

# Poszukiwanie strukturalnych i funkcjonalnych połączeń w ludzkim mózgu

Ewa PIĄTKOWSKA-JANKO\*, Warszawa

Jest to tekst związany z odczytem wygłoszonym na LVI Szkole Matematyki Poglądowej, *Matematyzacja*, Wola Ducha, sierpień 2017.

Redakcja

Czy człowiek może zrozumieć swój mózg? To z pewnością filozoficzne pytanie [1].

Pojawienie się nowoczesnych technik diagnostycznych, w tym technik obrazowych wykorzystujących rezonans magnetyczny MRI (*magnetic resonance imaging*) oraz coraz wydajniejszych komputerów, pozwala na prowadzenie badań z wykorzystaniem tych technik w połączeniu z technikami stosowanymi w innych dziedzinach, takich jak teoria grafów i sieci.

Działania te mogą być próbą uzyskania odpowiedzi na pytanie, jak działa mózg, ale też na pytania: co różnicuje pewne jednostki chorobowe, co jest charakterystycznego dla danej jednostki chorobowej, jakie zmiany pozwoliłyby nam wcześniej dostrzec kierunek zmian.

Na pytanie zadane światowej sławy neurochirurgowi z Lozanny, jakie jest jego największe marzenie, profesor Roy Thomas Daniels odpowiedział, że poznanie, jaka będzie plastyczność mózgu po jego interwencji neurochirurgicznej. Plastyczność mózgu to jest coś, co się jeszcze wymyka badaczom, to znaczy wiadomo, że taki proces ma miejsce, ale jego skala i kierunek zmian to nadal niewiadoma.

Mimo ogromu nakładów, szeregu prac, które mają na celu wyznaczenie obrazowych biomarkerów choroby, czyli mierzalnych parametrów charakterystycznych dla danej choroby, wyznaczanych na podstawie badań obrazowych, tylko jeden biomarker obrazowy na 100 zaproponowanych przez środowisko naukowe uzyskał akceptację Agencji Żywności i Leków USA, FDA (*Food and Drug Administration*) [2].

Tytułowy problem zostanie przedstawiony od strony technicznej, to znaczy wyliczymy, jakimi danymi dysponujemy, jakie algorytmy są w tej chwili wykorzystywane. Kliniczna interpretacja wyników wykracza poza kompetencje autorki.

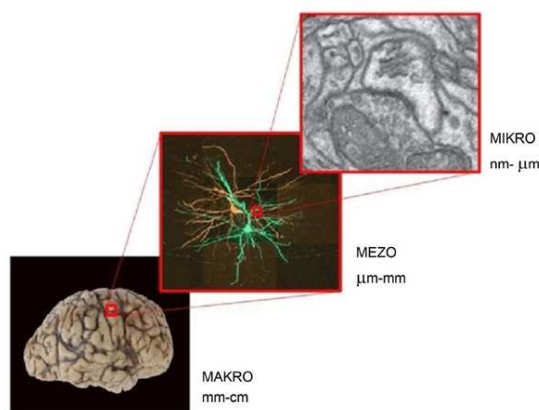
## Sieci mózgowe – konektom

**Konektom**, zgodnie z definicją, to kompletna mapa sieci połączeń neuronalnych [3].

Zaproponowano trzy główne szczeble definiowania konektomu (rysunek 1):

- **mikroskopowy**: połączenia pojedynczych neuronów i ich połączenia synaptyczne (definiowany w rozdzielczości przestrzennej rzędu mikrometra),
- **mezoskopowy**: połączenia w kolumnach neuronów i między nimi (definiowany w rozdzielczości przestrzennej rzędu kilkuset mikrometrów),
- **makroskopowy**: połączenia między anatomicznie wyznaczonymi regionami w mózgu (definiowany w rozdzielczości przestrzennej rzędu milimetrów).

Pierwszy kompletnie odtworzony konektom, należący do obłąka *Caenorhabditis elegans*, składa się z 302 neuronów i 5000 synaps.



**Rys. 1** Trzy główne szczeble definiowania konektomu: mikroskopowy, mezoskopowy, makroskopowy

\*Politechnika Warszawska, Wydział Elektroniki i Technik Informacyjnych, janko@ire.pw.edu.pl

## Dane

Najdynamiczniej w tej chwili rozwijającą się techniką obrazową jest technika wykorzystująca zjawisko rezonansu magnetycznego – MRI (*Magnetic Resonance Imaging*). Wraz z jej rozwojem pojawiają się nowe dane, które mogą być wykorzystane do wyznaczania sieci – konektomu w makroskali. Są to (rysunek 2):

- **badania wysokorozdzielcze strukturalne (sMRI)** – gdzie rozmiar woksela (najmniejszej struktury trójwymiarowej) jest rzędu  $(1 \times 1 \times 1)$  mm,
- **badania w stanie spoczynku (rsMRI)** – najczęściej osoba leży z zamkniętymi oczami, myśli swobodnie krąży i na tej podstawie określa się tzw. sieć spoczynkową (*Default Mode Network – DMN*),
- **badania czynnościowe (fMRI)**, gdzie osoba badana wykonuje określone przez badacza zadania, co może pozwolić na wyznaczenie regionów mózgu, które biorą udział w zaplanowanym zadaniu,
- **badania tensora dyfuzji (DWI/DTI)**, pozwalające na wyznaczenie np. wartości współczynnika dyfuzji czy wyznaczenie kierunków włókien istoty białej.

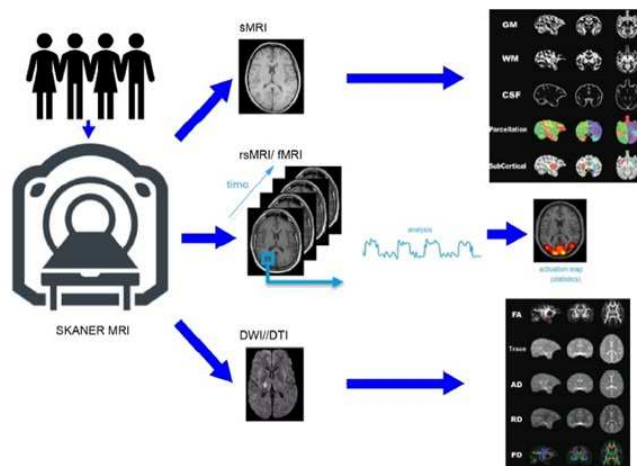
Badania rsMRI i fMRI najczęściej wykonywane są z rozdzielczością woksela około  $(3 \times 3 \times 3)$  mm, dane z całej objętości mózgu gromadzone są co 3 sekundy.

Na rysunkach 2 i 3 przedstawiony jest schematycznie tylko jeden przekrój 2D ze zgromadzonego wolumenu danych w rozmiarze przestrzennym trójwymiarowym 3D.

Dane z powyższych badań zapisywane są w postaci macierzy:

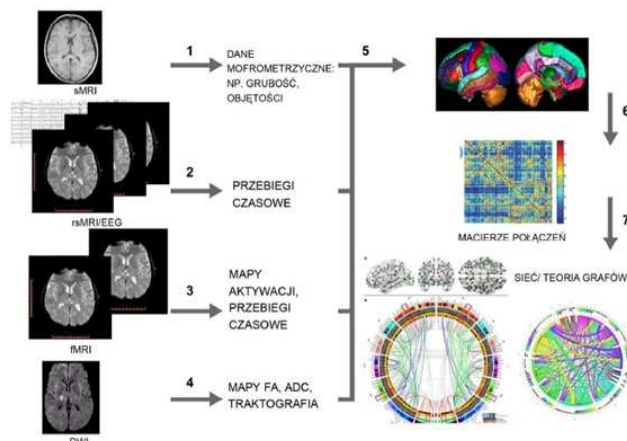
- z **badania sMRI** – otrzymujemy macierz danych w przestrzeni trójwymiarowej 3D, np. o rozmiarze 208 warstw, każdy przekrój o rozmiarze  $256 \times 256$ ,
- z **badania fMRI/rsMRI** – otrzymujemy macierz w przestrzeni 4D – np. dla badania, które trwa 6 minut i dane zbieramy co 3 sekundy, otrzymujemy 120 wolumenów danych 3D: 46 warstw, każda warstwa o rozmiarze  $92 \times 92$ ,
- z **badania DTI** – otrzymujemy tyle macierzy 3D, w ilu kierunkach była badana dyfuzja (od 3 do 256 minut).

Do wyznaczania sieci połączeń mogą też być wykorzystane dane z badań EEG, gdzie np. dla 64 elektrod możemy rejestrować dane z rozdzielczością czasową około 160 ms (macierz 4D – 3D współrzędne elektrod, wymiar czasu).



**Rys. 2** Dane otrzymywane w wyniku badań MRI:

- sMRI – badania strukturalne i na ich podstawie wyznaczane są struktury istoty szarej (GM – *gray matter*), istoty białej (WM – *white matter*), płynu mózgowo rdzeniowego (CSF – *cerebrospinal fluid*), segmentacja wykonywana jest z wykorzystaniem cyfrowych atlasów struktur korowych i podkorowych,
- rsMRI/fMRI – badania czynnościowe spoczynkowe i zadaniowe, na podstawie których wyznaczane są przebiegi czasowe oraz mapy aktywacji,
- DWI/DTI – badania dyfuzji, na podstawie których wyznaczane są mapy współczynników dyfuzji (FA – *Fractional Anisotropy*, Trace MD – *Mean Diffusivity*, AD – *Axial Diffusivity*, RD – *Radial Diffusivity*, PD – *Principal Diffusion Direction*).

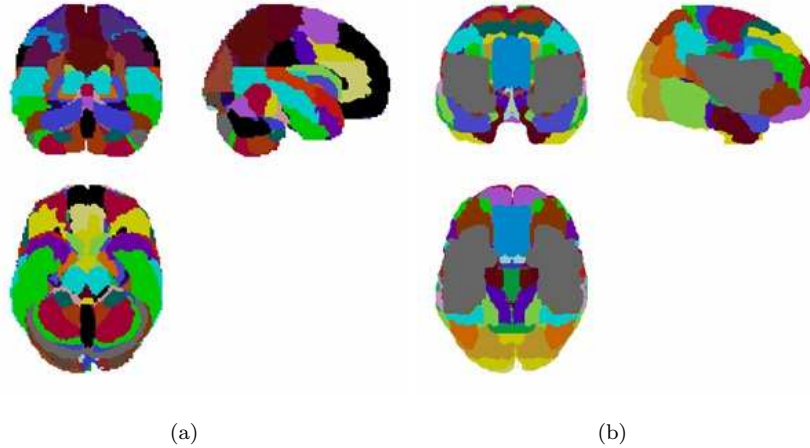


**Rys. 3** Schemat wyznaczania sieci połączeń z: badań strukturalnych (1), badań spoczynkowych (rsMRI), badań EEG (2), badań czynnościowych (3), badań dyfuzji (4) dla wybranych regionów (5) budowana jest macierz połączeń (7), na podstawie której wyznacza się sieć połączeń.

Na podstawie zgromadzonych danych można przeprowadzić klasyfikację:

- w oparciu o model (na podstawie badań rsMRI/fMRI) – **jak połączenia między wybranymi regionami różnicują badane grupy?**
- w oparciu o wyznaczone aktywacje (na podstawie badań rsMRI,/fMRI) – **które funkcjonalne różnice pozwalają na różnicowanie badanych grup?**
- w oparciu o strukturę (na podstawie badań sMRI/DTI) – **które struktury anatomiczne pozwalają na różnicowanie badanych grup?**

Do analizy danych wykorzystywane są opracowane w wielu ośrodkach programy oraz atlasy cyfrowe. Atlasy cyfrowe umożliwiają analizę grupową danych, badania populacyjne. Trzeba jednak pamiętać, że wadą tej metody jest konieczność wykonania transformacji afinicznych/nieliniowych w celu przekształcenia przestrzeni, w której została zobrazowana głowa osoby badanej, do przestrzeni atlasu (rysunek 4).



**Rys. 4** Przykład atlasów cyfrowych wykorzystywanych do określania regionów zainteresowania (ROI), na podstawie których budowane są macierze połączeń. (a) atlas AAL – *Automated Anatomical Labelling* [4], (b) atlas Brodmana. Rysunki wykonane w programie Mricron [5].

## Algorytmy

Pytanie Leonharda Eulera z roku 1736: czy można zaplanować trasę przejścia przez miasto Królewiec (obecnie Kaliningrad), z dowolnego obszaru miasta, w taki sposób, aby przejść przez każdy z mostów dokładnie raz, zainicjowało niesamowity rozwój teorii grafów. Znalazła ona zastosowanie w różnych dziedzinach np. przy analizie sieci połączeń w facebooku, czy przy analizie sposobu gry drużyn piłkarskich w trakcie mundialu w RPA w roku 2010 [6,7].

Nie zawsze wiedza przekłada się na bezpośrednie wykorzystanie, np. nawet w przypadku zdefiniowania strategii gry drużyny Hiszpanii nie można tego łatwo przyjąć i wdrożyć w grze innej drużyny.

To samo dzieje się z analizą sieci połączeń w mózgu [8,9]. Sporo wiemy, dużo można modelować, ale wnioski to dopiero przyszłość, pole popisu dla biologów, neurologów, psychologów, kognitywistów, matematyków, informatyków, statystyków.

Poszukiwane są połączenia:

- *anatomiczne*: struktura połączeń między regionami mózgu z badania sMRI oraz z badań DTI wyznaczonymi na podstawie atlasu,
- *funkcjonalne*: na podstawie badań rsMRI i fMRI, mapy aktywności i połączeń, wynikające z zależności statystycznych, takich jak korelacje czasowe między danymi wyznaczonymi dla różnych regionów,
- *skuteczne*: zawierają w sobie dodatkowo sieci efektów przyczynowych, łącząc sieci funkcjonalne i anatomiczne.

Na podstawie zgromadzonych danych możemy:

- określić węzły sieci (np. regiony wg atlasu dla danych sMRI, fMRI, rsMRI, DTI),
- oszacować miarę skojarzenia między parami węzłów (np. korelacja zarejestrowanego sygnału dla danych z badania rsMRI/fMRI/EEG),
- oszacować macierz asocjacji, gdzie można usunąć słabe związki, aby zbadać najsilniejsze powiązania,
- obliczyć wskaźniki z pełnej ważonej lub progowej macierzy stowarzyszeniowej, a na końcu przeprowadzić analizę statystyczną.

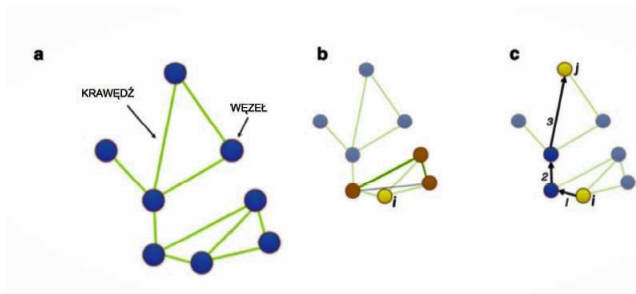
Sieć definiuje się jako graf opisany ilościowo (ważony), tzn. taki, w którym na wierzchołkach i/lub krawędziach opisano jakieś funkcje, których interpretacja zależy od rodzaju rozpatrywanego zagadnienia.

Stosowane miary dotyczące wierzchołków grafów (sieci) to [8,9]:

- *Znormalizowany stopień (degree)* wierzchołka – najwyższą wartość tej miary ma wierzchołek, który ma najbardziej liczne sąsiedztwo,
- *Promień (Radius)* wierzchołka – najwyższą wartość uzyskuje wierzchołek, który jest najbliżej najbardziej wysuniętych wierzchołków sieci – odległość dzieląca go od najdalszego wierzchołka jest najmniejsza,
- *Bliskość (closeness)* wierzchołka – im wierzchołek jest średnio bliżej wszystkich innych wierzchołków, tym bardziej jest centralny. Pozwala to stwierdzić, który z dowolnych dwóch wierzchołków wymaga mniejszej liczby kroków, aby skomunikować się z dowolnym innym wierzchołkiem,
- *Pośrednictwo (betweenness)* wierzchołka – ułamek liczby najkrótszych dróg łączących dwa dowolne wierzchołki, które zwierają dany wierzchołek,
- *Współczynnik gronowania (clusterisation)* – miara ta opisuje prawdopodobieństwo tego, że najbliżsi sąsiedzi wierzchołka są również swoimi najbliższymi sąsiadami.

Porównań wyznaczonych sieci można dokonać, porównując miary sieci, takie jak:

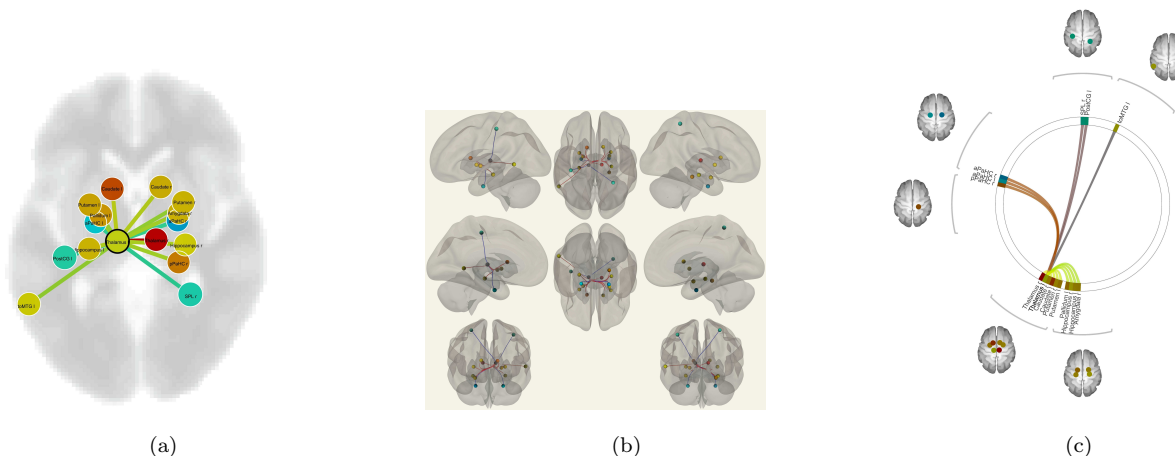
- Średnia odległość – średnia długość dróg w sieci (*characteristic path Length L*)
- Współczynnik gronowania średni (*Clustering Index C*).



**Rys. 5** Parametry charakteryzujące sieć: a. Złożone układy dynamiczne można przedstawić jako zależność  $G = (V, E)$ , przy czym  $V$  to zbiór węzłów, a  $E$  to zbiór krawędzi (połączeń); b. Współczynnik gronowania węzła  $i$  dostarcza informacji o poziomie lokalnego połączenia w sieci i jest określony przez stosunek liczby połączeń między bezpośrednimi sąsiadami węzła  $i$  i maksymalną liczbą możliwych połączeń między sąsiadami węzła  $i$ ; c. Charakterystyczna długość ścieżki. Węzeł jest połączony z innymi węzłami w sieci i określona jest odległość  $d(i, j)$  między węzłami  $i$  i wszystkimi innymi węzłami w sieci. Długość ścieżki  $L$  dostarcza ważnych informacji o poziomie globalnej efektywności komunikacji sieci.

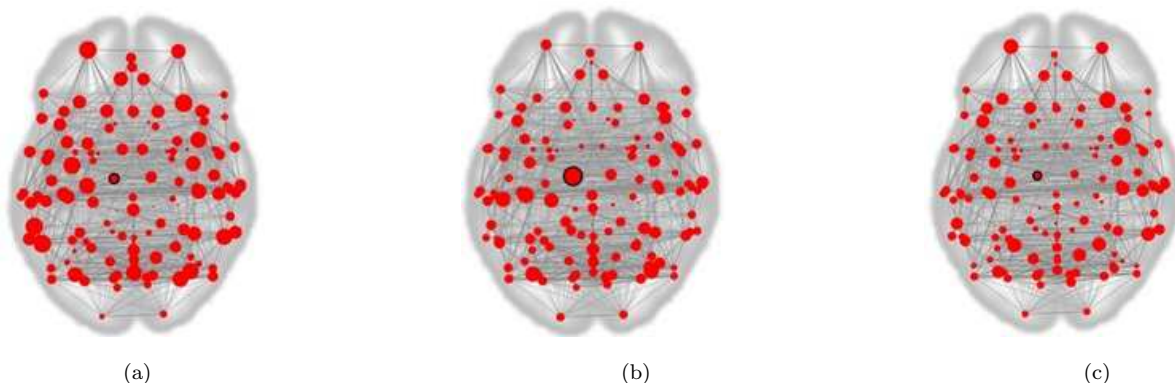
## Przykład

Korzystając z teorii grafów, funkcjonalne sieci mózgowe można zdefiniować jako sieć  $G = (V, E)$ , przy czym  $V$  to zbiór węzłów odzwierciedlających obszary mózgu (np. regiony ROI wyznaczone na podstawie atlasów), a  $E$  to funkcjonalne połączenia między tymi regionami mózgu (np. łączność między dwoma regionami jest obliczana jako poziom korelacji między szeregami czasowymi dwóch regionów mózgu). Rysunek 6 przedstawia przykład takiej analizy dla danych z badania spoczynkowego (rsMRI) dla grupy zdrowych ochotników.



**Rys. 6** Przykładowa ilustracja sieci połączeń wzgórza w lewej półkuli dla grupy zdrowych ochotników w badaniu spoczynkowym. Różne warianty prezentacji (a) w płaszczyźnie poprzecznej, (b) widok 3D, (c) na okręgu (oprogramowanie circus). Skala kolorowa od niebieskiego do czerwonego odzwierciedla rosnącą istotność statystyczną. Badania własne, analiza w programie CONN[8].

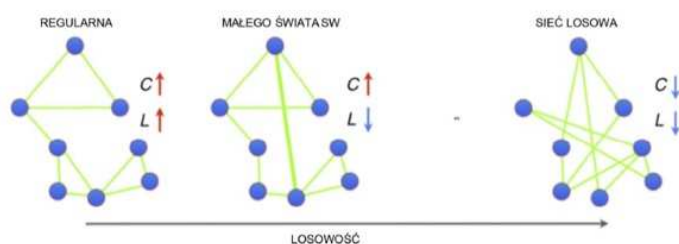
Obliczenie poziomu funkcjonalnej łączności między wszystkimi możliwymi parami węzłów i ustalenie istnienia połączenia funkcjonalnego, za pomocą predefiniowanego progu odcięcia lub metodą punktów ważonych, daje graficzną reprezentację funkcjonalnej sieci mózgowej i pozwala na badanie jej organizacji za pomocą teorii grafów (rysunek 7).



**Rys. 7** Wyznaczone parametry sieci połączeń dla połączeń wzgórza w lewej półkuli dla grupy zdrowych ochotników w badaniu spoczynkowym (a) średnia długość ścieżki  $L$ ; (b) współczynnik gronowania  $C$ , (c) znormalizowany stopień wierzchołków. Wielkość czerwonego kółka odpowiada istotności statystycznej (w czarnej obwódce wzgórza w lewej półkuli). Wyniki przedstawione na poziomie istotności  $p = 0,05$  z poprawką FDR (*false discovery rate*).

## Rodzaje topologii sieci

Wszystkie parametry sieci dostarczają ważnych informacji na temat struktury sieci i mogą oznaczać określoną topologię sieci, taką jak sieć regularna, losowa, small-world SW, pozbawione skali i modularne sieci (rysunek 8). Sieć regularna ma raczej lokalny charakter, charakteryzujący się wysokim współczynnikiem gronowania  $C$  i dużą długością ścieżki  $L$ . W przeciwieństwie do lokalnego charakteru zwykłej sieci losowa sieć ma bardziej globalny charakter, z niskim  $C$  i dużo krótszą ścieżką  $L$  niż zwykła sieć. Watts i Strogatz [10] wykazali, że w zwykłej sieci powstaje tak zwany mały świat (*Small World* – SW), sieć łącząca wysoki poziom lokalnego gronowania z krótką średnią odległością w całej sieci (o wysokim  $C$ , jak i niskim  $L$ ). Wiele sieci w naturze zostało oznaczonych jako small-world SW, w tym Internet, sieci interakcji białkowych, sieci społecznościowe, a najnowsze badania wskazały również na tak wydajną organizację funkcjonalnej i strukturalnej sieci mózgowej [12].



**Rys. 8** Topologia sieci. (a) sieć regularna; (b) sieci małego świata SW; (c) sieć losowa. Współczynniki gronowania  $C$ , długość ścieżki  $L$ .

Wykorzystanie teorii grafów do analizy danych neuroobrazowych spowodowało powstawanie wielu narzędzi tak do analizy, jak i prezentacji graficznej pod kątem ich potencjalnego wykorzystania w badaniu funkcjonalnych i strukturalnych połączeń w mózgu (rysunek 6 (c)) [13, 14].

Przykładem klinicznych badań dotyczących zmian zachodzących w sieci połączeń u chorych są np. badania chorych z chorobą Alzheimera. Badania tej grupy pacjentów, prowadzone w trakcie dziesięcioletniej obserwacji utraty pamięci, z wykorzystaniem miar dla sieci małego świata SW dla teorii grafów wykazały spadek łączności funkcjonalnej wśród osób z upośledzeniem pamięci. Podczas gdy globalna sieć pozostała stabilna, stwierdzono, że większość zmian miała miejsce

w regionach silnie zaangażowanych w tzw. sieci podstawowej (*default mode Network* – DMN) wyznaczonej na podstawie badań rsMRI [15].

## Jakie są aktualnie ograniczenia?

Główne ograniczenie to rozdzielczość danych wejściowych, czyli danych z badań sMRI czy rsMRI i fMRI. Nowe sekwencje obrazowe MRI pozwoliły na osiągnięcie w projekcie HCP (*Human Connectome Project*) rozdzielczości woksela w badaniach strukturalnych sMRI na poziomie  $(0,7 \times 0,7 \times 0,7)$  mm, a w badaniach rsMRI i fMRI rozmiar  $(0,8 \times 0,8 \times 0,8)$  mm i czas próbkowania około 720 ms [16].

Inne ograniczenie to możliwości obliczeniowe komputerów. Dla analizy np. złożonych modeli metabolomiki czy proteomiki rok osiągnięcia odpowiedniej zdolności obliczeniowej oraz odpowiednich zasobów pamięci, aby taką analizę przeprowadzić, określano w roku 2008 na rok 2044 [17].

Istnieje sporo baz danych, które udostępniają swoje zasoby tak, aby testować, wypracowywać nowe algorytmy analizy budowy sieci połączeń. Między innymi to ADNI (*The Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative*) [18], *Human Connectome Project* (HCP) [16], *Human Brain Project* (HBP) [19].

Ograniczenia dotyczą również metod teoretycznych, które obecnie nie uwzględniają krawędzi o ujemnych wagach. Długość ścieżki może być również myląca, ponieważ mogą zachodzić interakcje pomiędzy węzłami.

W tym artykule przedstawione zostały metody szukania połączeń w mózgu w oparciu o teorię grafów, ale trzeba wspomnieć, że istnieją inne metody, które można wykorzystać do ilościowego określenia połączeń. Do najczęstszych należą: przyczynowość Grangera (GC), analiza falkowa, spójność spektralna, entropia, czy prawdopodobieństwo synchronizacji (SL) [15].

Potrzebne są coraz lepsze komputery, teorie i dane wejściowe, i sporo ludzkich pomysłów i pracy.

## Literatura

- [1] <http://www.is.umk.pl/duch/Wyklady/KogP/01-cyb.htm> – dostęp 14.02.2018
- [2] <https://www.fda.gov/Drugs/DevelopmentApprovalProcess/DrugDevelopmentToolsQualificationProgram/ucm458492.htm> – dostęp 14.02.2018
- [3] <https://pl.wikipedia.org/wiki/Konektom>
- [4] <http://people.cas.sc.edu/rorden/micro/template.html>
- [5] <http://people.cas.sc.edu/rorden/micro/lesion.html>
- [6] Tarapata Z.: Czy sieci rządzą światem? Od Eulera do Barabasiego; Biuletyn Instytutu Systemów Informatycznych; Rocznik 2012, tom 0, numer 10/2012 Strony : 31–51.
- [7] Duch J., Waitzman J.S., Amaral LAN. (2010): Quantifying the Performance of Individual Players in a Team Activity. 2010, PLoS ONE 5(6).
- [8] Sporns O., Chialvo D.R., Kaiser M., Hilgetag C.C.: Organization, development and function of complex brain networks, 2004, Trends in Cognitive Sciences, 8, 418–425.
- [9] Rubinov M., Sporns O.: Complex network measures of brain connectivity: uses and interpretations. Neuroimage. 2010 Sep;52(3):1059–69. doi: 10.1016/j.neuroimage.2009.10.003. Epub 2009 Oct 9.
- [10] <https://sites.google.com/view/conn/>
- [11] Watts, D.J., Strogatz, S.H. (1998): Collective dynamics of *small-world* networks. Nature. 393 (6684): 440–442.
- [12] Barabási, A.L., Bonabeau, E. (2003): Scale-Free Networks. Scientific American, 288, 60–69.
- [13] <http://www.alfnie.com/software>
- [14] <http://circos.ca/images/>
- [15] Jon deEtoile, Adeli Hojjat: Graph Theory and Brain Connectivity in Alzheimer's Disease; The Neuroscientist, 2017, 23 (6), 616–62.
- [16] <http://www.humanconnectomeproject.org/>
- [17] [http://www.wikiwand.com/en/Mind\\_uploading](http://www.wikiwand.com/en/Mind_uploading)
- [18] <http://adni.loni.usc.edu/>
- [19] <https://www.humanbrainproject.eu/en/>

