

Н. С. Меркульева и А. А. Михалкин

СПОСОБ НАЛОЖЕНИЯ КАРТЫ ЗРИТЕЛЬНОГО ПРОСТРАНСТВА НА ТРЕХМЕРНУЮ МОДЕЛЬ ЗРИТЕЛЬНОГО КОРКОВОГО ЦЕНТРА АНАЛИЗА ДВИЖЕНИЯ ОБЪЕКТА

Лаборатория нейроморфологии (зав. — проф. Ф. Н. Макаров), Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, Санкт-Петербург

Цель исследования состояла в разработке алгоритма наложения ретинотопической карты зрительной области PMLS (заднемедиальная область латеральной супрасильвиевой борозды) на трехмерную модель фронтальных срезов мозга. Представлено описание этапов метода наложения. Предложенный алгоритм может быть использован для решения различных задач анализа организации межнейронных связей.

Ключевые слова: *трехмерная реконструкция, зрительная кора, ретинотопическая карта, межнейронные связи*

Методика аксонального транспорта маркеров широко используется при изучении межнейронных связей мозга. Она основана на способности аксонов захватывать маркер, введенный в нервную ткань, и транспортировать его anterо- или retroградно. Ранее был предложен алгоритм построения и анализа двумерных паттернов распределения меченых нейронов на тангенциальных срезах зрительной коры [2]. Однако использование тангенциальных срезов коры не всегда возможно. В таком случае необходимо анализировать распределение меченых клеток на фронтальных срезах мозга. Процедура реконструкции участка мозга, содержащего меченые нейроны, может быть выполнена несколькими способами: определением проекций меченых нейронов из глубины коры на её поверхность или построением трехмерной (3-D) модели фронтальных срезов. При этом первый способ не может быть осуществлён вручную без значительной поправки на ошибку и представляет собой задачу, требующую точного установления положения точки на поверхности коры, в которую будет спроецирована меченая клетка. Мы предлагаем использовать в качестве направляющей для этой проекции ориентацию корковой мини-колонки, в которой локализируются меченые клетки.

Второй вариант стал возможен с появлением специальных программ, осуществляющих 3-D-реконструкцию изображений [3]. Этот способ позволяет проводить комплексный анализ связей сенсорных областей коры, для чего необходимо объединение 3-D-реконструкции со структурно-функциональными картами анализируемой области.

В данной работе предлагается алгоритм использования 3-D-реконструкции фронтальных срезов мозга, содержащих зону введения маркера и меченые нейроны, и наложения на неё ретинотопической карты исследуемого зрительного поля. Для этого была выполнена реконструкция серии фронтальных срезов коркового центра анализа движений в зрительной области мозга кошки (заднемедиальная область латеральной супрасильвиевой борозды, PMLS) (рисунк, б). Использование атласов, демонстрирующих ретинотопические карты большинства зрительных полей на фронтальных срезах [6], для данной области стало невозможным без множественных поправок, в связи с уточнением особенностей ретинотопической организации области PMLS [1, 4]. В соответствии с этим поиск способа сопоставления 3-D-реконструкции поля PMLS и его ретинотопической карты представляет особый интерес.

Для 3-D-реконструкции использовали фронтальные срезы толщиной 50 мкм с расстоянием между соседними срезами 200 мкм. Процедуры введения аксонального маркера, перфузии животных и гистохимического выявления retroградно транспортируемого маркера пероксидазы хрена подробно описаны ранее [1]. Экспериментальные манипуляции проводили в соответствии с общепринятыми «Правилами работы с экспериментальными животными» [5]. Для оцифровки гистологических препаратов использовали установку, состоящую из бинокулярной лупы (Wild, Швейцария, ув. 120), микроскопа (Carl Zeiss, Германия, ув. 250), цифровой камеры (Baumer

Сведения об авторах:

Меркульева Наталья Сергеевна, Михалкин Александр Александрович (e-mail: mer-natalia@yandex.ru), лаборатория нейроморфологии, Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, 199034 Санкт-Петербург, наб. Макарова, 6

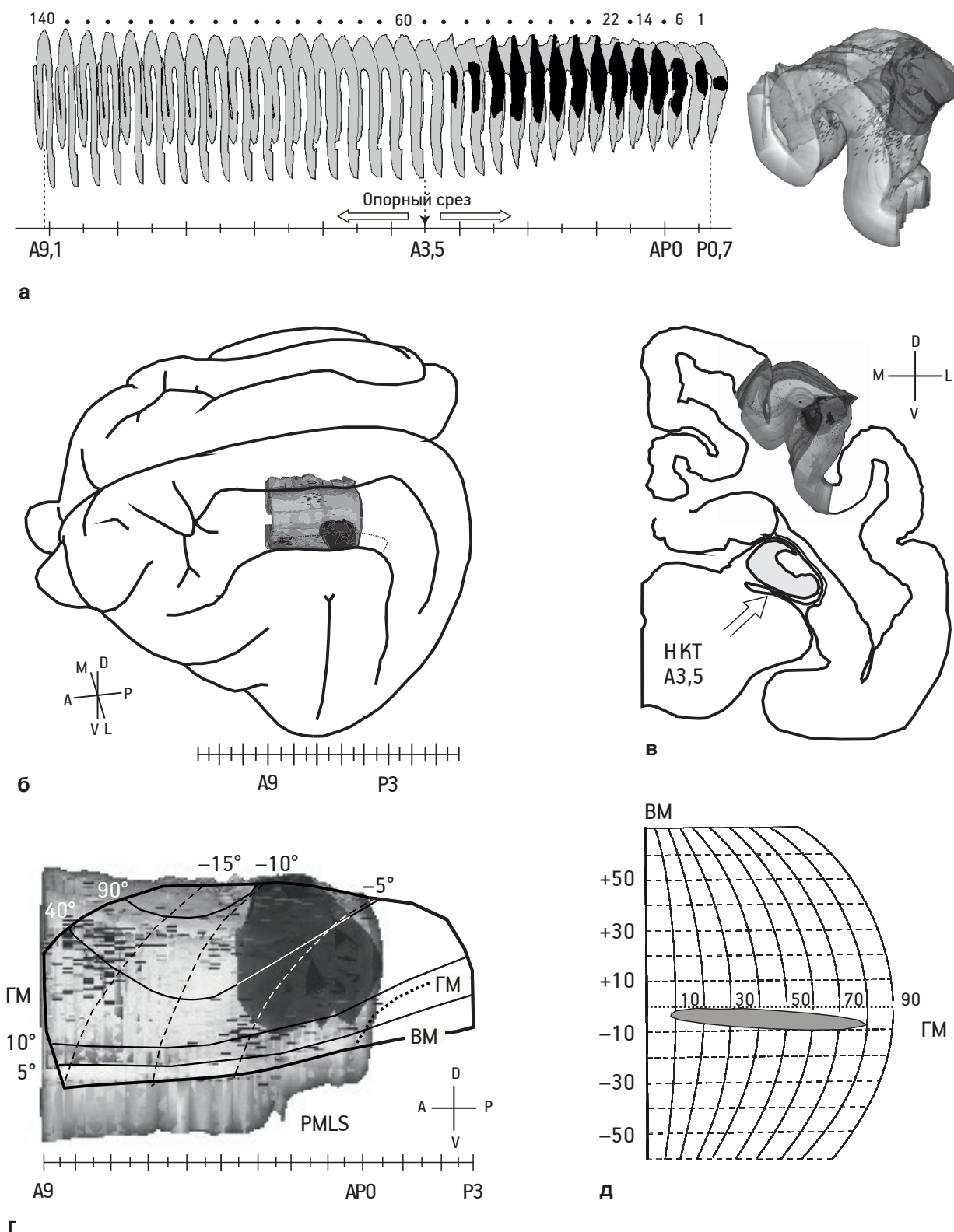


Схема определения локализации фронтальных срезов в стереотаксических координатах мозга (а-в) и суперпозиция ретинотопической карты области заднемедиальной области латеральной супрасильвиевой борозды (PMLS) на трехмерную модель (г-д).

а — серия фронтальных срезов и их трехмерная модель; цифры сверху — порядковые номера срезов; цифры снизу — стереотаксическая шкала; б — дорсолатеральный вид мозга со встроенной трехмерной моделью области PMLS; в — фронтальный срез мозга со встроенной трехмерной моделью области PMLS; г — объединение трехмерной реконструкции области PMLS и её ретинотопической карты, с изменениями по S. Grant и S. Shipp [4]; сплошные линии — изолинии азимута; пунктирные линии — изолинии элевации; д — проекция области введения маркера на ретинотопическую карту зрительного пространства. НКТ — наружное коленчатое тело; BM — вертикальный меридиан; GM — горизонтальный меридиан. На всех рисунках: темные области на фронтальных срезах и на трехмерной модели — зона диффузии пероксидазы хрена; темные точки — меченые нейроны

Optronix, Германия), программы VideoTest Master (Россия). Меченые нейроны, имеющиеся на оцифрованных изображениях срезов, обозначали точками в соответствии с ранее предложенным алгоритмом [2]. Построение 3-D-реконструкции осуществляли с помощью имеющейся в свободном доступе программы Reconstruct, разработанной J. C. Fiala и K. M. Harris [3]. Проводили наложение срезов друг на друга и выделение интересующих объектов — контуров коры, области введения маркера, инициальных нейронов. Пример одной из полученных 3-D-реконструкций представлен на рисунке, а.

Первый этап обработки 3-D-реконструкции фронтальных срезов состоит в проекции на неё стереотаксических координат мозга, в данном случае речь пойдёт о координатах относительно переднезадней (А-Р) оси мозга. При изготовлении фронтальных срезов довольно высока вероятность отклонения плоскости резания от вертикальной плоскости и, как следствие этого, «смещение» анализируемых участков коры мозга в область с несоответствующими ей стереотаксическими координатами. Поэтому в качестве опорной структуры было выбрано наружное коленчатое тело (НКТ), расположенное в центре мозга, в результате чего подвергающееся минимальным отклонениям при смещении плоскости резания. За точку отсчёта в каждом полушарии выбирали срез со стереотаксической координатой А3,5 (в дальнейшем «опорный срез»), на котором НКТ соединяется перешейком с заднелатеральными ядрами таламуса [8] (см. рисунок, в).

В дальнейшем необходимо было установить базовые стереотаксические координаты (P_1 , AP_0 , A_1 и т. д.) на 3-D-модели. При этом необходимо учитывать тот факт, что при фиксации мозга и последующей гистохимической обработке срезов происходит сжатие ткани вдоль А-Р-оси на 29% от её исходного размера [6]. В соответствии с этим расстояние между базовыми координатами, равное для интактного мозга 1000 мкм, для нашей реконструкции составляло около 710 мкм. Прибавляя эту величину к значению «опорного среза», определяли положение каждого среза на шкале базовых стереотаксических координат (см. рисунок, а, б). Затем сопоставляли полученную 3-D-реконструкцию с ретинотопической картой [7], используя в качестве реперных точек базовые стереотаксические координаты (см. рисунок, г, д).

Таким образом, нами предложена методика наложения карты ретинотопической проекции области PMLS на 3-D-модель фронтальных срезов мозга. Эта методика может быть использована для определения на поверхности мозга локусов с интересующими ретинотопическими координатами области PMLS: для инъекции маркера, про-

ведения электрофизиологических исследований. Полагаем, что предложенный алгоритм также может упростить задачу анализа скоплений меченых нейронов, выявляемых в обоих полушариях мозга, что позволит оценивать межполушарные связи зрительной коры.

Данная работа поддержана грантом РФФИ 12-04-31644 мол-а.

Авторы благодарят Н. И. Никитину, Н. И. Соколову, О. П. Казину и Д. А. Нефёдова за помощь при работе с экспериментальными животными и гистологическим материалом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Меркульева Н. С. и Макаров Ф. Н. Ретинотопическая организация заднемедиальной области латеральной супрасильвиевой борозды при анализе паттерна корково-корковых связей с полем 17 у кошки. Рос. физиол. журнал им. И. М. Сеченова, 2011, т. 97, № 2, с. 113–118.
2. Меркульева Н. С. и Никитина Н. И. Методика построения двумерных паттернов распределения в коре меченых нейронов и их количественного анализа. Морфология, 2010, т. 138, вып. 5, с. 11–17.
3. Fiala J. C. and Harris K. M. Reconstruct: a free editor for serial section microscopy. J. Microscopy, 2005, v. 218, № 1, p. 52–61.
4. Grant S. and Shipp S. Visuotopic organization of the lateral suprasylvian area and of an adjacent area of the ectosylvian gyrus of the cat cortex: a physiological and connectional study. Vis. Neurosci., 1991, v. 6, № 4, p. 315–338.
5. Guide for Care and Use of Laboratory Animals. Washington, D. C., Acad. Press, 1996.
6. Rosenquist A. C. Connections of visual cortical areas in the cat. In: Cerebral Cortex. New York, London, Plenum Press, 1985, p. 81–117.
7. Shipp S. and Grant S. Organization of reciprocal connections between area 17 and the lateral suprasylvian area of cat visual cortex. Visual Neurosci., 1991, v. 6, № 4, p. 339–355.
8. Snider R. S. and Niemer W. T. A stereotaxic atlas of the cat brain. Chicago, University of Chicago Press, 1961.

Поступила в редакцию 17.05.2012
Получена после доработки 11.09.2012

THE METHOD OF THE SUPERPOSITION OF VISUAL SPACE MAP ON A THREE-DIMENSIONAL MODEL OF THE CORTICAL VISUAL CENTER OF THE ANALYSIS OF THE OBJECT MOTION

N. S. Merkulyeva and A. A. Mikhalkin

The aim of the present investigation was to develop an algorithm of superposition of retinotopic map of PMLS (posterior medial part of lateral suprasylvian sulcus) visual area on a 3-D model of brain frontal slices. A step by step description of the algorithm is presented. The suggested algorithm may be used for the solution of the various tasks of the analysis of the organization of interneuronal connections.

Key words: visual cortex, retinotopic map, interneuronal connections, 3-D reconstruction

Laboratory of Neuromorphology, RAS I. P. Pavlov Institute of Physiology, St. Petersburg