

ClearAIM: opto-elektroniczna metoda do pokłatkowej ilościowej oceny procesu oczyszczania tkanek

Kamil Kalinowski^{1,*,†}, Anna Chwastowicz^{2,3,~}, Piotr Arcab^{1,~}, Mikołaj Rogalski^{1,~}, Wiktoria Szyska¹, Emilia Wdowiak¹, Julianna Winnik¹, Piotr Zdańkowski¹, Michał Józwik¹, Paweł Matryba^{2,3,4}, Maciej Trusiak¹

¹ Politechnika Warszawska, Wydział Mechatroniki, Instytut Mikromechaniki i Fotoniki, ul. Boboli 8, 02-525 Warszawa, Polska

² Warszawski Uniwersytet Medyczny, Zakład Immunologii, ul. Nielubowicza 5, 02-097 Warszawa, Polska

³ Instytut Biologii Doświadczalnej im. Nenckiego PAN, Pracownia Neurobiologii, BRAINCITY, ul. Pasteura 3, 02-093 Warszawa, Polska

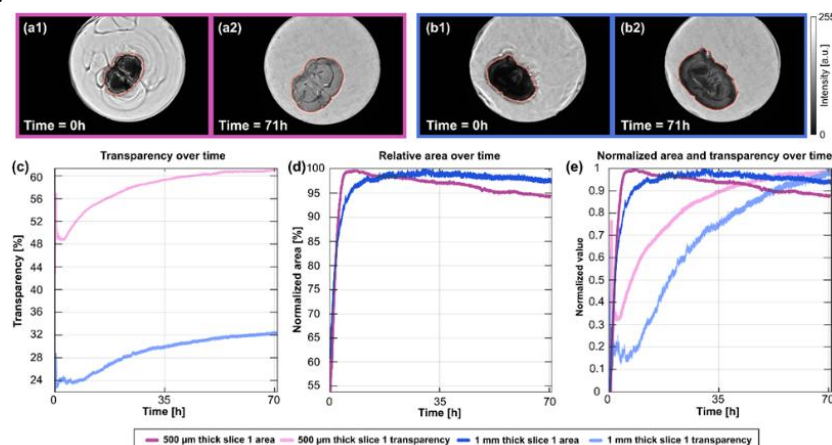
⁴ Narodowy Instytut Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Radiologii 1, ul. Roentgena 5, 02-781 Warszawa, Polska

~ współautorzy wnieśli równy wkład

†email: kamil.kalinowski2.dokt@pw.edu.pl

Techniki optycznego oczyszczania tkanek umożliwiają głębsze i bardziej szczegółowe obrazowanie struktur biologicznych np. mikroskopii fluorescencyjnej [1]. Redukcja rozpraszania światła pozwala uzyskać wyraźniejsze obrazy komórek w całych narządach lub ich skrawkach. Choć istnieje wiele protokołów i odczynników optycznego oczyszczania (np. CUBIC, iDISCO, CLARITY), proces zazwyczaj polega na pasywnej inkubacji, po której uznaje się próbkę za gotową do dalszych analiz [2]. Brakuje jednak narzędzi do obiektywnego, ilościowego śledzenia, czy i kiedy tkanka osiągnęła właściwą przejrzystość. Decyzje podejmowane są empirycznie, co prowadzi do nadmiernego oczyszczania lub niedostatecznej penetracji w dalszym obrazowaniu.

W tej pracy przedstawiamy ClearAIM – otwarty, nisko-kosztowy i łatwy w obsłudze system do automatycznego monitorowania procesu oczyszczania tkanek w czasie rzeczywistym. Łączy on segmentację obrazu (Segment Anything Model) z analizą zmian przezroczystości i morfologii próbki. Nasz wkład polegał nie tylko na wykorzystaniu SAM, ale także na opracowaniu adaptacyjnego mechanizmu optymalizacji jego działania – dzięki dynamicznemu dostosowywaniu punktów referencyjnych przy użyciu algorytmu k-means, osiągamy wysoką precyzję segmentacji mimo braku dodatkowego szkolenia modelu. Na przykładzie skrawków mózgowi myszy (a – 500 μm , b – 1 mm) pokazaliśmy, że ClearAIM pozwala precyzyjnie określić moment maksymalnej przejrzystości, obserwować zmiany morfologiczne oraz zoptymalizować czas oczyszczania względem typu i grubości próbki (Rys. 1). System wyeliminował subiektywność, przyspieszył przebieg pracy i zwiększył powtarzalność obrazowań mikroskopowych.



Rysunek 1: Zmiany przezroczystości i powierzchni skrawków mózgu w trakcie 71 h oczyszczania. Obrazy (a1–a2) przedstawiają próbkę o grubości 500 μm , a obrazy (b1–b2) próbkę o grubości 1 mm, na początku i końcu procesu. Wykresy (c–e) ilustrują zmiany parametrów w czasie.

Źródła finansowania

Narodowe Centrum Badań i Rozwoju (LIDER14/0329/2023)

Literatura

- [1] P. Matryba, L. Kaczmarek, and J. Gołąb, Advances in Ex Situ Tissue Optical Clearing. *Laser Photonics Rev.* 13(8), 1800292 (2019).
- [2] H. Mai and D. Lu, Tissue clearing and its applications in human tissues: A review. *VIEW* 5(1), 20230046 (2024).