

Fortschritt in der Gehirnforschung: Supercomputer ermöglichen eine genauere Kartierung der Nervenfaserbahnen

Dr. rer. nat. Miriam Menzel

Einleitung

Unser Gehirn besteht aus einem riesigen Netzwerk von Nervenfasern: Rund 100 Milliarden Nervenzellen sind durch Billionen von Synapsen miteinander verbunden und leiten Informationen in Form elektrischer Signale von einem Hirnareal zum nächsten. Große internationale Forschungsprojekte wie das „*Human Brain Project*“ in Europa oder die *BRAIN Initiative* in den USA haben in den letzten Jahren zahlreiche neue Erkenntnisse auf dem Gebiet der Hirnforschung gebracht. Dennoch gibt uns das Gehirn weiterhin viele Rätsel auf. Um die Funktionsweise des gesunden Gehirns besser zu verstehen, ist es wichtig, zunächst seine strukturelle Organisation zu kennen. Wenn wir den exakten Verlauf der Nervenfaserbahnen des Gehirns kennen, können wir feststellen, welche Hirnareale miteinander verknüpft sind und wo wichtige Verbindungen liegen. Diese Erkenntnisse würden nicht nur bei der Beantwortung anatomischer Fragestellungen helfen, sondern auch bei der Planung von Hirnoperationen und der Untersuchung von Erkrankungen des zentralen Nervensystems, wie z.B. Alzheimer oder Parkinson, die bis heute als unheilbar gelten.

Das Institut für Neurowissenschaften und Medizin (INM-1) am Forschungszentrum Jülich, an dem meine Doktorarbeit entstanden ist, hat es sich zur Aufgabe gemacht, einen möglichst detaillierten Atlas des menschlichen Gehirns zu erstellen.

Derzeit existieren verschiedene Techniken, um den Verlauf der Nervenfaserbahnen im Gehirn sichtbar zu machen. Die Magnetresonanz-Diffusions-Messung (eine spezielle Form des MRT) ist bislang die einzige Methode, die beim leben-

den Patienten angewendet werden kann. Die Auflösung liegt allerdings nur im Millimeterbereich, sodass einzelne Nervenfasern, die Durchmesser von einem tausendstel Millimeter oder weniger haben können, nicht dargestellt werden. Um die Nervenfasearchitektur im Detail zu erfassen, müssen Gehirne von Verstorbenen untersucht werden. Eine Möglichkeit ist, das Gehirn in Scheiben zu schneiden und mit hochauflösenden Durchlicht-Mikroskopen zu untersuchen. Die meisten Techniken sind jedoch auf kleine Bereiche oder zwei Dimensionen beschränkt und erlauben somit keine Untersuchung der dreidimensionalen Nervenfasearchitektur eines ganzen Gehirns.

Unsere Arbeitsgruppe „Faserbahnarchitektur“ am INM-1 verwendet eine Bildgebung mit polarisiertem Licht, die den dreidimensionalen Verlauf der Nervenfaserbahnen eines ganzen Gehirnschnittes mit nur einer einzigen Messung sichtbar machen kann. Die Technik hat sich mittlerweile auf dem Gebiet der Neurowissenschaften etabliert, hat aber – wie jede andere Bildgebung auch – einen Nachteil: Wenn Nervenfasern mit unterschiedlichen Richtungen übereinander liegen, lassen sich deren Richtungen nicht eindeutig bestimmen. Dadurch lässt sich z.B. nicht zweifelsfrei feststellen, ob zwei Hirnregionen miteinander verbunden sind oder nicht – eine Information, die bei chirurgischen Eingriffen darüber entscheiden kann, ob es zu bleibenden Gehirnschäden kommt.

Um eine genauere Kartierung der Nervenfaserbahnen im Gehirn zu ermöglichen, habe ich in meiner Doktorarbeit nach Wegen gesucht, wie schwer unterscheidbare Nervenfaserkonstellationen voneinander unterschieden werden können. Um dieses Ziel zu erreichen, habe ich Pola-

risationsmessungen von künstlichen Nervenfaserkonstellationen mit Hochleistungsrechnern simuliert und mit tatsächlichen Messergebnissen verglichen. Auf diese Weise konnte ich feststellen, wie es zu Fehlinterpretationen in den Faserrichtungen kommt und Methoden entwickeln, um diese zu korrigieren.

Messverfahren

Um den Verlauf der Nervenfaserbahnen zu bestimmen, verwenden wir eine Technik, die sich „3D Polarized Light Imaging“ (3D-PLI) nennt. Dabei werden Gehirne mit einem Mikrotom – einem Gerät, das einem Käseobel gleich – in 3000 bis 5000 haardünne Scheiben geschnitten. Diese Gehirnschnitte werden in einem sogenannten Polarimeter mit polarisiertem Licht, also einer Lichtwelle mit definierter Schwingungsrichtung, durchleuchtet. Das Polarimeter besteht aus verschiedenen Filtern, die die Polarisation, also die Schwingungsebene des Lichts, ändern (s. Abb. 1a). Je nachdem, wie die Schwingungsebene des Lichts relativ zu den Nervenfasern in dem Gehirnschnitt orientiert ist, erreicht mehr oder weniger Licht die Kamera. Aus den Helligkeitsunterschieden, die die Kamera beim Drehen der Filter aufnimmt, lässt sich der dreidimensionale Verlauf der Nervenfasern berechnen. Die Orientierungen der Fasern

werden in unterschiedlichen Farben dargestellt (s. Abb. 1b).

Der Effekt, der dem Ganzen zugrunde liegt, nennt sich Doppelbrechung. Das bedeutet, dass Licht – je nach Ausrichtung seiner Schwingungsebene – unterschiedlich stark gebrochen wird, also seine Ausbreitungsrichtung ändert. Doppelbrechung tritt immer dann auf, wenn ein Material eine hohe Symmetrie aufweist, z.B. in Kristallen. Viele Nervenfasern (Axone) sind von einer isolierenden Schicht aus Zellmembranen umgeben – der sogenannten Myelinscheide (s. Abb. 1d). Da die Zellmembranen wie in einem Kristall regelmäßig angeordnete Moleküle enthalten, sind myelinisierte Nervenfasern doppelbrechend und können mit 3D-PLI sichtbar gemacht werden. Die Auflösung unseres Mikroskops beträgt etwa ein tausendstel Millimeter, sodass der Verlauf einzelner Nervenfasern verfolgt werden kann (s. Abb. 1c).

Simulationsmethode

Für die Simulation der Messung habe ich die sogenannte „Finite-Difference Time-Domain“ (FDTD) Methode verwendet. Dieses Verfahren löst die Maxwell-Gleichungen – die Grundgleichungen der klassischen Optik – die die Ausbreitung von Licht als elektromagnetische Welle beschreiben.

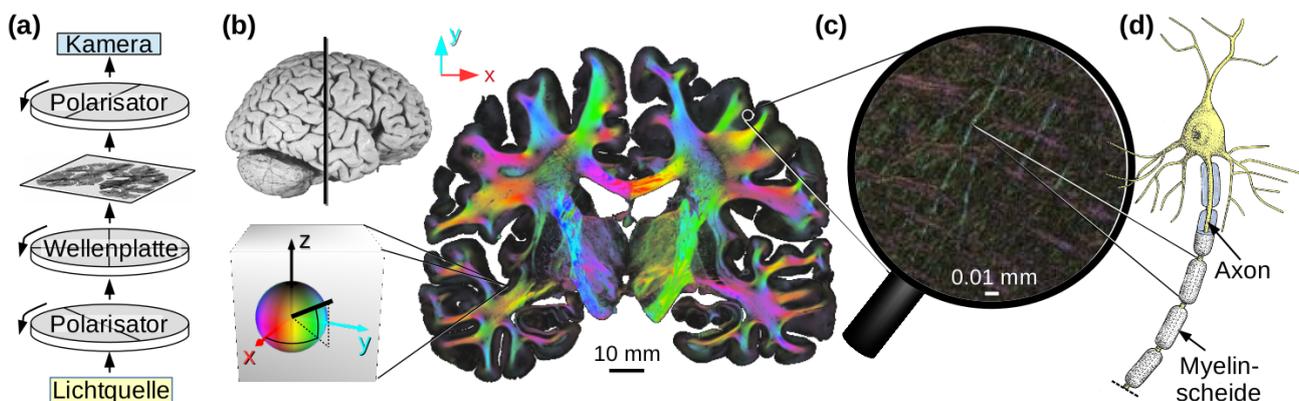


Abb. 1: 3D-PLI Messung: (a) Messaufbau. (b) Faserorientierungs-Karte eines menschlichen Gehirnschnittes; die räumlichen Orientierungen der Nervenfasern sind in unterschiedlichen Farben dargestellt (s. Farbkugel). (c) Vergrößerter Ausschnitt der Faserorientierungs-Karte. (d) Schema-Zeichnung einer Nervenzelle.

Die Simulationsmethode eignet sich besonders gut, um die Ausbreitung einer Lichtwelle und deren Streuung, also die Ablenkung von Licht beim Durchgang durch ein Medium, zu untersuchen. Dafür wird das Simulationsvolumen (hier die Nervenfaserkonstellation) in ein extrem feines Gitter unterteilt, wobei der Abstand zweier Gitterpunkte deutlich geringer sein muss als die Wellenlänge des Lichts – also tausend Mal kleiner als der Durchmesser einer Nervenfasers. Aus diesem Grund ist die Simulation einer Nervenfaserkonstellation äußerst rechenaufwändig und konnte erst mit Hilfe von Hochleistungsrechnern am „Jülich Supercomputing Centre“ realisiert werden. Insgesamt habe ich für meine Doktorarbeit eine Rechenzeit von 48 Millionen Kernstunden verbraucht – für die gleiche Aufgabe würde ein normaler PC mehr als 1300 Jahre benötigen. Obwohl ich so viel Rechenzeit zur Verfügung hatte, reicht sie nicht aus, um die exakte innere Struktur der Nervenfasern zu simulieren, also die einzelnen Zelllagen der umgebenden Myelinscheide. Somit bestand ein wesentlicher Teil meiner Doktorarbeit darin, ein vereinfachtes NervenfasermodeLL zu entwickeln, das die Rechenzeit reduziert, ohne allzu viel Genauigkeit einzubüßen.

Ergebnisse

Wie eingangs erwähnt, kann 3D-PLI die Richtungen aufeinander liegender Nervenfasern nicht immer eindeutig bestimmen. Besonders problematisch sind Regionen mit kreuzenden Fasern und Regionen mit steilen Fasern, die senkrecht zur Schnittebene orientiert sind. 3D-PLI liefert außerdem nur Richtungsinformationen – Regionen mit vielen kleinen Fasern und Regionen mit wenigen großen Fasern ergeben das gleiche Signal.

In meiner Doktorarbeit konnte ich zeigen, dass Lichtstreuung – also die Ablenkung des Lichts beim Durchgang durch den Gehirnschnitt – wichtige Zusatzinformationen liefert, um diese Hirnregionen voneinander zu unterscheiden,

was eine genauere Kartierung der Nervenfaserbahnen im Gehirn ermöglicht. Dazu habe ich die Lichtstreuung für unterschiedliche Nervenfaserkonstellationen simuliert und mit analytischen Berechnungen und Messungen kombiniert.

Durchlichtbilder ermöglichen genauere Klassifizierung von Nervenfaserkonstellationen

Nervenfasern, die flach im Gehirnschnitt verlaufen und sich nahezu rechtwinklig kreuzen, ergeben ein geringes 3D-PLI Signal (s. Abb. 3a links, in blau). Regionen mit wenig Fasern oder Regionen mit steilen Fasern ergeben ebenfalls ein geringes 3D-PLI Signal (s. Abb. 3b links, in pink bzw. gelb), sodass sich diese Regionen nicht voneinander unterscheiden lassen.

In meiner Doktorarbeit habe ich Lichtstreuung an flachen, kreuzenden und steilen Faserbündeln (s. Abb. 2, oben) für einfache Durchlicht-Mikroskopie simuliert. Das Ergebnis sind Streumuster (s. Abb. 2, unten), die zeigen, in welche Richtungen das Licht beim Durchgang durch das Fasermodell abgelenkt wird. Die gelben Punkte markieren Stellen, wo besonders viel Licht ankommt. Die Punkte liegen auf einer Halbkugel, die in die Zeichenebene projiziert wurde; die weißen Ringe entsprechen 10°-Schritten von 0° (im Zentrum) bis 90° (äußerer Ring).

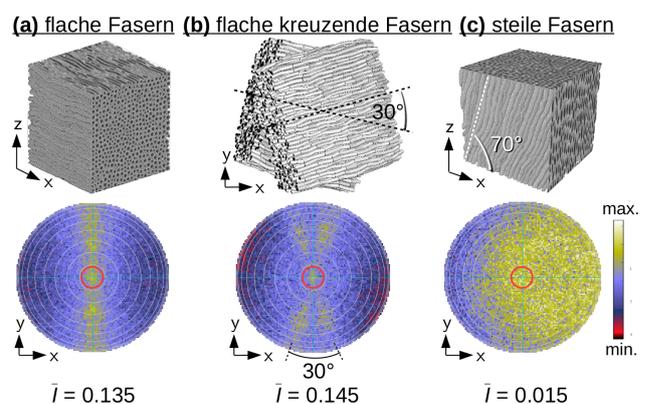


Abb. 2: Fasermodelle (oben) und simulierte Lichtstreuung (unten) für verschiedene Konstellationen: (a) flache Fasern, (b) flache kreuzende Fasern und (c) steile Fasern. Die unteren Zahlen geben die mittlere Lichtintensität \bar{I} an, die bei der Kamera ankommt (rot markierte Kreise).

Bei der Untersuchung der Lichtstreuung habe ich eine interessante Entdeckung gemacht: Bei Fasern, die flach in der Ebene des Gehirnschnittes (also in der xy-Ebene) liegen, ist die Lichtstreuung vergleichsweise gering – unabhängig davon, ob sich die Fasern kreuzen oder nicht (s. Abb. 2a,b). Je steiler die Fasern verlaufen, desto größer wird die Streuung (s. Abb. 2c).

Die Kamera nimmt nur Licht auf, das nahezu geradlinig durch den Gehirnschnitt verläuft (rot markierte Kreise in Abb. 2). Eine starke Lichtstreuung (wie in Abb. 2c) führt also dazu, dass weniger Licht auf die Kamera trifft und die entsprechenden Hirnregionen dadurch dunkler erscheinen. Meine Simulationen sagen somit voraus, dass Regionen mit steilen Nervenfasern aufgrund der hohen Streuung im Durchlichtbild dunkler erscheinen als Regionen mit flachen kreuzenden Fasern. In Regionen mit wenig Fasern wird das Licht kaum gestreut, sodass diese Regionen heller erscheinen müssten. Die Helligkeitsunterschiede in einfachen Durchlichtbildern sollten also ausreichen, um Regionen mit flachen kreuzenden, steilen und wenig Fasern voneinander zu unterscheiden.

Bevor ich das Ergebnis für die Analyse unserer 3D-PLI Messungen nutzen konnte, habe ich die Vorhersagen der Simulationen experimentell bestätigt. Das war gar nicht so einfach, denn der genaue Verlauf der Nervenfasern ist – im Gegensatz zum Simulationsmodell – nicht bekannt. Ich habe daher verschiedene Messungen durchgeführt: Zunächst habe ich Durchlichtbilder von Schnitten eines längs und eines quer geschnittenen Gehirns miteinander verglichen, bei denen die gleiche Hirnregion in zueinander senkrechten Ebenen angeschnitten war. Auf diese Weise konnte ich sicherstellen, dass Nervenfasern, die in einem Gehirnschnitt flach in der Schnittebene liegen, in dem anderen Gehirnschnitt steil verlaufen – und umgekehrt. Tatsächlich erschienen die entsprechenden Regionen in

dem einen Gehirnschnitt heller und in dem anderen dunkler.

Um den genauen Verlauf der Nervenfasern zu bestimmen, habe ich Fluoreszenz-Mikroskopie verwendet. Dabei leuchten die Nervenfasern hell auf und man kann quasi in den Gehirnschnitt „hinein sehen“. Mit dieser Methode lassen sich nur kleine Hirnregionen untersuchen. Dennoch konnte ich so bestätigen, dass die Nervenfasern umso dunkler erscheinen, je steiler sie verlaufen. Durchlichtbilder der Sehnerv-Kreuzung haben zudem gezeigt, dass kreuzende Fasern, die flach innerhalb eines Gehirnschnittes liegen, die gleiche Helligkeit aufweisen – unabhängig von ihrem Kreuzungswinkel (s. Abb. 3a, rechts) – genau, was meine Simulationen vorhergesagt haben.

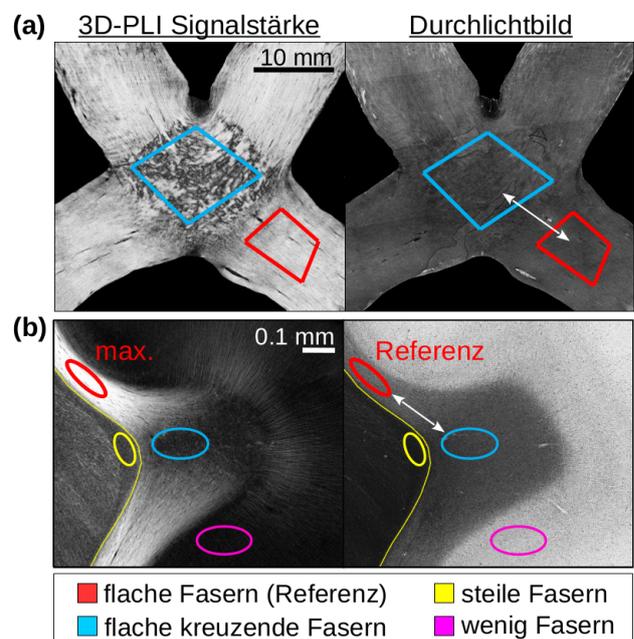


Abb. 3: Stärke des 3D-PLI Signals (links) und Durchlichtbild (rechts) (a) einer Kreuzung von Nervenfaserbündeln (Sehnerv-Kreuzung) und (b) einer Hirnregion mit flachen kreuzenden, steilen und wenig Nervenfasern, die sich durch Helligkeitsunterschiede im Durchlichtbild unterscheiden.

Nachdem sich die Ergebnisse meiner Simulationen experimentell bestätigt hatten, konnte ich das Verfahren für die Analyse von 3D-PLI Signalen anwenden und Nervenfaserkonstellationen, die alle ein geringes Signal liefern und somit nicht unterscheidbar sind (Regionen mit fla-

chen kreuzenden, steilen und wenig Fasern), aufgrund ihrer Helligkeitsunterschiede richtig zuzuordnen (s. Abb. 3b). Da die Nervenfasern Licht absorbieren, können Helligkeitsunterschiede auch durch eine unterschiedliche Anzahl von Fasern entstehen. Daher dient die Region mit maximaler Faserdichte, also die Region mit maximalem 3D-PLI Signal (s. Abb. 3b, in rot), als Referenz für die Helligkeit der flachen kreuzenden Fasern.

Gestreutes Licht enthält Informationen über den Kreuzungswinkel von Nervenfasern

Die Lichtstreuung ermöglicht nicht nur, verschiedene Nervenfaserkonstellationen voneinander zu unterscheiden. Die Streumuster lassen auch Rückschlüsse auf die genaue Anordnung der Fasern zu. So lässt sich z.B. der Kreuzungswinkel der Nervenfasern aus den Streumustern ablesen (s. Abb. 2b), welcher mit herkömmlichen Methoden nicht so leicht bestimmt werden kann.

Um ein komplettes Streumuster zu messen, wird prinzipiell ein anderer experimenteller Aufbau benötigt. Möchte man jedoch nur den Kreuzungswinkel bestimmen, reicht es aus, den Gehirnschnitt von verschiedenen Winkeln aus zu beleuchten, z.B. durch eine rotierende Lochblende über der Lichtquelle. So ein Aufbau lässt sich auch mit der existierenden Apparatur leicht realisieren.

Polarisationsabhängige Lichtabschwächung (Diattenuation) verrät wichtige Eigenschaften von Hirngewebe

Die hohe Symmetrie der Nervenfasern, die für deren Doppelbrechung verantwortlich ist, führt dazu, dass das Licht – je nach Schwingungsrichtung – unterschiedlich stark abgeschwächt wird. Dieser Effekt wird als „Diattenuation“ bezeichnet (englisch für polarisationsabhängige Lichtabschwächung) und kann das 3D-PLI Signal beeinflussen. In meiner Doktorarbeit habe ich daher auch die Diattenuation von Hirngewebe untersucht (s. Abb. 4a). Ich konnte zeigen, dass die

Diattenuation deutlich kleiner ist als die Doppelbrechung von Hirngewebe und somit das 3D-PLI Signal und die Berechnung der Nervenfasensorientierungen nicht beeinflusst.

Bei meinen Untersuchungen bin ich auf einen interessanten Effekt gestoßen, der in der Literatur bisher nicht beschrieben wurde (s. Abb. 4b,c): In einigen Hirnregionen (in grün) wird die Lichtintensität, die die Kamera hinter dem Gehirnschnitt misst, maximal, wenn die Schwingungsrichtung des Lichts in Richtung der Nervenfasern verläuft. In anderen Hirnregionen (in lila), wird die Lichtintensität minimal. Diese Effekte habe ich jeweils mit D+ und D- bezeichnet. Mit der Zeit nimmt der D- Effekt ab, sodass nach mehreren Wochen fast alle Hirnregionen in der Diattenuation-Karte grün erscheinen (s. Abb. 4c).

Mit Hilfe von FDTD Simulationen und analytischen Modellen konnte ich diese Beobachtungen erklären: Der D+ Effekt wird hauptsächlich durch Absorption verursacht und hängt allein von der Orientierung der Nervenfasern ab. Der D- Effekt kommt durch Lichtstreuung zustande, die bei flachen Fasern besonders groß ist und mit der Zeit abnimmt.

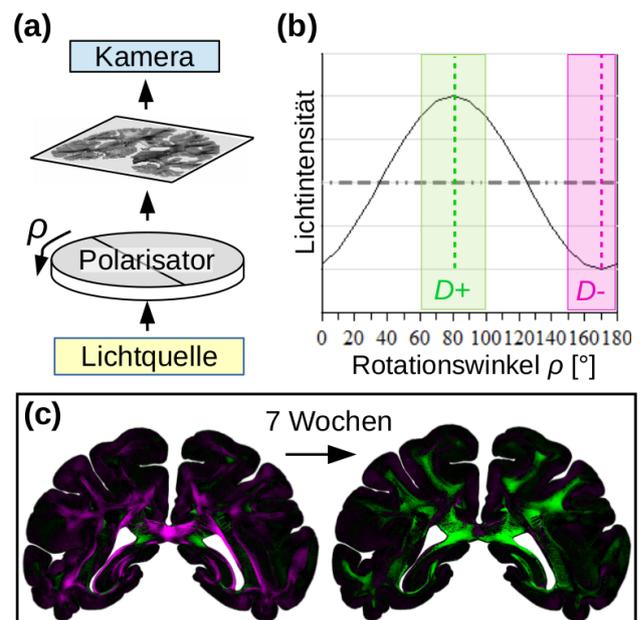


Abb. 4: Diattenuation-Messung: (a) Messaufbau. (b) Lichtintensität eines Bildpixels für verschiedene Rotationswinkel des Polarisators. (c) Diattenuation-Karte eines frisch gemessenen Gehirnschnittes und 7 Wochen später.

Simulationen unterschiedlicher Nervenfaserkonstellationen haben ergeben, dass der D- Effekt auch von anderen Gewebeeigenschaften abhängt, wie z.B. der Verteilung der Nervenfasern, deren Durchmesser oder der Dicke der umgebenden Myelinscheide. So beinhalten Regionen mit besonders großem D- Effekt aller Wahrscheinlichkeit nach relativ kleine, flache Fasern mit dicker Myelinscheide. Damit lässt sich eine Region mit vielen kleinen Fasern von einer Region mit wenigen großen Fasern unterscheiden, was mit vergleichbaren Bildgebungen nicht möglich wäre.

Fazit

Die Ergebnisse meiner Doktorarbeit ermöglichen eine genauere Rekonstruktion der Nervenfaserverarchitektur des Gehirns. Mit einer Kombination aus Simulationen, Messungen und analytischen Berechnungen konnte ich zeigen, dass Lichtstreuung wichtige Zusatzinformationen enthält, die bislang kaum genutzt wurden: So lassen Streumuster Rückschlüsse auf den Kreuzungswinkel von Nervenfasern zu. Mit Hilfe einfacher Durchlichtbilder können verschiedene Nervenfaserkonstellationen (wie z.B. Kreuzungen und steile Fasern) voneinander unterschieden werden, was mit herkömmlichen Messungen bislang nicht möglich war. Mit der *Diattenuation*-Messung konnte ich schließlich eine völlig neue Art der Bildgebung entwickeln, die sich leicht mit anderen Polarisations-Messungen kombinieren lässt. Die beobachteten D+/D- Effekte wurden bislang nicht beschrieben und ermöglichen eine neue Form der Kontrast-Bildgebung. Meine Simulationen haben zudem gezeigt, dass die *Diattenuation*-Messung zusätzliche Informationen über die Nervenfaserverarchitektur und Gewebeeigenschaften der Gehirnschnitte liefert, wodurch pathologische Veränderungen (z.B. eine dünnere Myelinscheide) sichtbar werden.

Hier zeigt sich die Stärke von Supercomputern, denn derartige Erkenntnisse wären mit Experi-

menten allein nicht möglich gewesen. Erst durch die rechenintensiven Simulationen konnte ich Lichtstreuung an verschiedenen Nervenfaserkonstellationen im Detail untersuchen und so Wege finden, wie diese für eine bessere Kartierung der Nervenfaserverbahnen genutzt werden kann. Die FDTD Methode, die ich dabei angewandt habe, wurde noch nie für Simulationen von Hirngewebe verwendet. Mit der Entwicklung eines vereinfachten Nervenfaservermodells habe ich die Simulationsmethode für Anwendungen in der Polarisationsmikroskopie nutzbar gemacht. Mein Simulationsverfahren lässt sich aber auch leicht auf andere Arten der Mikroskopie und auf Gewebetypen mit vergleichbaren Faserstrukturen (z.B. Muskelgewebe oder synthetische Fasern) übertragen, wodurch sich viele neue Anwendungsmöglichkeiten über die Neurowissenschaften hinaus ergeben.

Bislang konnten Nervenfaserverkreuzungen im Gehirn nur schwer identifiziert werden, was bei der Rekonstruktion von Nervenfaserverläufen (Traktografie) ein großes Problem darstellt. Mit den von mir entwickelten Methoden ist es nun möglich, den Verlauf von Nervenfaserverbahnen auch in Kreuzungsregionen mit hoher Auflösung zu bestimmen, was eine genauere Rekonstruktion der Konnektivität, also der Verbindungen der Nervenzellen untereinander, ermöglicht.

Ein detailliertes Netzwerkmodell des Gehirns ist nicht nur aus anatomischer Sicht interessant. Es dient auch dazu, bestehende Messmethoden zu validieren und zu optimieren. Ein Vergleich mit MRT-Messungen kann beispielsweise die Analyse und Interpretation der MRT-Daten verbessern, was eine genauere Vermessung der Nervenfaserverläufe beim Patienten ermöglicht und so zu einer besseren Früherkennung von Erkrankungen des Gehirns beiträgt.

Eine genaue Kenntnis der Nervenfaserverläufe hilft auch bei der Planung von Hirnoperationen und der Behandlung von Patienten. So sind für eine erfolgreiche Tiefenhirn-Stimulation die lo-

kalen Verknüpfungen der Nervenzellkörper in tiefer gelegenen Hirnregionen von großer Bedeutung. Beim Einsetzen von Hirnimplantaten hilft ebenfalls eine genaue Lokalisierung der Nervenfaserverläufe.

Nicht zuletzt ermöglichen die Ergebnisse meiner Doktorarbeit eine genauere Untersuchung

von pathologischen strukturellen Veränderungen des zentralen Nervensystems, was bei der Erforschung neurodegenerativer Erkrankungen wie Alzheimer oder Parkinson helfen kann, die in unserer alternden Gesellschaft ein zunehmendes gesellschaftliches Problem darstellen werden.