. Jednak w cyfrowym atlasie możemy umieszczać nie tylko dane ciągłe, jak np. obrazy czy też gęstość ekspresji genów, ale również dane punktowe. Możemy również umieścić informację mówiącą, że zbadano neuron po-

chodzący z konkretnego miejsca w mózgu. Atlas może zawierać odnośnik do szczegółowego opisu literaturowego danego neuronu, może też umożliwiać pobranie kompletnej morfologii takiej komórki ze stowarzyszonej bazy danych. Jakie daje nam to możliwości? Mając referencyjną przestrzeń z umieszczonymi w niej własnymi danymi, możemy zadawać atlasowi pytania dotyczące np. danego punktu w mózgu albo związane z daną strukturą w mózgu. Możemy w prostszy sposób analizować dane z różnych osobników albo z różnych doświadczeń.

Światowa infrastruktura atlasowa

Pójdźmy jednak o krok dalej. Mając przestrzeń referencyjną, ze zdefiniowanym układem współrzędnych oraz z umieszczonymi w niej danymi, możemy pokusić się o porównanie własnych doświadczeń z wynikami uzyskanymi przez inne laboratoria wykonujące podobne doświadczenia, których wyniki umieszczone są w tej samej przestrzeni referencyjnej (w tym samym „standardowym” mózgu). Obecnie wysiłki w dziedzinie cyfrowych atlasów mózgu ukierunkowane są na rozwój infrastruktury ułatwiającej współpracę między laboratoriami i wzajemne wymienianie się danymi. Istotną rolę w tworzeniu infrastruktury atlasowej odgrywa International Neuroinformatics Coordinating Facility (INCF), organizacja wspierająca oraz współfinansująca m.in. inicjatywy



<http://www.braincatalog.org/>

Przykład integracji danych o różnej skali: szczegółowe rekonstrukcje morfologii neuronów zlokalizowane w zakrębie zębatym mózgu myszy

związane z tworzeniem infrastruktury atlasowej. Członkiem INCF jest również Polska.

Docelowo zadaniem takiej infrastruktury jest umożliwienie odpytywania o różnego rodzaju dane. Np. „W jakim miejscu (strukturze) mózgu białko X występuje najczęściej w podziale na myszy autystyczne oraz kontrolne. Bądź też „jakie są kierunki oraz siły połączeń struktury Y z innymi strukturami w podziale na użytą metodę użytą do oznaczania takiego połączenia”. Otwartość oraz dostępność takich danych zmniejsza również potrzebę powtarzania doświadczeń, poświęcania kolejnych zwierząt oraz nakładu prac i środków do przeprowadzenia takich doświadczeń. Czasami taka baza wiedzy pozwala wręcz na zweryfikowanie niektórych hipotez bez potrzeby przeprowadzania doświadczeń.

We wspólnym atlasie ze „standardowym mózgiem” z umieszczonymi w nim danymi z wielu osobników z różnych doświadczeń przeprowadzonych w różnych laboratoriach realizujemy wizję, w której wiedza o mózgu danego gatunku (szczepu, rasy) jest skoncentrowana w jednym miejscu i udostępniana poprzez ujednolicony mechanizm. Taki atlas, łącząc różnorodne dane, może zaspokoić potrzeby różnych grup badaczy. Zbliżyliśmy się zatem do realizacji wizji, w której badacz będzie miał możliwość przeglądania, wizualizowania, analizowania oraz używania dostęp-

nych już danych oraz umieszczania własnych danych w przestrzeni referencyjnej za pomocą infrastruktury neuroinformatycznej.

Zmierzch klasycznych atlasów?

Co jednak z drukowanymi atlasami dwuwymiarowymi? Czy należy o nich zapomnieć? Są one wynikiem nierzadko kilkudziesięciu lat pracy i swoją kompletnością długo jeszcze będą przewyższały atlasy trójwymiarowe tworzonymi od podstaw. Aby udostępnić tradycyjne źródła wiedzy neuroanatomicznej w światowej infrastrukturze neuroinformatycznej, w Pracowni Neuroinformatyki IBD PAN opracowaliśmy narzędzia umożliwiające przenoszenie klasycznych dwuwymiarowych atlasów do postaci trójwymiarowej. Dzięki temu uzyskują one dużą część funkcjonalności atlasów trójwymiarowych, mogą stanowić ich istotne uzupełnienie i być elementem ogólniejszego narzędzia, jakim są atlasy cyfrowe. Badania te realizowane są w ramach projektu POIG.02.03.00-00-003/09 „Biocentrum Ochota”.

Chcesz wiedzieć więcej?

Majka P., Kublik E., Furga G., Wójcik D.K.(2012). Common Atlas Format and 3D Brain Atlas Reconstructor: Infrastructure for Constructing 3D Brain Atlases. *Neuroinformatics*, 10(2), 181-197.

3d Brain Atlas Reconstructor (<http://www.3dbar.org/>),
The International Neuroinformatics Coordinating Facility (<http://incf.org/>).