

Az agykéreg dinamikájának modell alapú vizsgálata:

az egyedi idegsejtektől a hálózatokig

*Doktori értekezés*

**Somogyvári Zoltán**

Semmelweis Egyetem

Szentágotthai János Idegtudományi Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Érdi Péter, az MTA doktora, tudományos tanácsadó,  
egyetemi magántanár, Henry R. Luce professzor, a Biofizika osztály osztályvezetője.

Készült

a Magyar Tudományos Akadémia

Részecske és Magfizikai Kutatóintézetének Biofizikai osztályán

Hivatalos bírálók: Dr. Csicsvári József, senior scientist  
Dr. Négyessy László, tudományos főmunkatárs

Szigorlati Bizottság elnöke: Dr. Halász Péter, egyetemi tanár, az MTA doktora

Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Lábos Elemér, tudományos tanácsadó, az MTA doktora  
Dr. Madarász Emilia, egyetemi docens

Budapest

2006

*Most csak tükör által homályosan látunk,  
de akkor majd színről színre.*

*/Pál apostol első levele a korintusiakhoz/*

*1 Kor 12,13*

## **Köszönet**

Köszönöm a mindenható Istennek gondviselő szeretetét. Köszönet kedves feleségemnek és múzsámnak Fanninak mindenért. Köszönöm Árminnak, kisfiamnak a kreativitását és Johannának, kislányomnak a kedvességét. Köszönöm Anyukám minden áldozatvállalását.

Köszönöm témavezetőmnek Dr. Érdi Péternek, hogy megmutatta e csodálatos tudományterület szépségét, segített és tanított sok éven át.

Köszönöm kutatócsoportunk minden tagjának: Dr. Bazsó Fülöpnek, Csárdi Gábornak, Huhn Zsófinak, Dr. Kiss Tamásnak, Nepusz Tamásnak, Orbán Gergőnek, Dr. Szalisznyó Krisztinának, Ujfalussy Balázsnak, Zalányi Lászlónak és a csoport minden volt tagjának: Dr. Aradi Ildikónak, Dr. Barna Györgynek, Borbáth Gábornak, Földy Csabának, Dr. Gröbler Tamásnak, Dr. Lengyel Máténak, Papp Gergőnek, Payrits Szabolcsnak és Szathmári Zoltánnak, hogy a barátság örömteli légkörében dolgoztunk együtt. Köszönöm az inspiráló szellemi környezetet, a számtalan beszélgetést és a nyíltságot egymás gondolatai iránt.

Köszönöm csoporton kívüli szerzőtársaimnak: Dr. Székely Györgynek, Dr. Sente Magdolnának, Dr. Barna Barbarának, Dr. Szász Andrásnak, Dr. Ulbert Istvánnak, Dr. Világi Ildikónak, Dr. Halasy Katalinnak, Dr. Détári Lászlónak és Borbély Sándornak a közös munkát, hogy megoszthattuk egymással különböző látásmódunkat. Külön köszönöm Dr. Andai Attilának, akivel együtt vágunk neki az agy felfedezésének és első cikkünket írtuk.

Köszönöm tanárainknak és mindenkinek aki példát adott eddig életemben.

*Somogyvári Zoltán*

# Tartalomjegyzék

Köszönetnyilvánítás . . . . .	i
A használt rövidítések jegyzéke . . . . .	vi
<b>1. Bevezető</b>	<b>1</b>
1.1. Idegsejtek tüzeléseinek modell alapú analízise . . . . .	6
1.1.1. A direkt és az inverz feladat . . . . .	8
1.1.2. A Poisson-egyenlet inverz feladata és az EEG/MEG alapú képalkotó eljárások . . . . .	12
1.1.3. A pontforrás modellek . . . . .	13
1.1.4. A klasszikus egydimenziós CSD módszer és a lamináris modell .	16
1.2. Az agykérgi dinamika vizsgálata kiváltott epilepsziával . . . . .	17
1.2.1. Lassú változások a 4-aminopiridinnel kiváltott epileptikus rohamok során: elemzés és modell . . . . .	18
1.2.2. Az áramforrás-sűrűségeloszlás vizsgálata kiváltott epileptikus ki- sülések során <i>in vitro</i> kortikális szeletben . . . . .	19
1.3. Véletlen Boole-hálózatok állapotciklusainak vizsgálata . . . . .	21
<b>2. Célkitűzések</b>	<b>28</b>
<b>3. Módszerek</b>	<b>31</b>

3.1.	Idegsejtek tüzeléseinek modell alapú analízise . . . . .	31
3.1.1.	Egyedi idegsejtek akciós potenciáljainak <i>in vivo</i> mérése . . . . .	31
3.1.2.	Az akciós potenciál számítógépes szimulációja sokrekeszes ioncsatorna-vezetőképesség alapú modellel . . . . .	32
3.1.3.	A pontforrás modellek és az ellenáram modell illesztése a mért és a szimulált adatra . . . . .	34
3.2.	Az agykérgi dinamika vizsgálata kiváltott epilepsziával . . . . .	38
3.2.1.	4-aminopiridinnel <i>in vivo</i> kiváltott rohamok mérése . . . . .	38
3.2.2.	Az elektro-kortikogramm elemzése wavelet transzformációval . . . . .	38
3.2.3.	Az elektro-kortikogramm elemzése attraktorainak rekonstrukciójával . . . . .	39
3.2.4.	Agykérgi szeletben <i>in vitro</i> kiváltott epileptikus túske kisülések mérése . . . . .	40
3.2.5.	Áramforrás-sűrűség elemzés . . . . .	41
3.2.6.	Immunocitokémia . . . . .	42
<b>4.</b>	<b>Eredmények</b>	<b>43</b>
4.1.	A pontforrás modellek illeszkedésének vizsgálata <i>in vivo</i> mért akciós potenciálokra . . . . .	43
4.1.1.	A monopólus modell illeszkedésének vizsgálata . . . . .	43
4.1.2.	Általános pontforrás modellek illeszkedésének vizsgálata <i>in vivo</i> mért adatokra . . . . .	47
4.2.	Az ellenáram modell felépítése . . . . .	49
4.2.1.	Az ellenáram modell vizsgálata szimulált adatokon . . . . .	50
4.2.2.	Az ellenáram modell illeszkedésének vizsgálata <i>in vivo</i> adatokra és az adatok elemzése az ellenáram modell alapján . . . . .	57

4.3.	Az agykérgi dinamika vizsgálata kiváltott epilepsziával . . . . .	64
4.3.1.	A 4-AP kiváltotta rohamok frekvencia spektrumának változása a roham során . . . . .	64
4.3.2.	Az epileptikus aktivitást mutató rendszer rekonstruált attraktorának változása a roham során . . . . .	67
4.3.3.	A 4-aminopiridinnel kiváltott epileptikus rohamok leírására használt modell rendszer . . . . .	68
4.3.4.	A 4-AP-val kiváltott epileptikus rohamok szimulációja . . . . .	73
4.3.5.	Az agykérgi áramforrás rétegek szerinti eloszlásának jellemzői <i>in vitro</i> szeletben kiváltott epileptikus tüske aktivitás során . . . . .	77
4.4.	A véletlen Boole-hálózatok dinamikájának analitikus leírása . . . . .	80
4.4.1.	A hálózat felépítése . . . . .	80
4.4.2.	Hálózati dinamika . . . . .	80
4.4.3.	A lépéshossz változásainak leírása . . . . .	82
4.4.4.	Az állapotér-összehúzóds és az önelkerülő bolyongás leírása . . . . .	85
<b>5.</b>	<b>Megbeszélés és következtetések</b>	<b>90</b>
5.1.	Az akciós potenciálok modell alapú elemzése . . . . .	90
5.1.1.	Módszertani kérdések megbeszélése, a idegsejtek tüzeléseinek elemzése alapján . . . . .	90
5.1.2.	Az akciós potenciálok elemzésének megbeszélése . . . . .	95
5.2.	A kiváltott epilepsziás vizsgálatok eredményeinek megbeszélése . . . . .	98
5.2.1.	A 4-AP kiváltotta rohamok elemzési eredményeinek értelmezése . . . . .	98
5.2.2.	Az elemzés eredményeinek összevetése a szimulációkkal . . . . .	99

5.2.3.	Az <i>in vitro</i> kiváltott epileptikus aktivitás során, a CSD rétegeloszlások jellemzőinek összehasonlítása a c-Fos jelölődés eloszlásával . . . . .	102
5.2.4.	A CSD eloszlások változatossága . . . . .	105
5.2.5.	Az <i>in vitro</i> és az <i>in vivo</i> eredmények összevetése a szimulációk fényében . . . . .	107
5.3.	A véletlen Boole-hálózatok analitikus eredményeinek megbeszélése . . .	108
5.4.	Miért fontosak a modellek? . . . . .	111
	<b>Összefoglalás/Summary</b>	<b>113</b>
	<b>Az értekezés témájához kapcsolódó saját közlemények jegyzéke</b>	<b>115</b>
	<b>Egyéb saját közlemények jegyzéke</b>	<b>117</b>
	<b>Irodalomjegyzék</b>	<b>118</b>

## A használt rövidítések jegyzéke

4-AP	4-aminopiridin
BMI	bikukulin methijodid
cAMP	ciklikus adenzin monofoszfát
CSD	current source density, áramforrás sűrűség
DNS	dezoxi-ribo-nukleinsav
EÁM	ellenáram modell
EEG	elektro-enkefalogramm
EKoG	elektro-kortikogramm
EPSP	Excitatory post-synaptic potential, ingerlő poszt-szinaptikus potenciál
GABA <sub>A</sub>	gamma-amino-butyric acid, gamma-amino-vajsav, A-típusú receptor
IEG	immediate early genes, azonnali korai gének
IPSP	Inhibitory post-synaptic potential, gátló poszt-szinaptikus potenciál
LFP	local field potential, helyi térpotenciál
LORETA	low resolution tomography, alacsony felbontású tomográfia
MEG	magneto-enkefalogramm
MFR	magnesium free ringer solution, magnézium mentes tápoldat
MINORM	minimum norma megoldás
MUA	multi unit activity, soksejt aktivitás
NMDA	N-methyl-D-aszpartát típusú glutamát receptor
SFN	Society for Neurosciences
TPM	térbeli potenciál mintázat
VSF	valószínűség sűrűség függvény
WROP	weighted resoultion optimization, súlyozott felbontás optimalizáció



# 1. fejezet

## Bevezető

Az emberi gondolkodás alapvető folyamata a világ modelljének megalkotása és a megalkotott világmodell alkalmazása azaz gondolat kísérletek végzése, a következmények előjelzése és a jósolt eredmények összehasonlítása a tapasztalattal. Ezek a lépések természetes részei mindennapi gondolkodásunknak, de számos új eredmény mutatja, hogy hasonló folyamatok önkéntelenül, tudatosság nélkül, folyamatosan zajlanak agyunkban. Agyunk folyamatosan modellezi a világot, jósol, összehasonlít és valószínűleg ennek figyelembe vételével módosítja és javítja a modellt. A világ modellezése, amit szinonimának tekintve a világ reprezentációjának is nevezek, alapvető eleme az emberi gondolkodásnak. Ebből a szempontból nincs lényegi különbség a között ha azt állítjuk:

*A nap süit.*

vagy ha ezt:

$$C \frac{dV_m(t)}{dt} = \sum I_m(t) \quad (1.1)$$

A két állítás számtalan szempontból különbözik. Más a két reprezentáció nyelve, az első szóbeli a második matematikai, az első modell statikus a második dinamikus de közös bennük, hogy mindkét állítás a világ egy darabkájának modellje. Bennük szimbólumok reprezentálják a világ objektumait és más szimbólumok az objektumok közötti összefüg-

géseket. Ugyanazt a dolgot többféleképpen is lehet reprezentálni, modellezni és a különböző modelleket felváltva, de akár párhuzamosan is lehet használni. Míg az objektumok reprezentációi önkényesen megválaszthatóak, az objektumok között értelmezett transzformációk reprezentációinak már meg kell felelniük bizonyos törvényszerűségeknek ahhoz, hogy valóban reprezentálják a világ összefüggéseit. A hétköznapi életben egy állítást igaznak vagy hamisnak tekintünk, ez azonban igencsak leegyszerűsítése egy állítás és a világ viszonyának. Ha egy állítást nem logikai formának, hanem reprezentációnak azaz modellnek tekintünk, akkor a reprezentáció igazságát nem, de hűségét számon kérhetjük. Egy transzformáció és a hozzá tartozó szimbólumrendszer akkor hű reprezentációja egy folyamatnak, ha a kiindulási állapot reprezentációjának transzformáltja megegyezik a folyamat eredményének reprezentációjával. Ez a feltétel azonban még mindig elég tág területet hagy a sokféleségnek, ugyanazt a folyamatot sokféleképpen lehet hűen reprezentálni, sokféle hű modellt alkothatunk rá. E sokféle modell közt nem feltétlenül létezik legjobb, más-más helyzetben, illetve összefüggésben más-más reprezentáció bizonyulhat hasznosabbnak, illetve más-más összefüggésekre mutathat rá. Ha a reprezentációs-rendszert, amelyben egy adott állítást teszünk rögzítjük, akkor újra felvethetjük az állítás igazságának kérdését; azaz egy állítás igazságát nem lehet önmagában vizsgálni, csak a teljes reprezentációs-rendszer részeként.

A reprezentáció megalkotása azaz a modellalkotás folyamata így több szempontból is központi eleme kutatásomnak. Az agy egyik legfőbb feladata a modellalkotás, a világ reprezentációjának megalkotása, ugyanakkor a kutatás maga is egy modellalkotási folyamat. Ismét más szempontból tekintve, a modellek által új információhoz is juthatunk, de a kutatás eredményeképpen létrejött gondolati kép is egy modell. Tehát a modellezés folyamata egyszerre jelenik meg mint a kutatás tárgya, eszköze, folyamata és eredménye.

Kutatásom során az elemzés és a modellezés szorosan egymásra épültek. A matematikai elemzés célja, hogy a matematikai eszközökkel minél több új információt nyerjünk ki a mért adatokból, míg a modellezés feladata, hogy az így kinyert információ-töredékeket egységes gondolati képpé szervezze. Az összefüggés e két folyamat között azonban nem

egyirányú. Az elemzés során alkalmazott matematikai eszközök minden esetben igénylik, hogy feltevéseket tegyünk a rendszerről, amelyre alkalmazzuk azokat, tehát az elemzéshez szükséges egy előzetes gondolati kép, modell megléte. Másrészt egy új modell felállítására új elemzési módszerekhez és az adatok új értelmezéséhez, ezen keresztül pedig új információhoz vezethet. Az elemzés és a modellalkotás tehát egymást kölcsönösen előmozdítva viheti előre a megismerést. Munkám célja és motivációja tehát a matematikai elemzés és modellalkotás egymást kölcsönösen feltételező módszerével közelebb kerülni az agy dinamikájának megértéséhez.

Értekezésemben három különböző technikával végzett extracelluláris agykérgi elvezetésekől származó adatokat, illetve a bennük megjelenő jellegzetességeket, valamint egy neuronhálózat számítógépes szimulációja során tapasztalt jelenséget tettem a modell alapú elemzés tárgyává. Az alkalmazott modellek természete szerint megkülönböztethetünk pillanatnyi (statikus), illetve időbeli változásokat leíró dinamikus modelleket; a leírt elektrofiziológiai jelenségek tipikus frekvencia tartományai szerint pedig magas és alacsony frekvenciájú jelenségeket. Ebben a felosztásban, az akciós potenciálok időbeli lefutásának Hodgkin-Huxley formalizmusú szimulációja a magas frekvenciás dinamikus modellek közé tartozik, az akciós potenciálok által – a sejten kívüli térben – létrehozott térbeli elektromos potenciálmintázatok leírása pontforrás- illetve ellenáram-modellekkel pedig a pillanatnyi, illetve statikus modellek alkalmazásának példája a magas frekvenciás mérésekre. A hagyományos egydimenziós CSD elemzés – bár ritkán vizsgálják ebből a szempontból - szintén pillanatnyi, a lamináris modell alkalmazása az alacsony frekvenciás helyi potenciálokra. Ugyanebbe a kategóriába tartoznak, csak makroszkopikus léptékben az EEG/MEG alapú képalkotó eljárások különböző inverz feladat megoldási módszerei (LORETA, MINORM, WROP, dipólus illesztés). Ezzel szemben, a kiváltott epileptikus rohamok elemzése a fázistér rekonstrukció módszerével, illetve az észlelt jelenségek leírására felépített neuronhálózati modellem dinamikus modellek alkalmazása az alacsony frekvenciás jelenségekre. A véletlen Boole-hálózatok szintén dinamikus modellek, bár egy magasabb absztrakciós szinten, melyeknek célja nem egy konkrét jelenség

hanem az élő és környezetükkel kapcsolatba lépő, a környezeti hatásokra reagáló rendszerek általános állapotának leírása, amely a stabilitás és a káosz határán helyezkedik el. Az idő itt csak absztrakt szinten jelenik meg, de mivel a gyorsan reagáló elemek alkotta hálózat ciklikus dinamikája lényegesen lassabb időskálán zajlik, mint a egyes elemek állapotváltozása, ezt a modellt is az alacsony frekvenciás dinamikus modellek családjába sorolhatjuk.

Hogy megkönnyítsem a tisztelt olvasó számára a tájékozódást munkáim között, röviden összefoglalom a kutatás főbb lépéseit:

A tüzelő idegsejtek által a sejten kívüli térben létrehozott elektromos potenciált macska agykérgébe ültetett lineáris mikroelektroda-rendszerrel *in vivo* mérte Dr. Ulbert István az MTA Pszichológiai Intézetében. A mért térbeli potenciál eloszlások alapján megmutattam, hogy sem a monopólus modell, sem bonyolultabb pontforrás modellek nem adják a mért potenciálmintázatok megfelelő leírását. Ezért a tüzelő idegsejtek membránáramainak új modelljét állítottam fel: az ellenáram modellt (EÁM) és megmutattam, hogy az EÁM pontosan írja le a mért adatokat. Az új modell tulajdonságait szimulált adatokon vizsgáltam. A szimulációkat Zalányi László (MTA KFKI Résezske és Magfizikai Kutatóintézete) készítette. Megállapítottam, hogy az EÁM minden paramétere meghatározható a térbeli potenciál mintázatok alapján numerikus illesztéssel. Ez alapján feltételeztem, hogy ezzel a módszerrel hasonló paraméterek a mért adatokból is kinyerhetőek. Az új módszerrel a sejt membránján átfolyó áramforrás-sűrűség (CSD) pontosabban határozható meg, mint a hagyományos CSD módszerrel, mert az ellenáram modell illesztése figyelembe veszi a sejt és az elektróda távolságát és a potenciál távolságfüggését. Az EÁM illesztésével kiszámítottam 13 idegsejt potenciálmintázatai alapján az átlagos áramforrás-sűrűség eloszlásukat, majd ez alapján meghatároztam a dendritek átlagos térbeli elektromos lecsengési paraméterét. Tehát létrehoztam egy új, modell-alapú elemzési módszert amelynek célja, hogy kinyerjük mindazt az információt, amit egy tüzelő idegsejt elektromos tere hordoz a forrásáról.

Az agykérgi dinamika kiváltott epilepsziás vizsgálata során először az *in vivo* kiváltott rohamok lefolyását elemzem. A rohamokat jellemző elektro-kortikogramokat (EKOg) Dr. Barna Barbara, Dr. Szász András és Dr. Sente Magdolna mérte a Szegedi Egyetem, Összehasonlító Élettani Tanszékén. A rohamok dinamikájában bekövetkező lassú változásokat az EKOg frekvencia spektrumának és rekonstruált attraktorának változásával jellemeztem. Az észlelt jelenségek magyarázataként egyszerű neuronhálózati modellt készítettem és a modell viselkedését összehasonlítottam a rohamok jellegzetességeivel. Ezután agykérgi szeletben, *in vitro* kiváltott epileptikus tüske kisüléseken vizsgáltam a kisülések során létrejött rétegenkénti áramforrás eloszlás jellemzőit. A három görcskeltő anyag hatására létrejött epileptikus aktivitást Borbély Sándor és Dr. Világi Ildikó mérte az ELTE Élettani és Neurobiológiai Tanszékén, szintén 16 csatornás mikroelektroda-rendszerrel. A helyi térpotenciál alapján, klasszikus egydimenziós CSD módszerrel határoztam meg az agykérgi körök szinaptikus aktivitására jellemző áramforrás-eloszlást az agykéreg különböző rétegeiben. A talált mintázatok jellegzetességeit összehasonlítottam a Dr. Halasy Katalin (Szent István Egyetem, Anatómiai és Szövetani Tanszék) által végzett c-Fos génextpresszió jelölés eredményével.

Végül a dinamikai hálózatok egy egyszerű modelljét, a véletlen Boole-hálózatokat vizsgálom. E modell rendszert számos biológiai dinamikai hálózat leírására alkalmazták már, például a fehérje termékeiken keresztül egymást szabályozó gének hálózatára, sejteken belüli anyagcsere hálózatokra és az idegrendszeri hálózatokra. A hálózat egy kezdeti állapotból indulva rövid átmeneti szakasz után periodikus viselkedést mutat, állapotkörbe kerül. Dinamikájának jellegzetességei – mint például az állapotkörének hossza, illetve az állapotkörig tartó átmeneti szakasz hossza – függenek a hálózat szerkezetétől, elsősorban a kapcsolatsűrűségétől. A kapcsolatsűrűség függvényében megjelenő fázisátalakulást, amely elválasztja a kaotikus és a fagyott fázist egymástól vizsgáltam analitikus matematikai eszközökkel. Megmutattam, hogy a rendszer lépéshosszainak változása fázisátalakulást mutat a kapcsolatsűrűség függvényében, majd a lépéshosszváltozások által kijelölt, összehúzódó fázistérben alkalmaztam az önelkerülő bolyongás elméletét. Az így

levezetett közelítésekből numerikusan kiszámítottam az állapotkör hosszának és teljes bolyongás hosszának várható értékét a hálózat méretének és kapcsoltságának függvényében. A kapott közelítéseket összehasonlítottam a Monte Carlo szimulációk eredményeivel, amelyeket Payrits Szabolcs (MTA KFKI Részecske és Magfizikai Kutatóintézete) készített. Megállapítottam, hogy a javasolt analitikus leírás minőségileg jól magyarázza a dinamika és a kapcsoltság között észlelt – korábban csak szimulációkkal vizsgált – összefüggéseket.

A vizsgált jelenségek sok szempontból különböznek, de a különböző jelenségek elemzésére ugyan azt a megközelítést alkalmaztam: céлом minden esetben az új információ, a rendszer jobb megismerése annak modelljén keresztül. Amelyhez természetesen az észlelt jelenségek, illetve a jelenségeket létrehozó rendszer olyan modelljének megalkotása volt szükséges, amely a jelenségeket jól leírja és amely által a jelenségek érthetővé válnak.

## **1.1. Idegsejtek tüzeléseinek modell alapú analízise**

Az idegsejtek élettani működésének alapeleme az akciós potenciál létrehozása, mely a sejtől ki és az oda beáramló ionok révén elektromos potenciálváltozást hoz létre a sejtek közötti teret kitöltő folyadékban. Az élő szövetben a sejteken kívüli, illetve sejtek közötti teret ionok vizes oldata tölti ki. Elektromos szempontból ez híg elektrolit, mely térvezetőként vezeti tovább a befecskenedett áramot. Híg elektrolit oldatokban az Ohm-törvény jó közelítéssel érvényes, ez azt jelenti, hogy az áram arányos a potenciállal. Ez a potenciál mérhető a sejten kívüli folyadékba merített mikroelektrodákkal. Ha több mikroelektrodát egymáshoz elegendő közelségben helyezünk el, egy idegsejt elektromos aktivitása több elektrodán párhuzamosan mérhető, mérésünk eredménye egy téridőbeli elektromos potenciálmintázat lesz. A tapasztalat szerint az ilyen típusú mérési adatokban két lényeges komponens különböztethető meg: alacsonyabb frekvencia tartományban ( $0 - 500 \text{ Hz}$ ) az ún. helyi térpotenciál (local field potential, LFP) melynek fő forrásai a szinaptikus áramok, magasabb frekvencia tartományban ( $300 \text{ Hz}$  fölött) pedig kisszámú egyedi sejt

akciós potenciáljainak együttese mérhető (multi unit activity, MUA). A kiváltott epilepszia vizsgálata során az előbbi, az akciós potenciálok modell alapú elemzése során az utóbbi jeltípust használtuk fel. Mindkét jeltípus az elektróda környezetében található sejtek membránján áthaladó ionáramok következménye, de átlagolódásuk során különböző hatások lépnek fel. A poszt-szinaptikus áramimpulzusok tipikus időállandója  $10 - 30 \text{ ms}$ , míg az akciós potenciált létrehozó áramok  $0.5 - 2 \text{ ms}$  időtartományban folynak. A poszt-szinaptikus áramok a viszonylag kis kiterjedésű dendriten lokalizáltak, míg az akciós potenciálok, egy rövid kezdeti szakasz után  $10 - 20 \text{ cm}$  hosszan terjednek szét az axonok mentén. Számos egyéb, kevésbé ismert tényező szintén befolyásolja, befolyásolhatja az átlagolódást, mint például az idegszövet frekvenciafüggő vezetőképessége, illetve dielektromos állandója és az akciós potenciál érkezési idejének szórása a különböző axonvégződés között. Mindezen hatások együttes eredményeképp valószínű, hogy a helyi térpotenciál nagyobb területen található és szám szerint több sejt aktivitásának eredménye, míg az egyedi akciós potenciálok csak a legközelebbi sejtek esetében mérhetőek. A szakirodalomban nem találtam becslést sem arra, hogy milyen távoli sejtek, illetve mekkora agyterület sejtjeinek átlaga a helyi térpotenciál. Könnyebb megbecsülni, hogy milyen távrolól mérhető az egyedi akciós potenciálok hatása. Értekezésemben az akciós potenciálok elemzése alapján becslést adok arra, hogy az elemzett sejtek jeleit milyen távolságból mérte az elektródarendszer.

A mikroelektróda-rendszerekkel mérhető térpotenciálok felülateresztő szűrő alkalmazása után az egyedi sejtaktivitások összegét mutatják. Az elektródák környezetében található sejtek akciós potenciáljai általában különböző nagyságú és lefutású potenciálhullámot hoznak létre a különböző elektródákon. Ennek két oka van: Egyrészt a különböző sejtek különböző morfológiával és különböző felületi ioncsatornasűrűség-eloszlásokkal rendelkeznek, így dinamikus tulajdonságaik különböznek. Másrészt az elektróda és a sejt, illetve a sejt különböző nyúlványainak relatív helyzete szintén különbözik minden egyes sejt-elektróda pár esetében. Ez a tény felvetette annak lehetőségét, hogy az eltérő jelalakokat felhasználva azonosítani lehet azokat az akciós potenciálokat, amelyek

egyazon sejtből származnak. A szakirodalomban számos algoritmust közöltek, amelyek igyekeznek megtalálni az akciós potenciálok kiválogatásának és csoportosításának legjobb módszereit. E módszerek többsége felteszi, hogy a felvétel során az egyes sejtekből származó jelalakok változatlanok maradtak, a mért jelek különbözőségéért a jelekhez hozzáadódó, azokkal nem korrelált Gauss-eloszlású zaj felelős. E jel szétválogatás (spike sorting) és osztályozás (clustering) olyan adatsort eredményez, mely az elektróda közelében található sejtekhez azok tüzeléseinek időpontjait rendeli hozzá. Ilyen típusú jelsorozatok számos esetben voltak statisztikai és információelméleti analízis tárgyai, alkalmazva ezen tudományterületek fejlett matematikai eszköztárát. E megközelítés az akciós potenciált általában pillanatszerű és pontszerű jelenségnek tekinti, elhanyagolva a tüzelés finom időbeli és térbeli részleteit. A tüzelések szétválogatása azonban azt is lehetővé teszi, hogy megismerjük az akciós potenciálok finomszerkezetét. Míg a nyers adatban a zaj, illetve a különböző sejtek jeleinek keveredése elfedi e finom részleteket, addig a szétválogatás lehetővé teszi az egy sejttől származó akciós potenciálok jeleinek fázishelyes átlagolását, megtartva a sejtre jellemző finom részleteket és egyben csökkentve a zaj hatását. Az elektródánkénti fázishelyes átlagolás eredménye egy átlagos tüzelés elektromos terének alakulása térben és időben. A korrelálatlan zaj kiátlagolódása megbízhatóan azonosíthatóvá teszi még az igen finom részleteket is. Természetes módon feltehető, hogy az átlagolt tér-idő potenciál függvény tulajdonságai sok szempontból jellemzőek az azt létrehozó tér-időbeli áramforrás-eloszlásra, azaz a mért potenciál információt hordoz a forrásairól. Ismereteim szerint ezidáig nem volt olyan módszer, amely hozzáférhetővé tette volna ezt az információt. Munkám célja egy olyan módszer kidolgozása volt, amely felhasználva egy sejt környezetében mikroelektróda-rendszerekkel mért elektromos potenciált, minél több információt szolgáltat annak forrásáról.

### **1.1.1. A direkt és az inverz feladat**

Az idegi ingerületvezetés során fellépő elektromos áramok változásainak sebessége alacsonynak tekinthető mind a jellegzetes agyi méret tartományokhoz, mind az elektromág-



neses csatolás erősségéhez képest, így az általuk keltett elektromos mező leírásakor indokolt az egyenáramú, kvázi-sztatikus közelítés használata. Ez többek között azt is jelenti, hogy a lassan változó agyi áramok által keltett mágneses tér olyan gyengén hat kölcsön az agyszövettel, hogy az általa létrehozott elektromos tér elhanyagolható, így elhanyagolható az elektromágneses hullámok hatása is. Egyenáramú közelítésünk egyben azt is jelentette, hogy a sejtek közötti elektrolit oldat dielektromos állandójából és vezetőképességéből képzett időállandó kicsi a sejtek membránjain áthaladó ionáramok jellegzetes változási sebességeihez képest, így a sejteken kívüli térben az elektromos jel gyorsan terjed, minden változás gyakorlatilag egyidejűleg következik be a mérések szempontjából fontos távolságokon. Számításaink során szintén elhanyagoltuk az idegszövet dielektromos állandójának és a vezetőképességének frekvenciafüggését is. Egyszerűsítéseink eredményeképpen a sejtek membránján ki-, illetve befolyó áramok által keltett elektromos potenciál leírható Maxwell első törvényének és Ohm-törvényének felhasználásával [Malmivuo és Plonsey, 1995]:

$$\nabla^2 V(x, y, z) = -\frac{I(x, y, z)}{\epsilon\sigma} \quad (1.2)$$

Ahol  $V(x, y, z)$  jelöli az elektromos potenciál három dimenziós eloszlását,  $I(x, y, z)$  a szintén három dimenziós áramforrás sűrűség eloszlást,  $\epsilon$  a közeg dielektromos állandóját,  $\sigma$  a sejtek közötti folyadék vezetőképességét végül  $\nabla^2$  háromdimenziós második derivált operátort, a Laplace operátort. Megállapíthatjuk, hogy ez az egyenlet teljes mértékben analóg az elektrosztatika alapegyenletével a Poisson-egyenlettel. A különbség egyrészt az, hogy az együtthatóban megjelenik a vezetőképesség is másrészt, hogy az egyenlet jobb oldalán a forrás tagban az áramforrás sűrűség eloszlás helyettesíti a töltéssűrűség eloszlást. Mivel a sejtek kettős lipid membránja igen jó szigetelő, a sejtből ki, illetve az oda be áramló ionok, a sejtek közötti térben forrásként, illetve nyelőként jelennek meg. Az áramforrás sűrűség egyaránt felvehet pozitív és negatív értéket. A pozitív értéket szűkebb értelemben vett forrásnak nevezzük és a sejtek közötti térbe befecskendezett pozitív

áramot vagy az onnan elvezetett negatív áramot jelenti. A negatív értéket nyelőnek nevezük és a térvezetőből elvezetett pozitív, vagy oda befecskendezett negatív töltéseket jelenti. Az egyenlet felírásakor a közeget elektromos szempontból homogénnek és irányfüggetlennek azaz izotropnak tekintettük. A nagygyú szürkeállomány természetesen nem izotrop és homogén, de több vizsgálat tanúsága szerint inhomogenitása és anizotrópiája elektromos szempontból elhanyagolható [Mitzdorf, 1985].

Ha adott egy térbeli áramforrás sűrűség eloszlás, a Poisson-egyenlet alapján meghatározható az általa létrehozott elektromos potenciál, ez a Poisson-egyenlet direkt feladata. Megoldásának egyszerű módszere a Green-függvény módszer, mely felhasználja az egyenlet linearitását. Végtelen nagy homogén vezető közegben a megoldáshoz használható Green-függvény, amely megegyezik egy pontforrás potenciálterével:

$$V(r) = \frac{I_0}{4\pi\epsilon\sigma} \frac{1}{r} \quad (1.3)$$

Feltéve, hogy egy  $I_0$ , erősségű forrás helyezkedik el a koordináta-rendszer középpontjában és  $r = \sqrt{x^2 + y^2 + z^2}$  jelöli az  $(x, y, z)$  mérési pont távolságát az origótól.

Egy adott forráseloszlás tere megkapható a forráseloszlás függvény és a pontforrás terét jellemző Green-függvény konvolúciójával. A direkt feladat megoldása, végtelenül nagy homogén közegben, a közeg tulajdonságainak rögzítése után, nem igényel további elvi megfontolást, a potenciáltér a membránáramok ismeretében automatikusan számítható.

Az inverz feladat estében adott egy potenciáltér és keressük a forráseloszlást, amely azt létrehozta. Mint azt már Helmholtz (1853) megmutatta, ha a potenciált csak bizonyos mérési pontokban, vagy mérési felületen, de nem a kérdéses térrész belsejében ismerjük, az inverz feladat megoldása nem egyértelmű. Ezt belátni igen egyszerű: egy homogén töltött gömb potenciáltere a gömbön kívül megegyezik egy olyan ponttöltés terével, melybe összegyűjtöttük a gömbben található összes töltést. Ezért a potenciált a gömbön kívül mérve nem lehet eldönteni, hogy a teret egy végtelenül kicsi pontforrás, vagy egy vé-

ges sugarú töltött gömb hozta-e létre, illetve ez utóbbi esetben nem lehet meghatározni a gömb sugarát. Ez a példa is mutatja, hogy általános esetben nem lehet meghatározni a forráseloszlást a potenciálmérések alapján, az inverz feladat nem megoldható, illetve megoldása nem egyértelmű. Ha azonban rendelkezünk előismeretekkel a forráseloszlás tulajdonságairól, akkor ezek felhasználásával, leszűkíthető a lehetséges megoldások tere. Ha a lehetséges megoldások terét elegendően leszűkítettük, a rendelkezésre álló mérések egyértelműen kijelölik a lehetséges megoldások közül a ténylegeset. E megközelítés során az előismeretek alapján tett megszorításokból a forrás egy modelljét építjük fel. A mérés feladata, hogy meghatározza a modell szabad paramétereinek értékeit. E modell alapú elemzés eredménye tehát az a paraméterkészlet, amelyet a modellbe helyettesítve és a potenciáletteret kiszámolva a lehető legnagyobb egyezést kapjuk a mért értékekkel. Ez az optimális paraméterkészlet tartalmazza az új információt, amely jellemző a tényleges forrásra. Az elemzés maga egy modell illesztési folyamat. Összegezve megállapíthatjuk, hogy e módszer megmutatja, hogy a megfelelő modell nem csak a mérési eredmények magyarázatában segít, hanem segítségével minőségileg új információ nyerhető a mért adatokból.

A Poisson-egyenlet inverz feladatában tehát központi kérdés annak a megszorításrendszernek, azaz modellnek a felállítása, amely hűen tükrözi a rendszerről meglévő *a priori* ismereteinket. E modellnek egyensúlyt kell találnia a két egymásnak általában ellentmondó kívánalom között. Egyrészt elegendően egyszerűnek kell lennie, ahhoz, hogy minden paramétere meghatározható legyen a mérések alapján, más szavakkal a megszorítások legyenek elég szigorúak ahhoz, hogy biztosítsák az inverz megoldás egyértelműségét. Másrészt elegendően komplexnek kell lennie, hogy leírja a mért adatok sokféleségét, más szavakkal a megszorítások legyenek elég lazák ahhoz, hogy pontos illeszkedést tegyenek lehetővé a mért adat és a modell eredményei között.

## **1.1.2. A Poisson-egyenlet inverz feladata és az EEG/MEG alapú képképző eljárások**

A Poisson-egyenlet inverz feladata az alapfeladata mindazon eljárásoknak, amelyek EEG vagy MEG mérések alapján akarják meghatározni az agyszövet aktivitását. Számos olyan feltételrendszer és megoldási módszer áll rendelkezésre a szakirodalomban (Baillet és mtsai, 2001), melyek biztosítják az inverz feladat megoldhatóságát, de az általuk feltételezett tulajdonságok nem felelnek meg a mikroelektroda-rendszerek által mért idegsejtek mint források tulajdonságainak, így egyik sem alkalmazható változtatás nélkül ebben az esetben.

A feltételezett forrás leírható véges számú pontforrás összegeként. Egy pontforrás leírásához legkevesebb négy szabad paraméter szükséges – három koordináta és egy amplitudó. Figyelembe véve a kísérleti technikában alkalmazható mikroelektrodák alacsony számát, ez a módszer a membránáramok igen durva térbeli leírását teszi csak lehetővé. Finomabb felbontás érhető el a szorosan vett képképző (EEG/MEG imaging) eljárásokkal. Ezek az eljárások több rögzített térelemre, voxelre bontják a képet, mint a mérési pontok száma. Hogy mégis biztosítani tudják a forrás kép egyértelműségét, globális kényszerfeltételeket alkalmaznak. A voxelek térbeli rögzítése lehetővé teszi, hogy a feladatot egy lineáris egyenletrendszerként fogalmazzuk meg. Ha a voxelek száma nagyobb, mint a mérési pontok száma, az egyenletrendszer alulhatározott, végtelen sok megoldása egy eltolt lineáris alteret, azaz egy affin teret feszít ki a voxelek aktivitásai által meghatározott sok dimenziós forrásterben. Az alkalmazott globális feltétel feladata, hogy a végtelen sok forráseloszlás közül, amelyek mind kielégítik az adott egyenletrendszert, azaz mind ugyanazt a mért potenciált eredményezik, kiválassza azt amelyiket a feladat valódi megoldásának tekintünk. Több lehetséges kényszerfeltétel róható ki a forrásképre, megkövetelhető, hogy legyen a lehető legkisebb a forráskép normája, hogy legyen a lehető legsimább a forráskép (LORETA módszer, Low REsolution TomogrAphy). Szintén megkövetelhető, hogy legyen a lehető legritkább a forráskép, vagy feleljen meg bizonyos

anatómiai feltételeknek.

A fenti kényszerfeltétel-rendszerek egyike sem írja le megfelelően a mi kísérleti elrendezésünket. A minimum norma feltétel (Hämäläinen és Ilmoniemi, 1984) csak 2 dimenziós esetben ad kielégítő eredményt. Ez megfelelő közelítés lehet, ha az agykérgi aktivitást vizsgáljuk, de nem megfelelő esetünkben, hiszen a sejtek 3 dimenzióban helyezkednek el. A széles körben használt LORETA módszer (Pascual-Marqui és mtsai, 1994) ugyan jó eredményeket ad 3 dimenziós forráseloszlásra is, de feltételezi a forráseloszlás simaságát. Ez a feltételezése nem áll összhangban azzal, hogy az akciós potenciál általában igen kis térrészben keletkezik az axon dombon, illetve az axon kezdeti szakaszán, éles csúcsot alkotván a forrásképben. A forráskép ritkasága jól leírná az akciós potenciál során folyó fő áramot amely az axon kezdeti szakaszán folyik a sejtbe befelé, ám, mint látni fogjuk, a tüzelés elektromos terének kialakításában szerepe van a sejtmembrán összes többi részén folyó áramoknak, és a ritkasági feltételezés nem illeszhető össze a dendritikus membrán folytonosságával. Az akciós potenciálok elektromos terének leírásához szükséges volt egy új feltételrendszer bevezetése.

Ellentétben az EEG felvételeknél használt skalpra helyezett makroelektrodákkal, az agyszövetbe szúrt mikroelektrodák szövetkárosító hatása következtében egészen ritka az olyan kísérleti elrendezés, amelyben a mérési pontok körülölelnek egy zárt térfogatot. Ennek hiányában rögzített térelemrendszer nem alkalmazható, a források távolsága ismeretlen paraméterré válik, amely nemlineárisan befolyásolja a mért potenciálképet. E nemlineáris hatás azt eredményezi, hogy a feladat nem fogalmazható meg lineáris egyenletrendszer formájában, így nem csak a fenti módszereknél megfogalmazott feltételrendszerek, de az alkalmazott megoldási eljárások sem alkalmazhatóak esetünkben.

### **1.1.3. A pontforrás modellek**

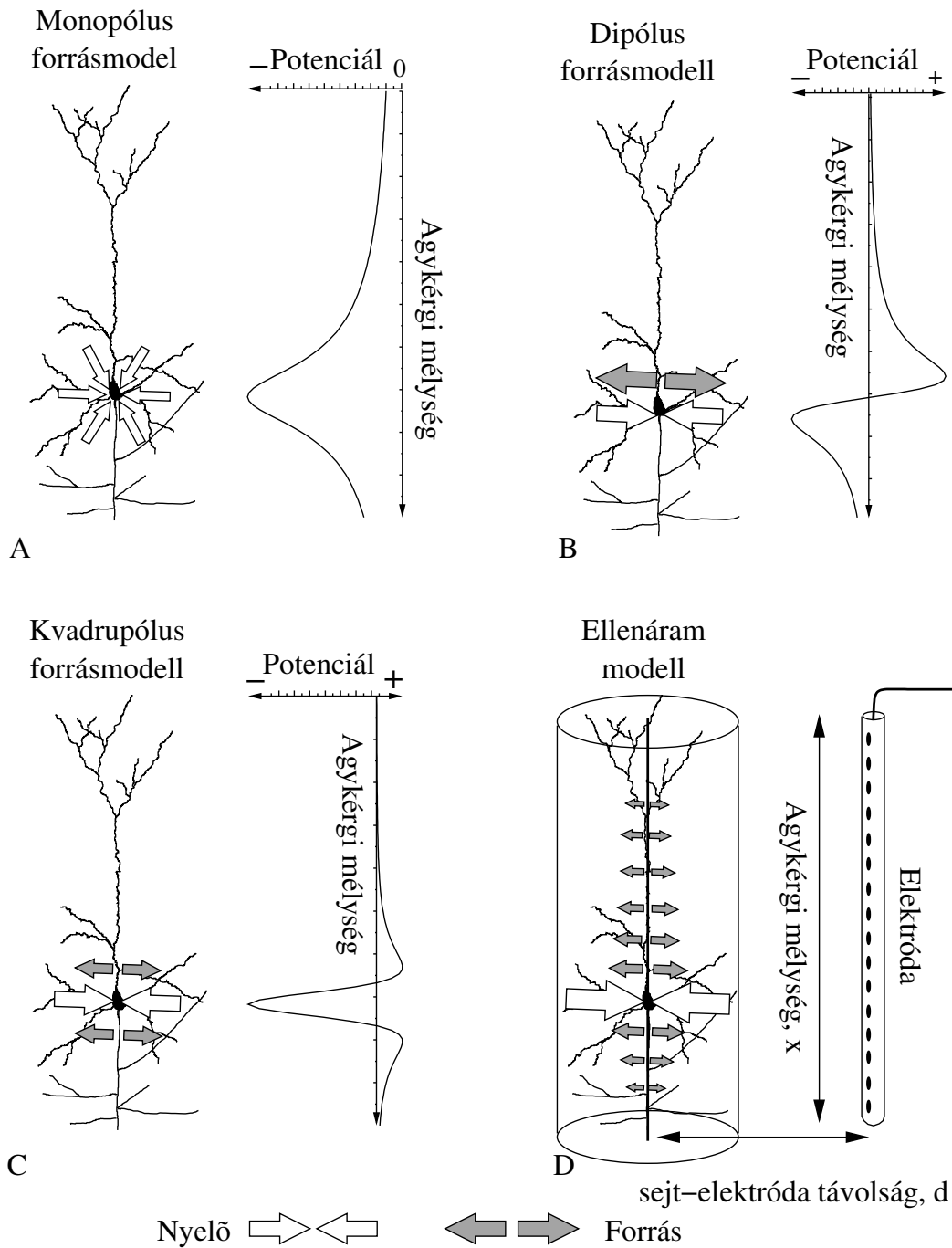
Keressük tehát az idegsejt lehető legegyszerűbb modelljét, amely az éppen akciós potenciált létrehozó sejtet mint áramforrást a mérésekkel összhangban képes leírni. Keresésünk tehát legegyszerűbb modellek felől indul és addig növeljük az alkalmazott modell rész-

letgazdagságát, amíg az a képessé nem válik a mért adatok leírására. A legegyszerűbb forrásleírás a monopólus modell. A szakirodalomban a tüzelő sejtet többször tekintik monopólus áramforrásnak és ismereteim szerint ez az egyetlen modell, amelyet az inverz feladat megoldására – adott esetben a tüzelő idegsejt lokalizációjára – már használtak ezért röviden összefoglalom a tulajdonságait (Gray és mtsai, 1995; Jog és mtsai, 2002; Chelaru és Jog, 2005). A monopólus tér gömbszimmetrikus és a távolsággal fordított arányban csökken. A monopólus tér akkor is jó közelítést adhat, ha a forrás nem gömbszimmetrikus. Ennek két feltétele van: Egyrészt szükséges, hogy a forrás által kibocsájtott, illetve elnyelt áramok mennyisége különbözzön, előjeles összegük ne nullát adjon. Másrészt, hogy a forrás kiterjedése kicsi legyen a megfigyelési távolsághoz képest. E feltételek teljesülése számos tényező függvénye, függ a sejt morfológiájától, élettani tulajdonságaitól, a sejt és az elektróda viszonylagos helyzetétől is.

A monopólus közelítésen alapul a sejt helyzetének meghatározása háromszögeléssel, tetródokkal végzett mérések alapján [Jog és mtsai, 2002; Chelaru és Jog, 2005]. E módszer feltételezi, hogy a tüzelő sejtek tere jól közelíthető egy monopólus térrel, tudomásom szerint azonban nem készült ez ideig olyan munka, amely megvizsgálta volna, e közelítés helyességét és alkalmazhatóságát. Ezért munkám első lépése a monopólus közelítés helyességének vizsgálata volt.

Egy monopólus forrás modellnek négy szabad paramétere van, három koordináta és egy forráserősség paraméter, így paramétereit négy, nem egy síkban fekvő pontban mért potenciál alapján lehet meghatározni. Az általunk alkalmazott mikroelektróda-rendszer 16, egy egyenes mentén fekvő mérési pontot biztosít. Ez a elektróda elrendezés nem tesz lehetővé teljes háromdimenziós helymeghatározást, mert meghatározatlanul hagyja a szöveget ami alatt a sejt látszik, azonban az elektróda többlet lehetővé tette a monopólus és egyéb pontforrás közelítések pontosságának ellenőrzését.

A monopólus forrásmodell egyszerű továbbfejlesztése, a multipólus sorfejtés további tagjaival történő kiterjesztése. Ha elegendően nagy távolságból tekintünk egy véges kiterjedésű forrásra, az általa létrehozott tér tetszőlegesen jól megközelíthető a multipólus



1.1. ábra. Az alapvető áramforrás modellek szerkezete. A: Egy negatív monopólus forrás (nyelő) gömbszimmetrikus, mindenhol negatív potenciált hoz létre. B: A dipólus modell egymáshoz közeli forrás nyelő párt ír le, és kétfázisú potenciáalteret hoz létre. C: kvadrupólus modell egy központi nyelőt ír le, amelyet két szimmetrikus forrás egyenlít ki, és háromfázisú potenciáalteret hoz létre. D: Az ellenáram modell egy vonalforrást ír le, amely hengersizmetrikus potenciáalteret hoz létre. Feltételezi, hogy a vonalforrás párhuzamos az elektródával, valamint csak egy pontszerű negatív nyelő található rajta és pozitív források mindenhol máshol.

sorfejtés tagjaival. A dipólus, kvadrupólus, oktupólus stb. tagok figyelembevétele egyre bonyolultabb szerkezetűvé teszi a létrehozott elektromos teret, azonban nem változtat azon az alapfeltevésen, hogy a forrás elhanyagolható méretű az észlelési távolsághoz képest, azaz pontszerűnek tekinthető. Az akciós potenciálok elemzése során harmadrendig vizsgáljuk meg a pontforrás-modellek által létrehozott potenciáltér illeszkedését a mért térbeli potenciál mintázatokra (1.1. ábra).

#### **1.1.4. A klasszikus egydimenziós CSD módszer és a lamináris modell**

A klasszikus áramforrás sűrűség számítási módszer lényegileg a Poisson-egyenlet alkalmazása a mért potenciáeloszlásra (Nicholson és Freeman, 1975; Mitzdorf, 1985). Az 1.2. egyenlet szerint, ha ismerjük a potenciál eloszlását a térben, térbeli második derivált képzésével megkapható a források eloszlása. Ha azonban egyetlen dimenzió mentén rögzített elektromos potenciálra alkalmazzuk a módszert, kimondatlanul is erős feltevésekkel élünk. A második derivált értékeinek elhagyása a fennmaradó két irányban azt a kimondatlan feltételezést hordozza, hogy a forrás erősség nem változik ezekben a irányokban, csak a mérés irányában. A mérés általában az agykéreg rétegeire merőlegesen történik, tehát ekkor az egydimenziós CSD kiszámításával feltételezzük, hogy a rétegek aktivitása egymástól különbözhet, de a rétegeken belül állandó vagy legalábbis az elektróda rendszer méretéhez képest elegendően nagy távolsáig homogénnek tekinthető. Tehát amikor a CSD módszer látszólag megkerüli a Helmholtz-féle korlátot, valójában nem tesz mást, mint a lamináris forráseloszlás-modellt alkalmazza a mért potenciálokra és ennek segítségével teszi egyértelművé a Poisson-inverz probléma megoldását. A hagyományos egydimenziós CSD módszer tehát, elsősorban olyan jelenségek elemzésére használható, amelyek a lamináris modellel jó leírhatók. Nem találtam nyomát a szakirodalomban, hogy e modell érvényességét megvizsgálták volna az egydimenziós CSD alkalmazása előtt. Ezt a hiányt részben mérés technikai nehézségek magyarázzák, ugyanakkor a feltételezés általában kimondatlan használata is hozzájárulhatott. Ellenőrző adatok hiányában azt mondhatjuk, hogy az egydimenziós CSD módszer használata indokolt lehet olyan esetekben,



amikor feltételezhető, hogy a mért potenciálokat igen sok és jelentős felületet elfoglaló idegsejtegyüttes aktivitása hozta létre az agykéregben. Ez feltehető például az elektródás ingerléssel kiváltott helyi térpotenciálok esetében, vagy az agykérgi epileptikus aktivitás vizsgálata során.

## **1.2. Az agykérgi dinamika vizsgálata kiváltott epilepsziával**

Az agykérgi epilepszia vizsgálata több szempontból is fontos kérdés az idegrendszer kutatás számára: Egyrészt fontos mint gyógyítandó betegség, amelynek mélyebb megértése hozzájárulhat a hatékonyabb kezelés megtalálásához. Másrészt az epileptikus aktivitás tanulmányozása közelebb vihet az agykérgi körök szerkezetének megismeréséhez és ilyen módon e körök normál működését is jobban megismerhetjük. Ez utóbbi szempont különösen fontos a kiváltott epilepszia modellek esetében, hiszen itt különböző vegyi anyagok segítségével többé-kevésbé ismert módon avatkozunk be a rendszer működésébe.

Két típusú kísérlet eredményeit vizsgáltam a modell alapú elemzés megközelítésével. Az *in vivo* vizsgálatok során elsősorban a jelek időbeli szerkezetére figyelve készült az elemzés, míg az *in vitro* mérések a jelek térbeli eloszlásának vizsgálatát is lehetővé tették. Ennek megfelelően különböznek az elemzés során alkalmazott matematikai eszközök: az időbeli jeleket wavelet-transzformációval és fázistér rekonstrukcióval, míg a térbeli eloszlásokat a CSD elemzés módszerével vizsgáltam. Hasonló módon különböznek az alkalmazott modellek is: az időbeli folyamatok leírására dinamikai modelleket, míg a térbeli CSD eloszlások leírására az időfejlődést le nem író, pillanatnyi, lamináris forráseloszlás modellt alkalmaztam.

### **1.2.1. Lassú változások a 4-aminopiridinnel kiváltott epileptikus rohamok során: elemzés és modell**

Az epilepszia gyakori témája az agykérgi hálózatok modellezésére épülő kutatásnak (Destexhe és Babloyantz, 1991; Mehta és mtsai, 1996). Az epileptikus rohamot gyakran egy hibás paraméter tartományba keveredett hálózat stabil dinamikai állapotának tekintik. Lényegesen kevesebb modellezési munka foglalkozik a rohamok elindulásának, illetve befejeződésének kérdésével (Bragin és mtsai, 1997). Még ennél is kevesebb figyelem esik az epilepsziás roham során a rendszer viselkedésében bekövetkező változásokra, a roham belső dinamikájára. Mint azt korábbi munkák, illetve saját elemzéseim is mutatták, túl az epilepsziás kisülések  $3 - 20 \text{ Hz}$  frekvenciájú oszcillációin a 4-aminopiridin (4-AP) által kiváltott rohamnak jellegzetes lassú dinamikai szerkezete is van. A gyors oszcilláció jellegzetességei jelentősen megváltoznak a roham során,  $5 - 10$  másodperces időléptékben. Munkám célja, e lassú dinamikai változások vizsgálata és jobb megértése volt, a matematikai analízis és a neuronhálózatok modellezésének eszközeivel.

Az *in vivo* kiváltott rohamok analízise során kétféle matematikai technikát alkalmaztam: Egyrészt wavelet transzformációt, melynek segítségével hatékonyan vizsgálhatók a mért elektro-kortikogramm frekvencia spektrumának időbeli változásai. Másrészt a rendszer attraktorának rekonstrukcióját a roham különböző fázisaiban, amellyel a mért EKG-ot létrehozó dinamikai rendszer viselkedését jellemző struktúrának, a rendszer attraktorának szerkezeti változásait vizsgáltam a roham során.

Egyszerű neuronhálózati modellel szimulációkat végeztem, melyekkel azt vizsgáltam, hogy milyen folyamatok hozhatták létre a megfigyelt és az elemzés során feltárt jelenségeket. A reprodukálható dinamikus jelenségek természetesen igényelték a dinamikus modell alkalmazását a jelenségek leírására. A dolgozatomnak ez a része klasszikus modellezési munkának tekinthető. Az ilyen típusú kutatás nem illeszkedik jól, a publikációk kísérleti kutatás által meghatározott Módszerek-Eredmények-Megbeszélés szerkezetébe. Ha a számítógépes szimulációkat önmagukban tekintjük, akkor a publikációt hasonló mó-

don oszthatjuk fel, mint egy kísérletes munka összefoglalóját: az elvégzett munka azaz a modell leírása a Módszerek közé kerülhet, a szimulációk eredményei alkotják az Eredmények fejezetet, a mérésekkel való összevetés pedig a Megbeszélést. A modellezési munkák tárgyalása ebben a felosztásban szokásos, azonban félreértésekhez vezethet, hiszen így az Eredmények fejezetbe pusztán olyan jelenségek szimulációi kerülnek, amelyekről már mérési adat is rendelkezésre áll. Az ilyen típusú félreértések elkerülhetőek, ha szem előtt tartjuk a kutatás valódi logikai szerkezetét, mindenekelőtt azt, hogy itt a kutatás fő eredménye a modell maga, a kutatás folyamata a modell felépítésének folyamata, a szimulációk, illetve azok eredményeinek összevetése a megfigyelt jelenségekkel pedig a modell igazolására szolgálnak. Ezért e munka tárgyalásakor a modell leírását, mint a kutatás fő eredményét az Eredmények között írom le, csakúgy, mint a modell működését bemutató szimulációkat. A mérések és a szimulációk összehasonlítása természetesen továbbra is a Megbeszélés része.

### **1.2.2. Az áramforrás-sűrűségeloszlás vizsgálata kiváltott epileptikus kisülések során *in vitro* kortikális szeletben**

Az *in vitro* vizsgálat során három különböző típusú görcskeltőt használtak, melyek eltérő módon fejtik ki hatásukat az agykéregben és így a kialakult szinkronizált görcsaktevitás jellemzői is eltérőek lesznek. E három kísérletes epliepszia modellben a következő anyagokat alkalmazták az epileptikus aktivitás kiváltására: 4-aminopiridin-t (4-AP), bikukulin-t (BMI) és  $Mg^{2+}$  mentes tápoldatot (MFR).

A 4-aminopiridin maga is többféle módon járul hozzá az epileptikus aktivitás kialakulásához. Egyrészt  $K^+$  csatornák blokkolásával növeli a sejtek ingerlékenységét, másrészt a  $Ca^{2+}$  ionok mint sejten belüli ingerület átvivő anyagok hatékonyságának növelésével növeli mind a serkentő, mind a gátló szinapszisok hatékonyságát (Fragoso-Veloz és mtsai, 1990).

A bikukulin szelektíven blokkolja  $GABA_A$  csatornákat, így csökkentve a szinaptikus

gátlás erejét agykéregben (Chagnac-Amitai és Connors, 1989). Ez természetesen a serkentés és a gátlás arányának felborulásához vezet, ami általában az epilepsziás állapot alapvető jellemzője.

A  $Mg^{2+}$  mentes oldatban tartott idegsejtek szinapszisainak NMDA típusú glutamát csatornái felszabadulnak a csatornát eltorlaszolva tartó  $Mg^{2+}$  ionok blokádja alól. Ezzel megszűnik az NMDA csatornák feszültségfüggése és előzetes depolarizáció hiányában is igen nagy szinaptikus áramot engednek át glutamát hatására (Valenzuela és Benardo, 1995).

A kialakult epileptikus aktivitás rétegenkénti eloszlását két módszerrel vizsgáltuk meg. A kisülések mikroelektroda-rendszerrel rögzített téridőbeli potenciál mintázatát a mérés geometriájának megfelelően hagyományos egydimenziós áramforrás-sűrűségeloszlás, azaz CSD számítással alakítottam át, ami a lamináris modell alkalmazását jelenti a forráseloszlásra. Mivel a potenciálnak csak az alacsony frekvenciás komponenseit vizsgáltuk, a kialakult CSD kép elsősorban a szinaptikus aktivitás rétegenkénti eloszlását jellemzi. A használt időfelbontás nem tette lehetővé, a korábban tárgyalt egysejt-CSD módszer alkalmazását.

A sejtmembrán depolarizációja, egyes neurotranszmitterek, illetve növekedési faktorok aktiválják a sejten belüli másodlagos hírvivő rendszereket, amely a  $Ca^{2+}$ -ionok koncentrációjának vagy a cAMP (ciklikus adenzin monofoszfát) szintjének hirtelen növekedését eredményezi a citoplazmában. Ezek a másodlagos hírvivő rendszerek okozhatják az azonnali-korai gének (immediate-early genes, IEGs) kifejeződését, például a c-fos és a c-jun génekét (Herdegen és Leah, 1998). Ezeknek a géneknek a fehérje termékei igen gyorsan, általában a kifejeződést elindító inger után 20 perccel megjelennek az idegsejtek citoplazmájában. Az epileptikus roham során a sejteket érő erős ingerlés olyan hatás, amelyik kiváltja a c-Fos gén gyors kifejeződését, ezért alkalmas eszköz lehet annak vizsgálatában, hogy az egyes neuronális alpopulációk milyen mértékben vesznek részt az epileptikus rohamban (Herdegen és mtsai, 1993; Morgan és Curran, 1991).

## 1.3. Véletlen Boole-hálózatok állapotciklusainak vizsgálata

A természetben számos olyan komplex hálózatot találunk, amelyek bonyolultsága lehetlenné teszi, hogy működésüket analitikus eszközökkel leírjuk. A legfontosabb és legszebb példákat az élet gazdagon kavargó világa nyújtja: Erre példa az élőlények kölcsönhatásából kialakuló hálózat a bioszférában, melyet gyakran és leegyszerűsítve táplálékláncnak neveznek ugyanakkor szerkezete lényegesen bonyolultabb mint egy egyszerű lánc. Vethetjük példaként egy élőlény vagy akár egyetlen sejt metabolikus hálózatát, amely az élet folyamatában résztvevő és egymásba alakuló kémiai anyagok hálózata. De választhatjuk akár az egymással fehérje termékeiken keresztül kölcsönható gének hálózatát egy sejtben, amelyek dinamikus módon határozzák meg az adott sejt szerepét és működését a szervezetben, vagy az egymást serkentő és gátló idegsejtek hálózatát az idegszövetben, amely hasonló módon határozza meg az élőlény viselkedését. Végül tekinthetjük a társadalmakat, melyeket az őket felépítő egyedek és kapcsolataik alkotnak.

E széles panorámából két hálózatot vetünk most alá részletesebb vizsgálatnak: az egymással kölcsönható gének hálózatát és az idegrendszert. Mindkét hálózat az érdeklődés középpontjában áll a modern tudományban, közelebbről a biológiában, ugyanakkor mindkettő annyira bonyolult, hogy működésük analitikus leírása szinte reménytelen feladatnak látszik. Vizsgáljuk meg közelebből e két hálózat szerkezetét és dinamikáját!

Egy élőlény genetikai hálózatának csomópontjait az egyes gének, a kifejeződésüket befolyásoló promóter régióikkal együtt alkotják. Dinamikai szempontból a géneket aktivitásuk jellemzi, azaz expressziójuk sebessége ami arányos az expresszióra alkalmas, azaz aktív állapotban találhatóságuk valószínűségével. A sztochasztikus reakciókinetika általános törvényszerűségeinek megfelelően egy gén aktív állapotban létének a valószínűsége szigmoid jellegű függvénye minden olyan anyag koncentrációjának, amelyik befolyásolja az expresszió sebességét (Érdi és Tóth, 1989). Ez az erősen nemlineáris viselkedés az alapja annak a hagyományos terminológiának, amely szerint egy gén kikapcsolt, illetve

bekapcsolt állapotban van, illetve hogy a promóter régióhoz kötődő fehérjék ki, illetve bekapcsolják az adott gént. A csomópontok közötti kapcsolatokat azon gének fehérje termékei teremtik meg, melyek más gének promóter régióihoz kötődve befolyásolják azok aktivitását. Ilyen módon az egyik gén aktivitása befolyásolja egy vagy több gén (esetleg önmaga) aktivitását, ugyanakkor a legtöbb gén aktivitását szintén több gén befolyásolja.

Míg a gének hálózatában nem volt magától értetődő, hogy hogyan definiálhatjuk a hálózat csomópontjait és éleit, második példánkban az idegrendszerben ez egyértelmű. A hálózat csomópontjai az idegsejtek és közöttük a kapcsolatokat a szinapszisok jelentik. Az aktív állapotnak a tüzelés felel meg amely befolyásolja a többi idegsejt (esetleg önmaga) aktivitását.

E két hálózat szinte minden részletében különbözik, azonban mégis található néhány közös, illetve hasonló alapelv hálózati szerveződésükben és dinamikai viselkedésükben: A hálózatokat felépítő elemek mindkét esetben erős nemlinearitást mutatnak, amely viszonylag könnyen beilleszthető a kétállapotúság sémájába, aktív-csendes, tüzel-nem tüzel. Az elemek közti kölcsönhatások irányítottak, függenek a küldő csomópont aktivitásától és pozitív vagy negatív módon befolyásolják a célelem aktivitását. Míg e hálózatok minden egyes csomópontjának és minden egyes kapcsolatának viselkedését viszonylag egyszerű szabályszerűségek jellemzik, a hálózatok igazi bonyolultsága a kapcsolatok nagy számában és a kapcsolatrendszer bonyolultságában rejlik. E hálózatok szerkezetének kialakításában nagyon sok, részben ismeretlen hatás játszik szerepet. E kapcsolatrendszerek alapvető tárgyai voltak az evolúciónak, szerkezetüket évmilliók alakították, bennük bizonyosan fellelhetők e hosszú fejlődés sok-sok lépcsőjének nyomai. Az evolúciós fejlődéstől nem függetlenül, annak részeként, ugyanakkor az egyed számára – legyen az akár egy sejt akár egy élőlény – meghatározóan fontos szerepet játszanak a környezeti hatások és ezzel együtt a véletlen is. A magasabb rendű állatok agyában az egyedfejlődés során a kapcsolatok kialakulásában több ponton is szóhoz jut a véletlen. A kapcsolatrendszereket a genetikusan kódolt tényezők csak nagy vonalakban határozzák meg, már a sejtek közötti első kapcsolatok kialakulása is számos geometriai véletlenül múlik. Később a

kapcsolatok túlélése és megerősödése alapvetően a környezetből érkező ingereken múlik, annak minden esetlegességével együtt. A genetikai hálózatban a véletlen forrásai elsősorban a minden sejtben jelenlévő mutációk, de a transzpozonok vagy a beépülő virális DNS láncok is egyedivé tesznek minden egyes sejtet. Evolúciós időskálán a környezeti hatások az egyedek túlélésén keresztül valószínűségi alapokon válogatnak a hálózatok között. Bár e hálózatok felépülésében belső törvényszerűségek és ezzel együtt szabályszerűségek is működnek, ezek az elvek részben nem ismertek, illetve nem elegendők a hálózat teljes leírására hiszen a szerkezet kialakításában mindenképpen szerepet kap a véletlen is.

Ha a kapcsolat struktúrák kialakításában résztvevő elveket, illetve hatásokat nem ismerjük vagy ismerhetjük teljes egészében, a működésük eredményeképpen kialakult hálózat-szerkezetet megvizsgálhatjuk és számos jellemzőjét leírhatjuk. Fontos hálózatszerkezeti jellemző a kapcsolatok nemlokális tulajdonsága: két kiválasztott csomópont között a kapcsolat meglétének valószínűsége, illetve erőssége átlagosan nem írható le a két csomópont közötti távolság függvényeként. Ugyanakkor a csomópontok fokszáma még az agykéreg esetében is elhanyagolható a hálózat méretéhez képest, ami az átlagtér közelítések használatát nehezíti meg. Az ilyen jellegű hálózatok általános modelljeként vezette be Kauffman (1969) a véletlen Boole-hálózatokat. A véletlen Boole-hálózatok olyan matematikai modellrendszerek, amelyeken a hálózatszerkezet és a hálózati dinamika általános összefüggési tanulmányozhatóak. Statisztikus törvényszerűségek állapíthatóak meg akkor is, ha a hálózat szerkezetéből csak egy-egy paraméter ismert, mint például a csomópontok átlagos kapcsolatszám, és útmutatással szolgálnak arra nézve, hogy mire lehet képes egy adott szerkezetű hálózat.

A véletlen Boole-hálózatokat számos komplex nemlineáris rendszer elméleti modelljeként felhasználták. A genetikai hálózatokon kívül, mint a prebiotikus katalizátorok kölcsönható rendszerének, vagy csatolt koevolúciós rendszerek leírásaként (Kauffman, 1989). Neurális hálózatok viselkedésének leírására Derrida és Mtsai (1987) valamint Kürten (1988a) alkalmazták. Megmutatták, hogy szoros kapcsolat van a véletlen Boole-hálózatok és az asszociatív memória jól ismert modellje, a Hopfield-hálózatok dinamikája

között. A modellben megfigyelt jelenségek, illetve az elemzésére használt matematikai apparátus a statisztikus fizika klasszikus modelljeihez köthető, mint az Ising-modell, illetve a perkoláció jelensége (Schulman és Seiden, 1986; Derrida, 1987a; Stauffer, 1987). E statisztikus fizikai vizsgálatok elsősorban a modellben megjelenő fázisátalakulást elemezték (Luque és Solè, 1997; Kürten, 1988b; Derrida, 1987a).

Az eredeti modellt azóta több irányba kiterjesztették: bevezették a véletlen differenciálegyenlet-rendszerek modelljét (Glass és Hill, 1998) és az inhomogén Kauffman modellt (Kürten és Beer, 1997). Ugyancsak vizsgálták a rendezett szerkezetű véletlen Boole automatákat is (Atlan, 1987; Fogelman Soulie és mtsai, 1987).

Az első tanulmányok a trajektóriák és elsősorban az állapotciklusok statisztikai tulajdonságait vizsgálták, szinte kizárólag a numerikus szimulációk módszerével (Kauffman, 1984). A jelenség, amely felkeltette a fizikusok figyelmét az volt, hogy ciklusok hosszában fázisátalakulást találtak a kapcsoltság függvényében. A kritikus kapcsoltságra a csomópontonkénti  $K = 2$  átlagos kapcsolatszám adódott. Ha az átlagos kapcsoltság ez alatt van, a rendszer fagyott fázisban van. A fagyott fázisban a rendszerre a stabilitás jellemző. Egy rövid kezdeti szakaszt leszámítva, a legtöbb csomópont állapota változatlan marad a szimulációs idő során. Az állapotciklusok rövidek és a hálózat méretének növelésével hosszuk alig nő. Az autonóm dinamika kicsiny megzavarása, például egy csomópont állapotának megváltozása várhatóan igen kicsiny vagy semmilyen változást nem okoz a dinamikában, a rendszer várhatóan visszatalál abba az állapotciklusba, amelyben a zavar előtt volt, a zavar által okozott lavina kicsi és gyorsan elhal (Luque és Solè, 1997; Stauffer, 1987).

A kritikus érték fölött a rendszer a kaotikus fázisban található. A káosz fogalmát olyan folytonos dinamikai rendszerekre vezették be, amelyek determinisztikus ugyanakkor aperiodikus viselkedést mutatnak. Lévén a véletlen Boole-hálózatok diszkrét és véges állapotterű determinisztikus dinamikai rendszerek, valódi káoszról nem beszélhetünk, elegendően hosszú idő után a rendszer feltétlenül periodikus viselkedést mutat. A folytonos káosszal vont analógia azonban igen jól jellemzi a rendszer viselkedését eb-



ben a fázisban. A kaotikus fázisban az állapotciklusok hosszának várhatóértéke a hálózat méretével azaz a csomópontok számának növelésével exponenciálisan nő. Ez a növekedés olyan gyors, hogy nem túl nagy hálózatok esetében is gyorsan csillagászati számokat érhet el. Egy 150 csomópontból álló hálózat állapotciklusának várható hossza  $10^{23}$  lépés nagyságrendjébe esik. Ez a szám olyan nagy, hogy ha feltesszük, hogy a hálózat minden milliszekundumban megtesz egy lépést, akkor a világegyetem 15 milliárd évre becsült története nem lett volna elég, hogy hálózatunk bejárja egy átlagos állapotciklusát. A trajektória, amit a rendszer bejár tehát, elvileg periodikus, gyakorlatilag azonban az aperiodikus kaotikus trajektóriákhoz igen hasonló. De nem ez az egyetlen hasonlóság a valódi kaotikus rendszerek és a Boole-hálózatok kaotikus tartománya között. A folytonos kaotikus rendszerek fontos tulajdonsága trajektóriáinak instabilitása, bármilyen kicsiny zavar hatására gyökeresen megváltozik a dinamika, a megzavart és az eredeti pálya egymástól gyorsan távolodik. Ez az a tulajdonság, amely az elkerülhetetlen mérési hibákkal együtt hosszútávon megjósolhatatlanná teszi a kaotikus rendszerek viselkedését. A kicsiny zavar a véletlen Boole-hálózatok diszkrét állapotterében, legalább egy csomópont állapotának megváltozását jelenti. Ellentétben a fagyott fázissal, a kaotikus fázisban a kicsiny zavar által okozott lavina általában a hálózat méretével összemérhetővé fejlődik és a hálózat igen kicsi eséllyel talál vissza ugyanabba az állapotciklusba (Luque és Solè, 1997; Stauffer, 1987).

A két fázis határán a rendszer kritikus állapotban van. A kicsiny változások hatására létrejött lavinák ugyan lecsengenek, de lecsengésük lényegesen több időt vesz igénybe, méreteloszlásuk pedig hatványfüggvény szerű lecsengést mutat (Kauffman, 1984). E jelenséget folyadék fázisnak is nevezték, mely a stabil szilárd, illetve a kaotikus gáznemű állapot között foglal helyet. A folyadékfázisban a rendszer reakciója egy kicsiny zavarra - ellentétben a szilárd és a kaotikus állapotokkal - sokféle lehet, kicsi és nagy válasz is előfordul véges valószínűséggel. Ez a tulajdonság tehetné vonzóvá a folyadékfázist, a káosz határát, mint prebiotikus, illetve élő rendszerek hálózatainak alapállapotát. A káosz határán a rendszer képes reagálni (amire a befagyott rendszer nem), ugyanakkor megőrizni

a stabilitását (amire a kaotikus rendszer nem). Egyszerű játékelméleti modellekben megmutatták, hogy e kritikus állapot bizonyos esetekben valóban optimális, és pre-evolúciós előnyt jelent a rendszer számára. A pre-evolúciós előny itt olyan tulajdonságokat jelent, amelyek szükségesek ahhoz, hogy a rendszer sikeresen kapcsolódjon be az evolúció folyamatába, azaz a stabilitás és egyben a változás képességét. A stabilitás és a változás képességének egyensúlya az idegrendszer számára is alapvető fontosságú, ahhoz hogy megfelelő válaszokat tudjon adni az ingerekre. Az élő rendszer folyamatait irányítani sem egy olyan idegrendszer nem lenne képes, amelyik bármiféle ingerre egyformán kicsiny reakciót mutat, sem egy olyan, amelyik bármilyen kicsiny behatásra teljesen más állapotba kerül. A káosz határa, a kritikus állapot biztosítja a lehetséges válaszok széles mérettartományát.

Az alapvető kérdés, amely felkeltette a fizikusok érdeklődését így a hálózat szerkezet és dinamikai tulajdonságok között meglévő kapcsolat lett. E kapcsolatot és ezzel együtt a hálózat dinamikájának jellemzőit először természetesen numerikus szimulációkkal vizsgálták. Leírták a rendszer attraktorainak számának és hosszának eloszlását és stabilitását (Kauffman, 1984), az attraktorok vonzási tartományának szerkezetét, mint a különböző mélységű völgyek rendszerét (Stauffer, 1987; Derrida, 1987b) és egy kicsiny zavar által kiváltott lavinák multifraktális tulajdonságát (Jan, 1988).

A numerikus szimulációkat követték az analitikus munkák, ezek hatóköre azonban mind a mai napig korlátozott. Egyrészt Derrida és Flyvbjerg (1987) megmutatták, hogy Harris (1960) eredményei a véletlen leképzésekről jó közelítést adnak magas kapcsoltságú esetben és termodinamikai határesetben, amikor a rendszer mérete minden határon túl nő. Másrészt Flyvbjerg és Kjær (1988) egzakt eredményeket bizonyított a legkisebb kapcsoltságú esetben, amikor minden egyes függvénynek csupán egyetlen bemenete van. E két szélsőséges eset között Derrida és Pomeau (1986) közelítése nyújt némi bepillantást a rendszer dinamikájába, közelítő megoldást adtak két véletlenszerűen választott állapot-térbeli pálya távolságának időfejlődésére, amelyben minőségi különbség mutatható ki a fagyott, illetve a kaotikus fázis között és két fázis határát jelentő kritikus kapcsolttság

meghatározható:  $K_c = 2$ . Ez az érték jól egyezett a numerikus szimulációk eredményeivel és később egzakt eredménynek bizonyult termodinamikai hatásértékben, bizonyos időkorláton belül (Hilhorst és Nijmeijer, 1987). A számos tanulmány ellenére, ami e témában született, mind ez ideig nem készült olyan analitikus munka amely a két szélső érték kivételével kielégítő közelítést adna az elsőként vizsgált mennyiségek, az állapotciklus hosszának, illetve a tranziens szakasz hosszának eloszlására.

Munkám fő célja ezért az volt, hogy olyan analitikus leírást adjak a véletlen Boole-hálózatok dinamikájáról, amely alapján a hálózat szerkezet és dinamika közötti összefüggés és a fázisátalakulás jelensége megérthető, valamint, hogy ez alapján analitikus közelítéseket adjak az attraktorok hosszának, illetve a tranziens szakaszok hosszának eloszlására véges rendszer méret és bármilyen kapcsoltság mellett.

## 2. fejezet

### Célkitűzések

Egy kutatás célkitűzései többféle szinten megfogalmazhatóak, a legáltalánosabbtól a legspecifikusabbakig, hiszen az agykutatásnak legáltalánosabb célja az agy működésének megértése, ugyanakkor minden egyes részeredmény, a dolgozat minden egyes ábrája felel egy kérdésre, teljesít egy célkitűzést. Ezért munkám célkitűzéseit általánosabb és specifikusabb módon is megfogalmazom.

Az akciós potenciálok modell alapú elemzése során a kitűzött általános cél megtalálni a tüzelő idegsejtnak, mint térben eloszló áramforrásnak egy olyan modelljét, amely biztosítja, hogy a mikroelektróda-rendszerekkel mért potenciál mintázatok alapján az idegsejt membránján folyó áramforrás-eloszlás meghatározható legyen. Más szavakkal megalkotni azt a modellt, amely jól illeszkedik az idegsejtek tulajdonságaihoz és a mért adatokhoz, ugyanakkor elegendően leszűkíti a lehetséges megoldások terét ahhoz, hogy a Poisson-egyenlet inverz feladatának megoldása egyértelmű legyen. Ismét másképpen fogalmazva céлом egy új, egysejt-CSD módszer megalkotása volt.

A specifikus célok ezen belül:

Megvizsgálni, hogy a monopólus közelítés megfelelően írja-e le a mért térbeli potenciálmintázatokat.

Megvizsgálni, hogy a kvadrupólus, illetve az általános harmadrendű pontforrás modell megfelelő leírását adja-e a mért térbeli potenciál mintázatoknak.

Felépíteni, egy a mért adatokhoz jobban illeszkedő modellt.

A felépített ellenáram modell érvényességi tartományát szimulált adatokon meghatározni.

Megvizsgálni, hogy az ellenáram modell paraméterei, azaz a sejt-elektroda távolság és a sejten mérhető térbeli áramforrás sűrűség eloszlás meghatározható-e a mért potenciálmintázatok alapján.

A modell illesztésével meghatározni az észlelt sejtek membránáram eloszlását.

Megvizsgálni a meghatározott membránáram eloszlás távolságfüggését a dendritfák mentén és meghatározni a dendritfa elektromos lecsengési állandóját.

Az agykérgi dinamika kiváltott epilepsziás vizsgálata során az általános cél az agykérgi lokális neuronhálózatok dinamikájának megismerése a különböző görcskeltő anyag hatására létrejött epileptikus aktivitás elemzése által.

A specifikus célok ezen belül:

A 4-aminopiridin *in vivo* alkalmazása során létrejött epileptikus rohamok spektrumának vizsgálata a rohamok különböző szakaszaiban.

A rendszer dinamikáját jellemző attraktorok szerkezetében megjelenő változások vizsgálata a roham különböző szakaszaiban.

A megfigyelt változások mögött meghúzó dinamikai rendszer egy modelljének megalkotása, és ezen keresztül a roham szerkezetét alakító elvek meghatározása.

Meghatározni, hogy a modell rendszer által létrehozott rohamok jellegzetességei hogyan függenek a sejtek között meglévő serkentő és gátló kapcsolatok erősségétől.

*In vitro* agykérgi szeletben, három különböző görcskeltő anyag hatására létrejött epileptikus aktivitás során az áramforrás rétegeloszlás, azaz a CSD mintázatok jellegzetességeinek és különbségeinek meghatározása az agykéreg különböző rétegeiben.

Az észlelt rétegenkénti CSD eloszlások összehasonlítása a c-Fos génexpresszió rétegenkénti eloszlásával.

A véletlen Boole-hálózatok elemzésének célja, hogy olyan analitikus leírást adjak a véletlen Boole-hálózatok dinamikájáról, amely alapján a hálózat szerkezete és dinami-

kája közötti összefüggés és a dinamikában észlelt fázisátalakulás jelensége megérthető valamint, hogy ez alapján analitikus közelítéseket adjak a hálózat dinamikájának főbb jellemzőire.

A specifikus célok ezen belül:

A hálózat lépéshosszváltozásainak leírása a kapcsolatsűrűség függvényében.

A fázistér összehúzódásának leírása a lépéshosszváltozás függvényében.

Az önelkerülő bolyongás hosszeloszlásának és várható értékének meghatározása az összehúzódó fázistérben.

Az állapotciklus hosszeloszlásának és várható értékének meghatározása az összehúzódó fázistérben.

## 3. fejezet

# Módszerek

### 3.1. Idegsejtek tüzeléseinek modell alapú analízise

#### 3.1.1. Egyedi idegsejtek akciós potenciáljainak *in vivo* mérése

Az idegsejtek elektromos jeleit macska elsődleges hallókérgébe ültetett 16 csatornás mikroelektroda-rendszerrel mérte Dr. Ulbert István az MTA Pszichológiai Intézetében. A beültetés pentobarbitállal altatott ( $40\text{ mg/kg}$  i.p.) állatba történt, a felvételek azonban már éber állapotban készültek. A 16 mérési pont az agyfelszínre merőleges vonalban helyezkedett el. Az első csatorna  $400\ \mu\text{m}$  távolságban a felszíntől, a II-es és III-as réteg határának közelében volt, míg a további mérési pontok  $100$  mikrononként követték egymást,  $1900\ \mu\text{m}$  agykérgi mélységig a VI-os réteg határának közelébe. Az elektróda egyaránt mért spontán és hangingerrel kiváltott jeleket. A mért jelek az előerősítés után egy szélessávú sávszűrőn haladtak át, melynek alsó határfrekvenciája  $300\ \text{Hz}$  míg felső határfrekvenciája  $5\ \text{kHz}$  volt. A szűrt jeleket  $20\ \text{kHz}$  frekvenciával mintavételezték és  $12\ \text{bit}$  pontossággal alakították digitális jelekké, melyeket a számítógépen eltároltak. A mérőrendszer részletes leírása megjelent Ulbert és mtsai (2001) közleményében. Az akciós potenciálokat a Spike-O-Matic nevű szabadon hozzáférhető programmal gyűjtöttem össze és osztályoztam (Pouzat és mtsai, 2002). Az osztályozó program a jelalakok hasonlós-

sága alapján 16 osztályba gyűjtötte össze az akciós potenciálokat. A jelalakok vizsgálata alapján 2 osztály több sejt jeleinek összegének, egy jel osztály pedig egy alacsony amplitúdójú akciós potenciál és egy lassabb potenciál hullám összegének bizonyult. E a három osztályt elhagytam a további elemzések során. A megmaradt 13 jelosztály jeleit minden csatornán minden időpillanatban átlagoltam, ilyen módon előállt az a 13 téridőbeli potenciálmintázat, amely a további elemzések alapját képezte.

Minden, a kísérleti állatokat érintő munkát az SFN ajánlásival összhangban az MTA Pszichológiai Intézet Etikai Bizottságának engedélye alapján végezték.

### **3.1.2. Az akciós potenciál számítógépes szimulációja**

#### **sokrekeszes ioncsatorna-vezetőképesség alapú modellel**

Az akciós potenciál megjelenését egy egyszerűsített morfológiájú, 264 rekeszből felépített idegsejt modellen tanulmányoztuk Zalányi László kollégámmal. A láncszerűen összekapcsolt rekeszek mindegyike  $5\ \mu\text{m}$  hosszú volt. Az ekvipotenciálisnak tekintett rekeszek membránpotenciáljának alakulását a Hodgkin-Huxley formalizmust követő csatolt differenciálegyenlet-rendszerrel írtuk le. A differenciálegyenlet-rendszer felírását és integrálását a Neuron programcsomaggal végeztük (Hines, 1989), amely egy szabadon hozzáférhető, magas szintű, objektum orientált programozási környezet idegsejtek és azok hálózatainak számítógépes szimulációjához. Az ioncsatornák kapuváltozóinak kinetikai paramétereit Mainen és Sejnowski (1996) cikke alapján állítottuk be. A csatornák felzíni sűrűségénél is a fenti cikket vettük alapul, azonban a nátrium és kálium csatornák sűrűségét jelenősen lecsökkentettük a sejtesten és az axonon hogy a sejt által létrehozott akciós potenciál nagysága a sejten kívüli térben, illetve folyadékban megfeleljen a mért amplitúdóknak. Az egyes ioncsatorna típusok által elérhető legnagyobb vezetőképesség értékeit az 3.1. táblázat tartalmazza. Az akciós potenciált a sejtestbe vezetett depolarizáló árammal váltottuk ki, melynek időbeli lefutását egy alfa függvény írta le:



Sejtrészek	Axon	Sejttest	Dendrit
Hossz [ $\mu m$ ]	400	20	900
Átmérő [ $\mu m$ ]	1	20	6
$C_m$ [ $\mu F/cm^2$ ]	1	1	1
$R_a$ [ $\Omega cm$ ]	150	150	150
$g_l$ [ $S/cm^2$ ]	3e-5	3e-5	3e-5
$g_{Na}$ [ $pS/\mu m^2$ ]	1500	20	20
$g_{Kv}$ [ $pS/\mu m^2$ ]	100	200	0
$g_{Km}$ [ $pS/\mu m^2$ ]	0	0.1	0.1
$g_{KCa}$ [ $pS/\mu m^2$ ]	0	3	3
$g_{Ca}$ [ $pS/\mu m^2$ ]	0	0.3	0.3
$V_e$ [ $mV$ ]	-70	-70	-70

3.1. táblázat. A szimulált idegsejt modell paraméterei.

$$I(t) = I_{max} \frac{t}{\alpha} e^{-\frac{t}{\alpha}} \quad (3.1)$$

Ahol  $\alpha = 1 \text{ ms}$ -os időállandót használtunk. A befecskendezett áram nagyságát úgy állítottuk be, hogy kicsivel haladja meg az akciós potenciál kiváltásához feltétlenül szükséges küszöb értéket, így a sejten létrejött téridőbeli árameloszlás kevéssé a kiváltó áramokat, inkább az akciós potenciál belső dinamikáját tükrözze.

A akciós potenciál szimulációja során a membránpotenciál és az egyes csatornák vezetőképességének pillanatnyi értékéből minden egyes rekesz esetében kiszámoltuk a membránon áthaladó összes áramot ( $I_m^j$ ), majd ez alapján, a Green-függvény módszer követve meghatároztuk a teljes sejt által keltett elektromos potenciáletteret, mint az egyes szakaszok által keltett terek összegét:

$$V_{EC}(x) = \frac{1}{4\pi\epsilon\sigma} \sum_{j=1}^n \frac{I_m^j}{\sqrt{(x_j - x)^2 + d_j^2}} \quad (3.2)$$

Ahol minden egyes rekeszt pontszerű áramforrásnak tekintettünk. Feltételeztük, hogy az elektróda az  $x$  koordináta mentén fekszik és itt méri a  $V_{EC}(x)$  egy dimenziós potenciál eloszlást.  $x_j$  jelöli a  $j$ -edik rekesz  $x$  tengely menti pozícióját,  $d_j$  az  $x$  tengelytől mért

távolságát. Az összegzés pedig végigfut a sejt összes rekeszén ( $n$ ). A sejtek közötti teret homogén és izotrop közegnek tekintettük, melynek vezetőképessége  $1/300 S/cm$  (Varona és mtsai, 2000). A sejtek közötti tér dielektromos tulajdonságait frekvenciafüggetlennek tekintettük, az elektromos jel forrás és elektróda közötti terjedéséhez szükséges időt pedig elhanyagolhatónak. Ezek alapján kiszámítottuk az elektromos teret a sejttel párhuzamos egyenes mentén, 10-től 200  $\mu m$  távolságra a sejttől, 5  $\mu m$ -es lépésekben és eltároltuk 40  $kHz$  mintavételezési frekvenciával.

### **3.1.3. A pontforrás modellek és az ellenáram modell illesztése a mért és a szimulált adatra**

A rögzített és osztályozott akciós potenciálok osztályátalagaiból csak a legnagyobb abszolút potenciál időpillanatában mért térbeli potenciál eloszlást tettem a modell illesztés alapjává, mivel a legnagyobb amplitúdó biztosította a legnagyobb jel/zaj arányt. A legnagyobb abszolút potenciál minden esetben negatív volt, ezért illesztés előtt  $-1$ -re normaltam a mért térbeli potenciál mintázatokat (TPM), Ezt a szabályt követve, szintén  $-1$ -re normaltam a szimuláció eredményeképpen kapott TPM-okat is.

A modellek illesztése tulajdonképpen egy hibafüggvény minimumának a meghatározása az általában sokdimenziós paraméterterben. A hibafüggvény minden esetben az illesztendő modell által létrehozott TPM és a mért vagy szimulált TPM euklideszi távolsága volt. Mivel az illesztendő modellek és a hibafüggvények a távolság paraméter nemlineáris függvényei voltak, illesztésüket analitikusan elvégezni nem lehetett, a hibafüggvények minimum helyeit numerikus szélsőérték kereső algoritmusokkal határoztam meg. A szimulált adatokra illesztés alapján a kvázi-Newton algoritmus jobb eredményeket adott, mint a konjugált gradiens módszer, így az értekezésemben bemutatott eredmények kvázi-Newton módszerrel készültek. A modellek illesztésére és minden egyéb numerikus elemzésre a Scilab szabadon hozzáférhető tudományos programcsomagot használtam (Gomez, 1999).

A mért TPM-ok vizsgálatára háromféle pontforrás modellt használtam: monopólus, kvadrupólus és általános harmadfokú pontforrásmodellt. A dipólus modell természetesen módon azonos nagyságrendű pozitív és negatív potenciálcúcsot hoz létre, ezért a mért adatok tulajdonságaihoz önmagában nem illeszkedett jól.

Az illesztett monopólus modell a következő volt:

$$V_{EC}^m(x) = \frac{I^m}{4\pi\epsilon\sigma((x_0 - x)^2 + d_0^2)^{1/2}} \quad (3.3)$$

Ennek szabad paraméterei, melyeket a mért adathoz illesztve meghatároztam: a forrás erőssége  $I^m$ , a forrás helyzete az elektróda mentén  $x_0$  és a forrás távolsága az elektróda egyenesétől  $d_0$ . A numerikus minimum kereső algoritmus egy kezdeti értéktől indulva lépésenként közelíti meg a hibafüggvény helyi minimumát, ezért a modell minden egyes szabad paraméterének olyan kezdeti értéket kellett választani, amely lehetőség szerint közel esik a hibafüggvény valódi minimumához. Az  $x_0$  koordináta esetében természetes választás volt, az észlelt TPM negatív csúcsának elektróda menti helyzetét tenni a forrás hasonló paraméterének kezdeti értékévé. A  $d_0$  távolság esetében nem volt ilyen természetes választás, de a szimulációs kísérletek tanúsága szerint a  $60 \mu m$ -es távolság megfelelő kiindulási helyzetet jelentett a  $10$ -től  $200 \mu m$ -ig terjedő távolságban, amely tartomány Henze és mtsai (2000) szerint felöleli a lehetséges megfigyelési távolságokat. Mivel az illesztés előtt a TPM-okat normáltam, a forráserősség kezdeti értéke a kezdeti távolság inverze volt:  $I^m = 1/d_0$ .

A háromfázisú kvadrupólus forrásmodell által létrehozott potenciál:

$$V_{EC}^q(x) = \frac{I^q(d_0^2 - 2(x_0 - x)^2)}{4\pi\epsilon\sigma((x_0 - x)^2 + d_0^2)^{5/2}} \quad (3.4)$$

A szabad paraméterek és a kezdeti értékek megegyeztek a monopólus esettel.

Az általános harmadrendű pontforrás modell egy monopólus, egy dipólus és egy kvad-

rupólus tag lineáris kombinációjaként állt elő:

$$V_{EC}(x) = \frac{I^m}{4\pi\epsilon\sigma((x_0 - x)^2 + d_0^2)^{1/2}} + \frac{2I^d(x_0 - x)}{4\pi\epsilon\sigma((x_0 - x)^2 + d_0^2)^{3/2}} + \frac{I^q(d_0^2 - 2(x_0 - x)^2)}{4\pi\epsilon\sigma((x_0 - x)^2 + d_0^2)^{5/2}} \quad (3.5)$$

Ennek a modellnek öt szabad paramétere volt:  $I^m$ ,  $I^d$ ,  $I^q$ ,  $d_0$ ,  $x_0$ . A kezdeti értékek megegyeztek a monopólus esettel a két téri paraméter,  $x_0$ ,  $d_0$ , és a monopólus forrás-erősség  $I^m$  esetében, illetve két új taggal egészültek ki, a forrás erősségeik esetében:  $I^d = I^q = I^m/10$ .

Az ellenáram modellt egy negatív pontforrás és egy pozitív vonalforrás-eloszlás összegeként határoztam meg. Feltételeztem, hogy a vonalforrás párhuzamos a mérő elektródával, melynek helyzetét képleteimben az  $x$  koordináta jelöli. A numerikus illesztéshez a vonalforrás-eloszlást véges hosszúságú vonalforrás szakaszok láncára bontottam, ahol az egyes szakaszokon belül a vonalmenti forrás-erősség állandó volt. A véges hosszúságú vonalforrás szakasz által létrehozott elektromos potenciált Holt és Koch (1999) képlete alapján számítottam ki. Összegezve, az ellenáram modellt egy negatív pontforrás és  $N$  db pozitív vonalforrás lineáris kombinációjaként írtam fel:

$$V_{EC}(x) = \frac{I_0}{4\pi\epsilon\sigma\sqrt{(x_0 - x)^2 + d_0^2}} + \sum_{j=1}^N \frac{I_j}{4\pi\epsilon\sigma} \log \left( \frac{\sqrt{(x_{j+1} - x)^2 + d_0^2} - (x_{j+1} - x)}{\sqrt{(x_j - x)^2 + d_0^2} - (x_j - x)} \right) \quad (3.6)$$

Ahol  $I_0 < 0$  a negatív pontforrás erőssége,  $I_j \geq 0$  a  $j$ -edik pozitív vonalforrás szakasz erőssége, amely szakaszt a  $x_j$  és az  $x_{j+1}$  pontok határolnak. Az  $x_{j=1\dots N+1}$  végpontokat egyenletesen osztottam el az elektróda mentén és helyzetük nem változott az illesztés

során. A modell szabad paraméterei a következők:  $x_0$ ,  $d_0$ ,  $I_0$  és  $I_{1...N}$ .  $N = 12$  áramforrás szakaszt használtam a 16 csatornás mért, illetve szimulált TPM-ok illesztésére.

Sokdimenziós paraméterterben jelentős kérdés a megfelelő kezdeti érték kiválasztása. Ezért előzetes számításokat végeztem, hogy közelebb kerüljek a paraméterek legmegfelelőbb értékeihez. A mért TPM-ra egy monopólus modellt illesztettem, melyet megszorítottam oly módon, hogy az általa előállított potenciál minden pontban kisebb vagy egyenlő legyen mint a mért TPM. E megszorított monopólus modell paramétereinek kezdeti értékei megegyeztek a monopólus modell illesztésénél használtakkal. A legjobb illeszkedést eredményező paraméterkészlet, illetve az általa létrehozott potenciál szolgált kiindulásként az ellenáram modell illesztésekor. A megszorított monopólus illesztésekor kialakult  $x_0$  paramétert tettem az ellenáram modell megfelelő paraméterének kezdeti értékévé. Az  $I_{1...N}$  áramforrás erősségek kezdeti értékeit egyenletesen ugyanazon értékre állítottam be úgy, hogy az általuk létrehozott egyenletes térbeli eloszlású pozitív potenciál  $60 \mu m$  távolságból egyenlő legyen a megszorított monopólus modell által létrehozott TPM és a mért TPM különbségének pontonkénti átlagával. A  $d_0$  távolság paraméter kezdeti értéke ismét  $60 \mu m$  volt.

A mért és a modell által létrehozott potenciálok legjobb illeszkedését eredményező paraméterkészlet becslésként szolgál a források valódi jellemzőire. Ilyen módon az illesztett  $d_0$  paraméter becslést szolgáltat a forrás távolságára, az illesztett  $I_0$  és  $I_{1...N}$  forrás erősségek pedig becslést adnak a sejt membránján ki, illetve az oda befolyó ionáramok nagyságára, illetve azok térbeli eloszlására. A teljes áramforrás-sűrűség (current source density, CSD) eloszlás becsléséhez a pontforrás  $I_0$  áramát a szakasz hosszával elosztva hozzáadtam a megfelelő vonalforrás szakasz áramforrás sűrűségéhez. Az ellenáram modell illesztése így új módszert szolgáltat a sejtek áramforrás-sűrűségének becslésére.

Az új módszeremmel kapott áramforrás-eloszlásokat összehasonlítottam a hagyományos módon kiszámolt egy dimenziós CSD eloszlással. A hagyományos CSD eloszlásokat a következő egyenlet alapján számítottam ki (Nicholson és Freeman, 1975):

$$I(x) = -\sigma \frac{V_{EC}(x+dx) - 2V_{EC}(x) + V_{EC}(x-dx)}{dx^2} \quad (3.7)$$

Ahol  $\sigma$  jelöli a sejtek közötti folyadék vezetőképességét és  $dx$  a mérési pontok egymástól mért távolságát, amely esetünkben  $100 \mu m$  volt.

## 3.2. Az agykérgi dinamika vizsgálata kiváltott epilepsziával

### 3.2.1. 4-aminopiridinnel *in vivo* kiváltott rohamok mérése

A kísérleteket Dr. Barna Barbara, Dr. Szász András és Dr. Sente Magdolna végezte a Szegei Egyetem, Összehasonlító Élettani Tanszékén. A kísérletben felnőtt Wistar patkányokon, altatás alatt váltottak ki epileptikus rohamokat, 4-AP helyi alkalmazásával. Miután a koponyacsontot megbontották a jobb oldali szomatoszenzoros terület fölött, kicsiny 4-AP kristály darabkát helyeztek a nyitott agyfelszínre. Ezután a 4-AP alkalmazásának helyén (elsődleges fókuszpont) és a bal félteke tükröszimmetrikus pontjában (tükrő fókuszt), valamint két, az előzőektől poszterior irányban elhelyezkedő pontban elektródát rögzítettek az agy, illetve a skalp felszínére. Az elektródákon mért elektro-kortikogrammot (EKoG), illetve elektro-enkefalogrammot erősítés,  $0.1 Hz$ -es alsó és  $70 Hz$ -es felső szűrés után  $1 kHz$  mintavételi frekvenciával rögzítették. Munkámban az elsődleges fókuszból rögzített EKoG 32 – 64 másodperc hosszú szakaszait vettem alá elemzésnek. A kísérleti technika részletesebb leírása megtalálható Sente és Baranyi (1987) és Sente és Boda (1994) munkáiban.

### 3.2.2. Az elektro-kortikogram elemzése wavelet transzformációval

Az EKoG idősorok elemzésének fő eszköze folytonos wavelet transzformáció volt, amit, illetve az összes egyéb számítást a Scilab szabadon hozzáférhető matematikai program-

csomaggal, annak beépített függvényeit is felhasználva, végeztem (Gomez, 1999). A jelenség, illetve a mérési technika szempontjából az érdeklődésre számot tartó frekvenciasáv felső határa  $50\text{ Hz}$  volt, ami lehetővé tette, hogy a nyers adat tízszeresen alulmintavételezett változatát használjam, ilyen módon csökkentve a számoláshoz szükséges időt. Így tehát a legmagasabb nem alulmintavételezett frekvencia, illetve a wavelet transzformáció felső határfrekvenciája  $50\text{ Hz}$  volt. A transzformáció alsó határfrekvenciáját  $1\text{ Hz}$ -re választottam. Az  $1$  és  $50\text{ Hz}$  közötti tartományt  $64$ , a frekvenciával arányosan szélesedő sávra osztottam, a wavelet transzformáció természetes frekvencia-idő felbontásának megfelelően. A transzformációhoz a jel szinuszoid alakjára való tekintettel Morlet-típusú wavelet családot használtam. A jó frekvencia felbontás eléréséhez a legalacsonyabb frekvenciájú sávban hosszú waveletet kell használni, ezért a  $64$  másodperc hosszú felvételhez  $32$  másodperc hosszú alap waveletet társítottam, amely a frekvencia emelkedésével arányosan rövidült.

### **3.2.3. Az elektro-kortikogramm elemzése attraktorainak rekonstrukciójával**

A Whitney-tétel (Whitney, 1936) alapján állítható, hogy egy differenciál egyenlettel leírható rendszer változóinak bármely folytonos függvényének értékeiből, illetve annak deriváltjaiból készült állapotér izomorf a differenciál egyenletrendszer változóiból képzett állapotérrel. Tehát az a pálya, amit a rendszer állapotát jellemző pont bejár a deriváltakból képzett térben, izomorf a rendszer valódi pályájával. Feltételezve, hogy a rendszer az idő nagy részében az attraktorának közelében mozog, a trajektória a deriváltak terében hosszabb idő alatt a rendszer attraktorával izomorf struktúrát rajzol ki. Az izomorfia itt azt jelenti, hogy a két szerkezet topológiailag ekvivalens, azaz a két szerkezet átvihető egymásba olyan transzformációkkal, amelyek a szomszédsági viszonyokat nem változtatják meg, tehát nyújtással, forgatással, hajlítással és más hasonló műveletekkel, vágás és összeragasztás nélkül.

A függvény értékeiből, illetve annak deriváltjaiból képzett állapotter egyértelmű módon helyettesíthető a függvény értékeiből és azok időbe eltolt értékeiből képzett állapotterrel, azaz visszatérési leképzésekkel. Ennek a megoldásnak gyakorlati előnyei vannak, mert így a rendszer állapotjelzői a fázistér minden dimenziójában ugyanabba a nagyságrendbe esnek és elkerülhető a deriválásra jellemző zajnövekedést is. Az alkalmazott eltolási idő változtatása az állapotter forgatásához hasonló transzformációt valósít meg, tehát ennek változtatásával más és más szempontból nézhetjük meg a trajektóriát, amit a rendszer bejárt. A mért EKG elemzése során, a visszatérési leképzések elkészítésénél kétféle késleltetést alkalmaztam,  $\tau = 10\text{ ms}$  és  $\tau = 30\text{ ms}$ -ot, a modell által létrehozott kimeneti aktivitás elemzésekor szintén kétféle  $\tau = 1$  időlépés, illetve  $\tau = 3$  időlépés késleltetést.

### **3.2.4. Agykérgi szeletben *in vitro* kiváltott epileptikus tüske kisülések mérése**

Az *In vitro* méréseket Borbély Sándor, Dr. Világi Ildikó és Dr. Détári László végezte, az ELTE Élettani és Neurobiológiai Tanszékén. Felnőtt Wistar patkányok szomatoszenzoros kérgéből vágott  $400\ \mu\text{m}$  vastag koronális szeleteket folytonosan áramló oxigénnel dúsított Ringer oldatban tartották életben. Összesen 25 szeletet kezeltek görcskeltővel: A 4-aminopiridint  $50\ \mu\text{M}$ -os koncentrációban 5 állatból vágott 7 szeleten alkalmazták az átáramoltatott oldatban. A bikukulint  $20\ \mu\text{M}$  koncentrációban bikukulinmethijodid formájában 6 állatból vágott 9 szeleten alkalmazták. A  $\text{Mg}^{2+}$  mentes oldatot 6 állatból vágott 8 szeleten alkalmazták. A szeletre helyezett mikroelektróda-rendszer 16, egyenként  $40\ \mu\text{m}$  átmérőjű mérési pontot tartalmazott, melyek egymástól mért távolsága  $150\ \mu\text{m}$  volt. A felvétel során az első mérési pontot az első kortikális réteg tetejéhez illesztették, melynek adatait az elemzés során elhagytam. A kéreg vastagságának megfelelően az alsó három mérési pont már a fehérállomány mélységébe került, így ezeket szintén elhagytam a CSD elemzés során, így összesen 12 mérési pontban rögzített extracelluláris potenciált



használtam fel. Az erősített elektromos jeleket 0.16 és 100  $Hz$  között szűrték és 200  $Hz$  mintavételezési frekvenciával digitalizálták és tárolták a számítógépben. A kísérleti protokoll leírása és a használt oldatok pontos összetétele megtalálható Dóczy és mtsai (1999) publikációjában.

### 3.2.5. Áramforrás-sűrűség elemzés

A rögzített potenciált utólag, digitálisan szűrtem Gauss-sávszűrő alkalmazásával 0.1 és 45  $Hz$  között. Az időnként előforduló hibás kontaktussal rendelkező csatornák adatait a szomszédos csatornák adataira illesztett harmad rendű spline interpolációval helyettesítettem. A térbeli zajt csökkentendő térbeli simítást, illetve szűrést végeztem 3 pontos Hamming-szűrő alkalmazásával:

$$V_s(x) = 0.23V_{EC}(x + dx) + 0.54V_{EC}(x) + 0.23V_{EC}(x - dx) \quad (3.8)$$

Ezután a simított potenciál felhasználásával kiszámítható az egydimenziós áramforrás-sűrűségeloszlás, a CSD (Nicholson és Freeman, 1975):

$$I(x) = -\sigma \frac{V_s(x + dx) - 2V_s(x) + V_s(x - dx)}{dx^2} \quad (3.9)$$

Ahol  $\sigma$  a szövet vezetőképességét jelentette és értékét 1/200  $S/cm$ -re becsültem Mitzdorf (1985) alapján. A CSD kiszámítását és a Hamming-simítást Ulbert és mtsai (2001) módszere alapján összevontan, egy lépésben végeztem a következő képlet alkalmazásával, amely 5 csatorna adatait használja fel:

$$I(x) = \sigma \frac{0.62V_{EC}(x)}{dx^2} - \sigma \frac{0.08(V_{EC}(x + dx) + V_{EC}(x - dx))}{dx^2} - \sigma \frac{0.23(V_{EC}(x + 2dx) + V_{EC}(x - 2dx))}{dx^2} \quad (3.10)$$

Hogy csökkentsem a csatornaszám veszteséget, amit az 5 pontú szűrő alkalmazása jelentett volna, az első és az utolsó csatorna adatait duplikáltam egy felső és egy alsó pszeudómérési pontot létrehozva. Így a kapott CSD adatsor ugyanúgy a 10 – azaz a potenciálnál kétszer kevesebb csatornával rendelkezett – mint a hagyományos CSD eredménye.

### **3.2.6. Immunocitokémia**

Az immunocitokémiai vizsgálatot Dr. Halasy Katalin végezte a Szent István Egyetem Anatómiai és Szövetani Tanszékén. Itt röviden összefoglalom az alkalmazott kísérleti protokollt: A  $400\ \mu\text{m}$  vastag szeleteket egy óra görcstevékenység után paraformaldehidben egy éjszakán át fixálták, majd ennek kimosása után  $50\ \mu\text{m}$  vastag szeleteket vágtak belőle. A háttérfestődést csökkentő Na-borohidrid kezelés, majd ennek kimosása után az elsődleges, c-Fos-elleni nyúlból származó poliklonális ellenanyagot alkalmazták. Az elsődleges ellenanyag kimosása után a nyúlfehérje-elleni másodlagos biotinilált, kecskéből származó ellenanyagot alkalmazták 2 órán keresztül. A másodlagos ellenanyag kimosása után újabb két órás kezelés következett az avidin-biotinperoxidáz komplex oldatában. A reakciót diamino-benzidinnel, glükóz-oxidázzal és d-glükózzal tették láthatóvá. Az üveglapra helyezett és dehidrált szeleteket megtisztították és beágyazták. Digitális kamerával fényképet készítettek a szeletekről és összehasonlították a technikai kontroll szeletekkel, amelyeket az elsődleges ellenanyag kivételével ugyanígy kezeltek. A technikai kontroll szeletekben festődést nem tapasztaltak. Az eredmények számszerűsítéséhez a kéreg teljes vastagságát 11, egyenként  $150 \times 300\ \mu\text{m}$ -es téglalapra bontották. Minden egyes téglalapban meghatározták a festődött sejtmagok arányát az összes felszínen látható összes sejtmag számához képest. A kísérleti kontroll szeletek – melyeknél elsődleges ellenanyagot használtak, de görcskeltőt nem – és a görcskeltővel kezelt szeletek közötti különbség szignifikanciáját Student t-tesztel vizsgálták a Statistica 7.0 program segítségével.

## 4. fejezet

# Eredmények

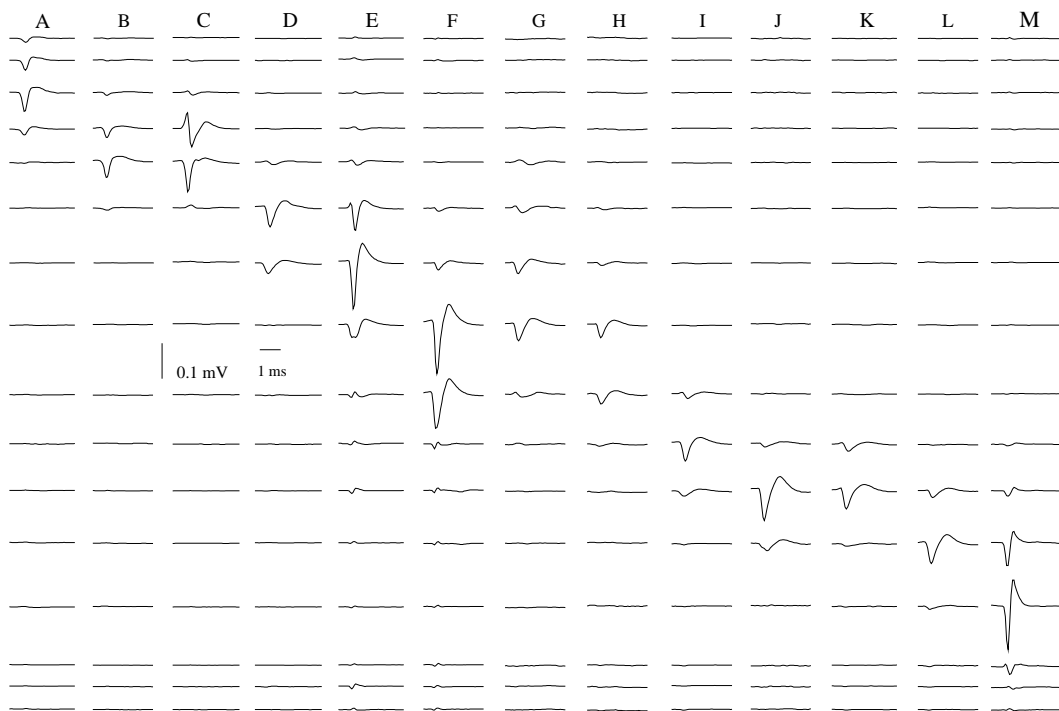
### 4.1. A pontforrás modellek illeszkedésének vizsgálata *in vivo* mért akciós potenciálokra

#### 4.1.1. A monopólus modell illeszkedésének vizsgálata

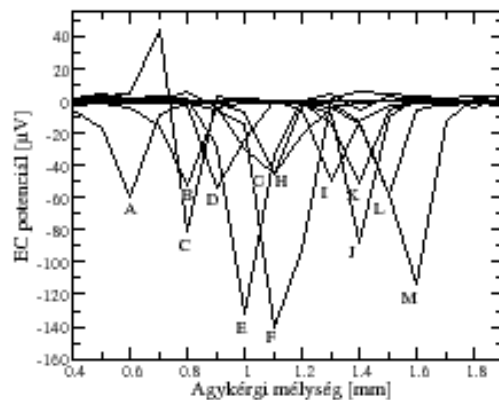
Az akciós potenciálok által a sejten kívüli térben létrehozott elektromos potenciálhullám téridő mintázatait – kialakult szakmai elnevezés hiányában – a továbbiakban mikro-térpotenciáloknak nevezem. Az *in vivo* mért akciós potenciálok osztályozása és az osztályok elemeinek átlagolása után megkaptam a mikro-mezőpotenciálok tipikus téridő mintázatait (4.1. ábra). Alacsony frekvenciás közelítésben a tér és az idő szétválasztható, így a mikro-térpotenciálokat, térbeli potenciál mintázatok (TPM) sorozatának tekintettem.

A pontforrás közelítések illeszkedését minden egyes osztály esetében a legnagyobb negatív potenciál csúccsal rendelkező TPM-on vizsgáltam (4.2. ábra).

A mért átlagos TPM-ok jelentős hasonlóságot mutatnak negatív monopólus források teréhez (4.2. ábra). Az első lépés annak vizsgálatában, hogy e mintázatokat valóban monopólus források hozták-e létre vagy sem, a bennük előforduló pozitív potenciálértékek szignifikanciájának meghatározása volt. Ha e TPM-okat negatív monopólus források hozták létre, a bennük előforduló pozitív értékek nem lehetnek nagyobbak mint amit a mérési



4.1. ábra. Az azonosított 13 akciós potenciál osztály átlagos hullámformái, 16 csatornán. A csatornák közötti távolság  $100 \mu m$  volt. Az egyes hullámok egy  $2.5 ms$  hosszú időtartamot mutatnak.



4.2. ábra. A tüzelésoztályok (A-M) átlagolt térbeli potenciál mintázatai (TPM) az agykérgi mélység függvényében, a legnagyobb (negatív) potenciálcúcs időpillanatában.

Sejt	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M
$V_{EC}^{min}$ in $\mu V$	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
$V_{EC}^{max}$ in $\mu V$	59.49	51.84	81,31	53.34	132.5	140.3	45.28	45.38	49.81	87.64	51.48	57.99	114.1
$Q$ %- ban	-1.2	-1.2	- 53.8	-1.8	-3.2	-4	-13	-1.8	-0.3	-2	-1.1	-1.4	-1.3
$N^-$	5	6	2	4	5	4	6	5	10	3	7	7	6
$N^+$	10	8	6	7	9	8	2	3	4	3	3	4	6

4.1. táblázat. A TPM-ok tulajdonságai:  $-V_{EC}^{min}$  a tüzelés amplitúdója,  $V_{EC}^{max}$  a potenciál maximuma ugyanebben az időpillanatban.  $Q = V_{EC}^{max}/V_{EC}^{min}$ .  $N^+$  és  $N^-$  jelöli azon csatornák számát, amelyeken  $-V_{EC}^{min}$  időpillanatában a potenciál szignifikánsan pozitívabb, vagy negatívabb volt, mint az a zaj alapján várható lett volna.  $\alpha = 1\%$  szignifikancia szinten

zaj létrehozhatott.

Ahogy azt az 4.1. táblázat mutatja, minden vizsgált TPM-ban előfordult pozitív potenciál érték. Az esetek többségében a maximum és a minimum aránya ( $Q = V_{EC}^{max}/V_{EC}^{min}$ )  $-1\%$  és  $-2\%$  között volt. A mért  $V_{EC}^{max}$  érték egyetlen esetben (C) volt összemérhető a negatív csúcs nagyságával,  $Q=-53\%$ .

Minden egyes TPM minden egyes csatornáján meghatároztam az átlagolt potenciál értékekhez tartozó konfidencia intervallumot a negatív csúcs pillanatában. A konfidencia intervallum meghatározásához nem csak az adott csatorna jeleinek átlagát, de a szórását is felhasználtam. Az agykérgi zaj általában nem követi a Gauss-eloszlást (Dimitrov, 2002). Az egyedi tüzelések során a tüzelés adott fázisában mért potenciálok eloszlása a mi esetünkben is szignifikánsan különbözött a Gauss-eloszlástól. Ennek oka valószínűleg az, hogy a közeli akciós potenciálok jelei a zajhoz adódva növelik a magasabb abszolút értékű mérések arányát. Mindazonáltal, a központi határeloszlás tétel alapján megállapíthatjuk, hogy a nem Gauss-eloszlású  $V_{EC}$  valószínűségi változókból  $n$  mintavételből számolt  $M(V_{EC})$  átlag eloszlása nagy  $n$  mintaelemszám esetén aszimptotikusan tart a Gauss-eloszláshoz, így a hozzá tartozó konfidencia intervallum jól közelíthető a

$$\left[ M(V_{EC}) - \frac{aD(V_{EC})}{\sqrt{n}}, M(V_{EC}) + \frac{aD(V_{EC})}{\sqrt{n}} \right] \quad (4.1)$$

tartománnyal,  $2\Phi(a) - 1$  szignifikancia szinten, ahol  $D(V_{EC})$  jelöli az adott csatorna jeleinek szórását a tüzelés adott fázisában az  $n$  tüzelést tartalmazó osztályban,  $\Phi$  pedig a standard normális eloszlásfüggvényt. Az  $n$  mintaelemszám a legkisebb elemszámú osztályban is 300 fölött volt, ez pedig bőven elég ahhoz, hogy a csatornánkénti osztályátlagot normális eloszlásúnak tekinthessük.

A potenciál negatív csúcsával egy időben mért  $V_{EC}$  értékeket akkor tekintettem szignifikánsan nem nulla értékűnek, ha a nulla potenciál nem volt eleme az 1 %-os szignifikanciaszinthez tartozó konfidencia intervallumnak. *Minden egyes osztályátlagban találtam olyan csatornát, amelyen a tüzelés negatív csúcsával egyidőben mért potenciál szignifikánsan pozitív volt.*

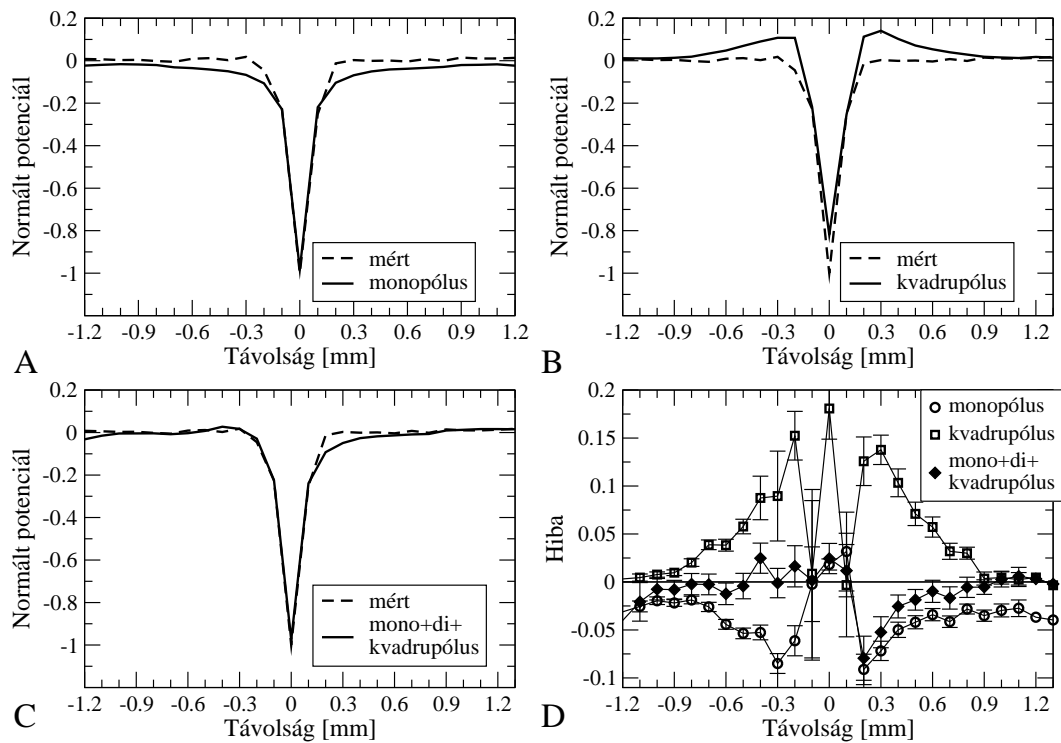
Az 4.1. táblázat tartalmazza azoknak a csatornáknak a számát, amelyeken a mért potenciál szignifikánsan pozitívabb ( $N^+$ ) vagy negatívabb ( $N^-$ ) volt mint az a zaj alapján várható lett volna, 1%-os szignifikancia szinten.

Adataink azt mutatták, hogy a potenciál tipikusan a negatív csúcsától számított 200 – 300  $\mu m$  elektróda menti távolságban elérte a nulla, illetve nullától nem szignifikánsan különböző értékeket. Figyelembe véve az agykéreg és a hippocampusz közti különbségeket, illetve az potenciál alakulása közötti lehetséges különbségeket az apikális-bazális tengely és az arra merőleges irány mentén, ez az eredmény nem mond ellent Henze és mtsai (2000) eredményeinek, akik azt találták, hogy tüzelések mikro-mezőpotenciálja zajszintre csökken körülbelül 150  $\mu m$ -es távolságban a sejttől. Lényeges különbség azonban, hogy a mi adatainkban a potenciál növekedése sok esetben nem állt meg a zajszinten, hanem tovább növekedve pozitív értékeket is elért, ahogy a távolság nőtt.

#### **4.1.2. Általános pontforrás modellek illeszkedésének vizsgálata *in vivo* mért adatokra**

A szignifikánsan pozitív potenciál értékek jelenléte cáfolta a feltételezést, hogy a mért TPM-okat monopólus források hozták létre, de nem zárta ki a lehetőséget, hogy a mért eloszlások forrásai leírhatóak, illetve megfelelően közelíthetők bonyolultabb pontforrás modellekkel. Ennek vizsgálatához három pontforrás modellt illesztettem numerikusan, a mért TPM-okra: egy monopólus, egy kvadrupólus és egy általános harmadrendű pontforrás modellt, amely a multipólus sorfejtés első három tagjának figyelembevételével, egy monopólus, egy dipólus és egy kvadrupólus tag lineáris kombinációjaként állt elő. Az illeszkedések, illetve eltérések vizsgálatához, mind a mért és normalizált TPM-okat, mind a rájuk egyenként illesztett modellek által létrehozott TPM-okat negatív csúcsaik egybejuttatásával összeillesztettem és pontonként átlagoltam a 13 tüzelés osztályra, ilyen módon a potenciálok, illetve eltérések átlagos távolságfüggését vizsgálhattam (4.3. ábra). A normalizált potenciálok és különbségeik egyaránt mértékegység nélküli számok, azaz az eltérés és a potenciál arányát fejezik ki.

A monopólus modellek kisebb illesztési hibát eredményeztek, mint a kvadrupólus modellek, azaz megállapíthatjuk, hogy a mért TPM-ok közelebb voltak a monopólus térhez, mint a kvadrupólushoz, de jelentős eltérést is mutattak mindkét modelltől. A monopólus modellek potenciáltre szignifikánsan alulbecsüli a mért potenciált a negatív csúcs környezetében, míg a kvadrupólus modellek tere túlbecsüli azt. Az illesztési hiba az általános harmadrendű pontforrás modell esetében volt a legkisebb, azonban ugyanabban a nagyságrendben maradt, mint az előző két esetben. Megfigyelhető, hogy a becslési hiba nagysága egyik esetben sem egyenletesen oszlik el a távolság függvényében (4.3. D ábra). Ez arra utal, hogy a hibát nem a mérési zaj okozta, hanem az illesztésre használt függvények alakja nem volt megfelelő a mért mintázatok leírásához, a modellek paramétereinek állításával nem lehetett a mért eloszlásokat kielégítően megközelíteni. Ugyanerre utal az is, hogy a forrás távolságát – amely mindhárom esetben az illesztett modellek szabad



4.3. ábra. A, B, C, szaggatott vonal: A normált 13 TPM csúcsainak egymásra illesztésével és átlagolásával kapott átlagos térbeli potenciáeloszlás, a csúcstól mért távolság függvényében. Folytonos vonal: az illesztett modellek által létrehozott TPM-ok hasonló módon egymáshoz illesztett átlaga. A: monopólus modell, B: kvadrupólus modell. C: általános harmadrendű pontforrás modell, ami egy monopólus, egy dipólus és egy kvadrupólus tag lineáris kombinációja. D: Az illesztési hiba átlagának és a hozzá tartozó szignifikancia intervallumnak térbeli eloszlása a három pontforrás modell esetében.



paramétere volt – az illesztés minden esetben valószínűtlenül kicsiny értékre állította be, értéke elérte a  $10^{-5}$  mikrométeres nagyságrendet.

A mért  $Q$  arányok és az illesztési hibák megmutatták, hogy a mért eloszlások közel vannak a negatív monopólus térhez, azonban a kicsiny de szignifikáns pozitív potenciálok jelenléte, illetve az illesztési hibák nem egyenletes távolságfüggése bebizonyította, hogy a mért potenciál mintázatokat nem hozhatták létre monopólus források. A negatív  $Q$  arányok azt eredményezik, hogy a háromszögelés módszere nem alkalmazható ezekben az esetekben a forrás távolságának becslésére. A monopólus modell által becsült valószínűtlenül kicsiny forrástávolság azt mutatta, hogy a mért TPM-ok keskenyebbek, mint amit a monopólus modell létrehozhatott, bármely paraméter beállítással. A pontforrás modell kiterjesztése a dipólus és a kvadrupólus tagokkal nem szüntette meg a mért és az illesztett potenciál eloszlások közti szignifikáns eltéréseket, illetve az eltérésekben észlelt jellegzetes térbeli mintázatot. Összefoglalva megállapíthatjuk, hogy a pontforrás modellek nem illeszkedtek megfelelően a mért TPM-okhoz, az észlelt jelenségek leírása új modellkeretet igényelt.

## 4.2. Az ellenáram modell felépítése

Az ellenáram modell lényegi újdonsága a pontforrás modellekhez képest az, hogy valódi térbeli kiterjedéssel rendelkezik, ugyanakkor megtartja az egyszerűbb modellek azon tulajdonságát, hogy paramétere megváltozhatók a mért TPM-ok alapján. Hogy ezt elérjem, a következő megszorításokat tettem: a modellt egy dimenzióba szűkítettem le, mivel a leírandó mérések is egy tengely mentén történtek. Megkívántam, hogy ez az egy dimenziós áramforrás-eloszlás, azaz vonalforrás párhuzamos legyen a mérés tengelyével. Ez a feltétel jól egyezik a piramis sejtek dendritfájának hosszúság morfológiájával és agykérgi elhelyezkedésével, mivel az elektróda az agyfelszínre merőlegesen, tehát a piramis sejtek apikális dendritjeivel párhuzamosan helyezkedett el. Még egy fontos megszorítást tettem, hogy az inverz feladat megoldható legyen: megkívántam, hogy a vonalforrás egy

negatív monopólus pontforrás és egy pozitív vonalforrás-eloszlás összegeként álljon elő. Így a modell feltételezi, hogy a sejtfelszíni áramforrásrendszert egyetlen jelentős nyelő jellemzi, amely ismeretlen térbeli eloszlású, de pozitív ellenáramokat indít a sejt egész felszínén. Azt azonban nem kívántam meg, hogy a sejtől ki, illetve az oda befolyó áramok előjeles összege nulla legyen.

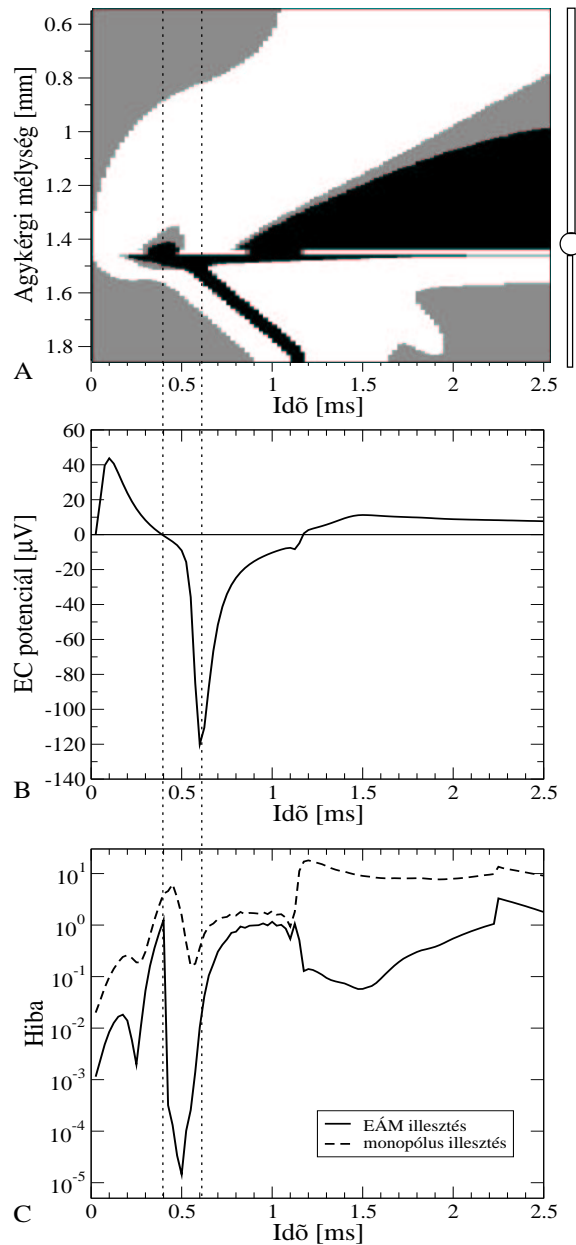
Az ellenáram modell paramétereinek száma önkényesen választható 4 és a mérési pontok száma között, ami jelen esetben 16 volt. Mivel a paraméterek számával nőtt az információ amit e módszer alkalmazásával a sejtről szerezhethünk, ezért a paraméterek számát a lehetséges maximum közelében választottam meg, 15 paramétert használtam a 16 csatornás mért, illetve szimulált jel leírására. A paraméterek számával ugyancsak nőtt a szükséges számítási idő is, ezért a 64 csatornás szimulált adatsor leírására csak 35 paramétert használtam. Ilyen nagy számú paraméterrel még a fenti megszorítások mellett is igen nagy szabadságot kapunk, és a modell jól illeszthető számos különböző TPM-ra, mégsem lehet azonban bármilyen eloszlást leírni e modellel. Például egy olyan eloszlás, amelynek két egyenlő negatív csúcsa van, nem írható le az ellenáram modellel.

#### **4.2.1. Az ellenáram modell vizsgálata szimulált adatokon**

Az akciós potenciál létrejöttét egy ioncsatorna alapú, Hodgkin-Huxley formalizmust követő, sokrekeszes modellel szimuláltuk, amely a Mainen és Sejnowski (1996) által felépített, neokortikális ötödik rétegbeli piramis sejtmodell egyszerűsített változata volt. A sejt tüzelését a sejttestbe vezetett árammal váltottuk ki, melynek időbeli lefutását egy, a szinaptikus áramok leírására gyakran használt függvény, az alfa függvény írta le.

Az ingerlő áram megindítása után  $0.39\text{ ms}$ -al, egy  $0.18\text{ ms}$  hosszú idő intervallum kezdődött, amikor a sejtmembránon átfolyó áramrendszert egy kis kiterjedésű nyelő jellemezte a sejttest és az axon kezdeti szakaszán, míg a sejtől mindenhol máshol pozitív áram folyt ki. Ez azt mutatta, hogy ebben a rövid idő intervallumban az ellenáram modell előjel megszorításai jól leírják a sejt elektrofiziológiai folyamatait (4.4. A ábra).

A szimulált idegsejt membránáramai alapján kiszámítottuk a sejt által létrehozott

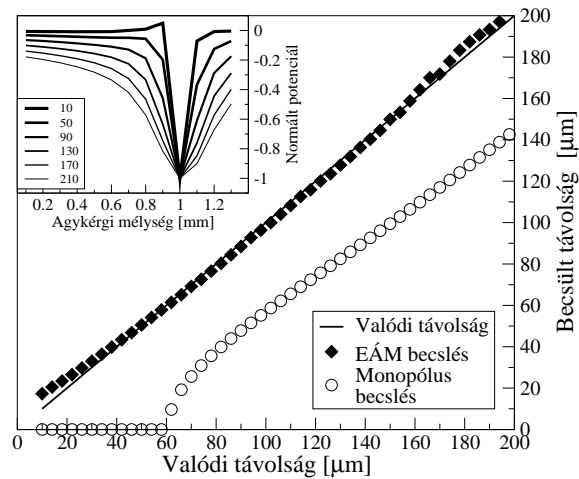


4.4. ábra. A: A membránáram előjelének tér-idő térképe a szimulált akciós potenciál során. Fekete szín jelöli a negatív áramot (nyelő), fehér a pozitívát (forrás), a szürke pedig azokat az áramokat, amelyek abszolút értéke  $I_{min}/1000$  alatt maradt. A jobb oldalon a hengeres sejtmodell sematikus rajza látható: a sejt dendritje  $0.55 - 1.45 \text{ mm}$  mélyen fekszik, a sejttest  $1.46 \text{ mm}$  mélységben, míg az axon  $1.47$ -től  $1.87 \text{ mm}$ -ig tart. B: A tüzelés által létrehozott elektromos potenciál a sejtől  $25 \mu\text{m}$  távolságban a sejttesthez közel. C: A monopólus (szaggatott vonal) és az ellenáram modell illeszkedési hibájának időfüggése, logaritmikus tengelyen. Az árambefecskendezés az időtengely  $0$  értékénél kezdődött. A függőleges pontozott vonalak az A ábrán azt az időtartományt jelölik, amikor csak az axon kezdeti szakasza aktív. Ez egybeesett az akciós potenciál negatív hullámának kezdetétől a csúcsági tartó időszakkal a B ábrán. Ebben az intervallumban az ellenáram modell igen alacsony illesztési hibát ad a C ábrán.

elektromos potenciált a sejttől  $25 \mu m$  távolságban, 64 csatornán,  $25 \mu m$ -es térbeli felbontással. E mikro-mezőpotenciált a sejtest közelében vizsgálva megállapítottam, hogy a fent leírt intervallum pontosan megegyezik a sejten kívül felvett potenciál kezdeti, csökkenő szakaszával, amely a tüzelés kezdetétől a potenciál negatív csúcsáig tart. Ez lehetővé tette, hogy a sejten kívül mért elektromos potenciál alapján meghatározzam az ellenáram modell érvényességi tartományát (4.4. B ábra).

A szimulált akciós potenciál mikro-mezőpotenciálját TPM-ok sorozatára bontottam fel, majd minden egyes időpillanathoz tartozó TPM-ra két modellt illesztettem: egyrészt az ellenáram modellt; másrészt összehasonlításképpen a monopólus modellt. Az 4.4. C ábra mutatja mindkét illesztési hiba alakulását az akciós potenciál során. Az illesztési hibát a szimulált és az illesztett modellek által létrehozott potenciálok euklideszi távolságával mértem. Mivel az illesztés minden esetben és minden időpillanatban normált TPM-ra történt, ezért az euklideszi távolság – a TPM-ok pontonkénti különbségének négyzetösszegének gyöke – is mértékegység nélküli szám, az eltérések és a potenciálok arányát fejezi ki. Ahogyan az áramforrás sűrűség eloszlás időben változik a sejten, úgy mindkét modell illesztési hibája bonyolult mintázatot követ a tüzelés során. Az illesztési hiba a  $10^{-1} - 10^1$  tartományban mozgott a vizsgált intervallum nagy részében a monopólus modell esetében, és egy nagyságrenddel alacsonyabban az ellenáram modell esetében. Az ellenáram modell hibája azonban az akciós potenciál kezdetén hirtelen lecsökken és igen alacsony értéken marad a mikro-mezőpotenciál negatív csúcsáig. A hiba minimuma öt nagyságrenddel alacsonyabb volt, mint a monopólus modell párhuzamos eredménye. E meredek hibavölgynek a léte és az egybeesése a fent leírt idő intervallummal megerősítette, hogy mikro-mezőpotenciál kezdeti csökkenő szakasza jól leírható az ellenáram modell segítségével. A kis illesztési hiba azonban csak szükséges, de nem elégséges feltétele az ellenáram modell használhatóságának. Szükséges, hogy az ellenáram modell számos paraméterének mindegyike kielégítő pontossággal meghatározható legyen a mért mikro-mezőpotenciálok alapján.

Az ellenáram modell numerikus illesztése a mért TPM-okra megadja azt a paramé-



4.5. ábra. A monopólus (üres körök) és az ellenáram modell (telt rombuszok) által becsült forrástávolság összehasonlítása a szimulált forrás távolságával (folytonos vonal). A monopólus modell által becsült távolság  $60 \mu\text{m}$ -ig nem függött a forrás valódi távolságától, de  $60 \mu\text{m}$  fölött is jelentős hibát vétett. Ezzel szemben az ellenáram modell jó közelítést adott a forrástávolságra. Mellékábra:  $-1$ -re normalizált térbeli szimulált potenciál mintázatok távolságfüggése. A vonalvastagság a sejt távolságát jelöli  $\mu\text{m}$ -ben.

terkézsletet, amely a mért adatokat legjobban közelítő forrásmodellt jellemzi, ilyen módon becslést ad a forrást jellemző paraméterekre. E becslés pontosságát ellenőrizendő, az idegsejtmodell szimulált tüzelése alapján számolt TPM-okra illesztettem az ellenáram modellt és mivel ekkor a forrás összes paramétere ismert volt, a becslés eredményét összevettem az eredeti paraméterekkel. Az ellenáram modellnek két típusú paramétere van: térbeli helyzetet leíró paraméterek és áramforrás erősség vagy áramforrás sűrűség paraméterek. Az előbbiből kettő: a negatív monopólus helyzete az elektróda mentén és a sejt-elektroda távolság, míg az utóbbiból (16 csatornás mérés esetében) 13, egy monopólus forráserősség és 12 vonal menti forrassűrűség jellemzi a modellt, tehát a becslések megbízhatóságának vizsgálata során ezeket a paramétereket vettem össze az ismert forrásjellemzőkkel.

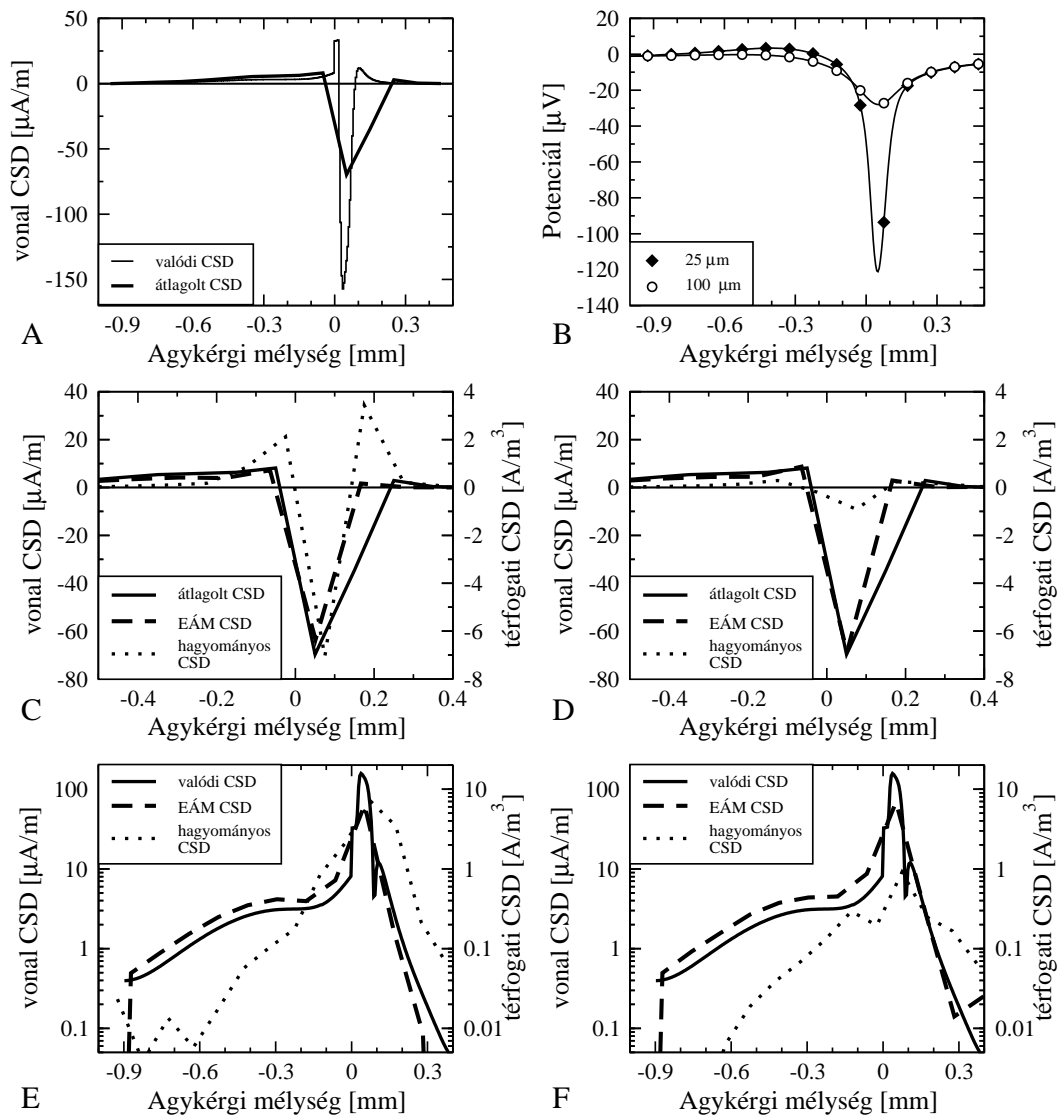
Az forrás elektródamenti helyzete minden esetben közel esett a TPM negatív csúcsához, így helyzetét jó közelítéssel határozta meg mind a monopólus, mind az ellenáram modell.

A távolság becslés vizsgálatához kiszámítottuk a sejt mikro-mezőpotenciálját 10-től

200  $\mu\text{m}$  távolságig 5  $\mu\text{m}$ -es lépésenként. Minden egyes távolságban – a sejttel párhuzamos egyenes mentén – 16, egymástól 100  $\mu\text{m}$ -re elhelyezkedő mérési pontban határoztuk meg a potenciált. Mint azt az 4.4. ábrán látható, az ellenáram modell érvényességi tartománya a mikro-mezőpotenciál meredek negatív hullámának kezdetétől annak negatív csúcsáig tart. E tartományban a legnagyobb amplitúdó a tartomány végén mérhető, így a mérések esetében a jó jel/zaj arány eléréséhez maga a csúcs időpillanata volt a legalkalmasabb. Ezért mind a mért, mind a szimulált mikro-mezőpotenciálok negatív csúcsának időpillanatában mért TPM-ok képezték a modell illesztés alapját. Az így kapott 38 különböző távolsághoz tartozó TPM mindegyikére numerikusan illesztettem az ellenáram modellt és összehasonlításképpen a monopólus modellt (4.5. ábra)

A monopólus modell 60  $\mu\text{m}$ -ig a valódi távolságtól független, ahhoz képest elhanyagolhatóan kicsi, nulla közeli távolság értékeket eredményezett, hasonlóan, mint a mért adatok esetében. 60  $\mu\text{m}$  fölött a monopólus modell már monoton növekedő távolságbecslést eredményezett, de a becsült távolság jelentősen elmaradt a valódi távolságtól. Sem a kvadrupólus, sem a harmadrendű pontforrás modell nem eredményezett a valódi távolsággal monoton növekedő becslést, így ezek a modellek nem bizonyultak alkalmasnak az elektróda és a sejt távolságának becslésére. A vizsgált forrás modellek közül egyedül az ellenáram modell adott jó közelítést a forrás távolságára.

Az ellenáram modell egyik legfontosabb tulajdonsága, hogy térben – legalábbis egy dimenzió mentén – kiterjedt forrást ír le. Ezért a becslések megbízhatóságának vizsgálata során a következő lépés a valódi és a becsült áramforrás sűrűség (CSD) eloszlások összehasonlítása volt. Az elméletileg folytonos CSD eloszlásokat mind a idegsejt sokrekeszes modellje, mind az ellenáram modell diszkrét egységek, pontforrások vagy vonalforrások láncaként írja le. Pontforrás sorozatok összehasonlítása vonalforrás sorozatokkal, illetve pontforrás sorozatok összehasonlítása más pontokban értelmezett pontforrás sorozatokkal nem magától értetődő és kérdéseket vetett fel. Hogy ezt az összehasonlítást mégis el tudjam végezni, négyféle CSD eloszlást vizsgáltam. A szimulált sokrekeszes sejtmodell pillanatnyi membránáramai elosztva a rekeszek hosszával adják a valódi CSD eloszlást



4.6. ábra. A hagyományos CSD módszer és az ellenáram modell illesztésével kapott CSD becslés összehasonlítása. A: A valódi CSD-t a szimulált sejtmodell membránáramaiból számoltuk  $5 \mu m$  térbeli felbontással, míg az átlagolt CSD  $115 \mu m$ -es térbeli felbontásnak felel meg. B: Az áramok által létrehozott elektromos potenciál a sejttől  $25$  és  $100 \mu m$  távolságban. A folytonos vonal  $5 \mu m$ -es térbeli felbontással mutatja a TPM-okat, míg a rombuszok és körök  $100 \mu m$ -enkénti mintavételezéssel mutatják a mérés két lehetséges eredményét. Mind a hagyományos CSD számítás, mind az ellenáram illesztés alapján  $100 \mu m$ -enként mintavételezett potenciál képezte. C: A  $25 \mu m$  távolságban érzékelhető potenciál alapján számított hagyományos CSD-t az ellenáram modell becslésével, illetve az átlagolt CSD-vel mint a  $100 \mu m$ -es térbeli mintavételi sűrűség alapján várható legjobb eredménnyel hasonlítottam össze. D: Ugyanaz az összehasonlítás, mint a C ábrán, de ezúttal a  $100 \mu m$ -es távolságban mérhető potenciál alapján számolt CSD-k láthatóak. E: A valódi CSD, a hagyományos CSD és az ellenáram modell CSD eloszlásának abszolút értéke logaritmikuskálán, a  $25 \mu m$  távolságban mért potenciál alapján. F: Ugyanaz mint az E ábrán, de a  $100 \mu m$  távolságban mért potenciál alapján.

a mikro-mezőpotenciál negatív csúcsának pillanatában. A rekeszek hossza a sejtmodel-  
lünkben  $5\ \mu\text{m}$  volt, tehát a valódi CSD  $5\ \mu\text{m}$ -es térbeli felbontással írja le az ismert áram-  
forrás sűrűségeloszlást (4.6. A ábra, vékony vonal). A valódi CSD-ből szintén  $5\ \mu\text{m}$ -es  
térbeli felbontással számítottam ki az általa létrehozott TPM-okat, 25, illetve  $100\ \mu\text{m}$  tá-  
volságban a sejttől (4.6. B ábra, folytonos vonalak). Ezután az elektróda felbontásának  
megfelelően  $100\ \mu\text{m}$  térbeli felbontással mintát vettem a potenciálokból (4.6. B ábra, kö-  
rök és gyémánt szimbólumok), ez a két 16 csatornás TPM szolgált, az illesztések alapjául.  
Az ellenáram modell 12 vonalforrás szakasza egyenként  $115\ \mu\text{m}$  hosszú volt ezért - hogy  
a két eloszlást összehasonlíthatóvá tegyem - a valódi CSD értékeit átlagoltam e  $115\ \mu\text{m}$ -  
es szakaszokon és átlagos CSD-nek neveztem (4.6. A ábra, vastag vonal). Ez az átlagos  
CSD mutatja az ellenáram modellel elérhető legjobb eredményt. Ezután a 16 csatornás  
TPM-ok alapján kétféle módszerrel számítottam ki a becsült CSD eloszlásokat. Egyrészt  
az ellenáram modell illesztésével másrészt a hagyományos egy dimenziós CSD módszer-  
rel, a második térbeli derivált számításával. Az ellenáram modell eredményeit és a ha-  
gyományos CSD-t az átlagos CSD-hez hasonlítva kiderül, hogy az ellenáram modell jó  
becslést ad a szakaszonként átlagolt CSD-re akkor is, ha a potenciált  $25\ \mu\text{m}$  távolságban  
mértem (4.6. C ábra). és akkor is, ha  $100\ \mu\text{m}$  volt a sejt-elektroda távolság (4.6. D ábra).  
Az ellenáram modell CSD eloszlása egyetlen ponton tér el lényegesen az átlagos CSD-  
től,  $175\ \mu\text{m}$ -es mélységnél, ahol az átlagos CSD negatív, az ellenáram modell ellenben  
pozitív értéket ad, hiszen az előjel megszorítás következtében csak egy pontban vehet fel  
negatív értéket. Ez tehát azt jelenti, hogy a szimulált sejtre ekkor nem pontosan teljesül az  
ellenáram modell feltevése; az érvényességi időtartomány végénél vagyunk, a szomatikus  
és axonikus nyelő szétválása már megkezdődött, a nyelő nem pontszerű. Ennek ellenére,  
az ellenáram modell minden más pontban és összességében jól közelíti az átlagos CSD  
eloszlást.

Az ellenáram modell szinte változatlan forráserősséget becsül,  $25$  és  $100\ \mu\text{m}$  távol-  
ságból, míg a hagyományos CSD lényegesen kisebbnek mutatja a távolabbi forrást. Ez a  
jelentős különbség rámutat, hogy a valódi összehasonlítás nehéz, mert eltérő a két mód-



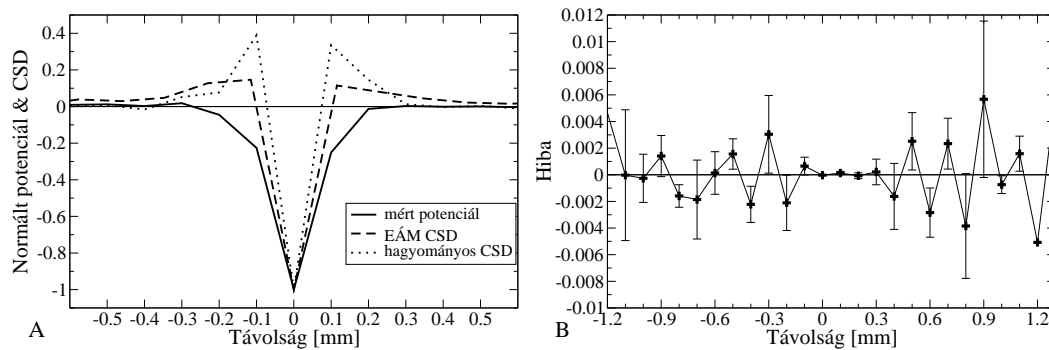
szerrel kapott CSD eloszlások mértékegysége. Az ellenáram modell vonalforrás sűrűséget eredményez amit  $\mu A/m$  egységekben mértünk, míg a hagyományos CSD módszer térfogati áramforrás sűrűséget ad, aminek a mértékegysége  $A/m^3$ . A közvetlen összehasonlítás tehát nem lehetséges, mivel azonban a mért CSD eloszlások értelmezésénél a legfontosabb szerepe az eloszlásokon belüli amplitúdó arányoknak van, érdemes a két módszer eredményét ebből a szempontból összehasonlítani. Ezt vizsgálva megállapíthatjuk, hogy az ellenáram modell igen pontosan adta vissza az átlagolt CSD maximumának és minimumának 10 % közeli arányát, míg a hagyományos módszer 50 % közeli értéket eredményezett. Az ellenáram modell nem csak nagy vonalakban adta vissza a valódi CSD eloszlást, a CSD eloszlásokat logaritmikus skálán vizsgálva látszik, hogy több nagyságrenden keresztül szorosan követi azt. Ezzel szemben a hagyományos CSD a valóditól lényegesen eltérő térbeli CSD eloszlást ad (4.6. E, F ábra).

Összefoglalva megállapíthatjuk, hogy az ellenáram modell numerikus illesztéssel kapott legjobb paraméterkészlete a forrás paraméterek jó közelítésének bizonyult. A szimulált adatok esetében a modell összes forrást jellemző paramétere meghatározható volt a mérések alapján, tehát feltételeztem, hogy a mért agykérgi TPM-ok alapján azok forrásának hasonló paraméterei szintén meghatározhatóak. Ez az eredmény egyben azt is mutatja, hogy az ellenáram modell feltevései valóban biztosítják a Poisson inverz feladat megoldásának egyértelműségét.

#### **4.2.2. Az ellenáram modell illeszkedésének vizsgálata *in vivo***

##### **adatokra és az adatok elemzése az ellenáram modell alapján**

A hagyományos CSD módszer (Nicholson és Freeman, 1975; Mitzdorf, 1985) alkalmazásával a mért adatokon lineáris átalakítást hajtunk végre, a térbeli második deriváltat képezzük. Figyelembe véve, hogy az átlagolás is lineáris átalakítás, sorrendjük felcserélhető, ugyanazt az eredményt kapjuk, ha a potenciálok átlagából számoljuk a CSD eloszlást, illetve ha az egyedi potenciálokból számolt CSD eloszlásokat átlagoljuk. Ezzel



4.7. ábra. A: Folytonos vonal: a TPM-ok csúcsaikkal összeillesztett átlaga. A mért TPM-okra illesztett ellenáram modell által létrehozott potenciálmintázat szemmel megkülönböztethetetlen volt a mért mintázatoktól. Szaggatott vonal: az ellenáram modell által becsült és a csúcsaikkal összeillesztett CSD eloszlások átlaga. Pontozott vonal: a mért TPM-ok alapján számolt hagyományos CSD eloszlások összeillesztett átlaga. B: Az ellenáram modell illeszkedési hibájának várható értéke és a várható érték hibája a potenciálcúscstól mért távolság függvényében. Az ábra az eltérés várható értékét, illetve ennek a várható értéknek a szórását 12 mért TPM illesztése alapján mutatja.

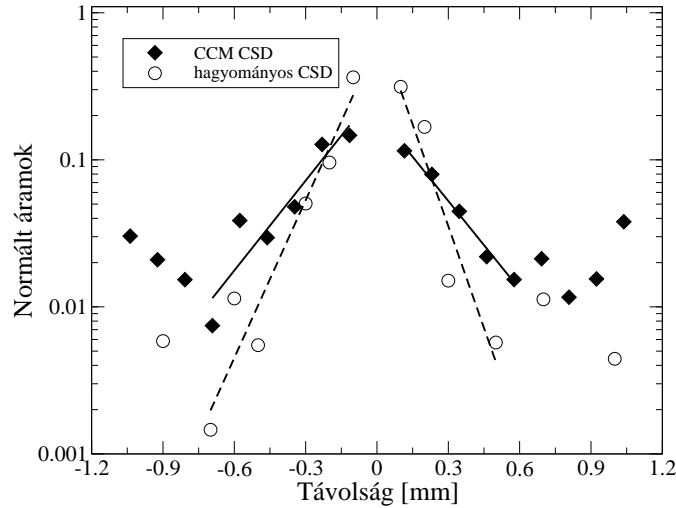
szemben a numerikus modell illesztés egy nemlineáris folyamat, amely érzékeny a mérés bizonytalanságaira, a zajra. Ezért nem a feltételezett sejtekhez rendelt akciós potenciál osztályok elemeire illesztettem a modellt, hanem az azonos osztályba tartozó potenciál hullámok időpontonként és csatornánként vett átlagára, amelyekben a zaj szerepe lényegesen csökkent. A mikro-mezőpotenciálok csúcsainak időbeli összeillesztésével készülő pontonkénti átlagolás ilyen módon az eseményhez kötött potenciálok átlagolásához hasonló. Mivel a modell csak a mikro-mezőpotenciálok első, csökkenő negatív szakaszára érvényes és a modell illesztésének numerikus folyamata zajérzékeny, a modell illesztést a legjobb jel/zaj arányt biztosító negatív potenciálcúcs időpillanatában mért TPM-okra végeztem. Miután a 13 normalizált osztályátlag TPM mindegyikére ráillesztettem az ellenáram modellt, a kapott térbeli áramforrás sűrűség eloszlásokat negatív csúcsaik térbeli összeillesztésével pontonként átlagoltam. Hasonlóan jártam el a hagyományos CSD esetében is: a TPM-ok alapján számított CSD eloszlásokat negatív csúcsaik összeillesztésével pontonként átlagoltam (4.7. A ábra). Összehasonlítva a ellenáram modellel meghatározott CSD eloszlást a hagyományos CSD eloszlással, hasonló eltéréseket találtam, mint a szimulált adatok esetében (4.6. C ábra).

Az illesztés hibája több mint egy nagyságrenddel alacsonyabb volt, mint az általános harmadrendű pontforrás modell esetében. A pontforrás modellekkel ellentétben a távolságfüggő hibaeloszlás várható értéke sehol sem különbözött szignifikánsan a nullától és nem mutatott semmilyen szignifikáns mintázatot, a potenciál negatív csúcsától mért távolság függvényében (4.7. B ábra). Az illesztés eredményeképpen létrejött távolság paraméterek teljesen realiztikus értékeket mutattak, a C jelű sejt kivételével a 7 – 110  $\mu m$ -es távolság tartományban voltak a sejtek. Az, hogy a C sejt alacsony, 0 közeli távolságot eredményezett, azt mutatja, hogy az ellenáram modell feltételezései közül egy, vagy több nem teljesült ebben az esetben. A nagy pozitív komponens a negatív csúccsal szomszédos csatornán arra utalhat, hogy egy nagy forráserősségű dendrit- vagy axonnyúlvány helyezkedett el az elektróda közvetlen közelében. Ha ez így van, akkor nem teljesül az a feltétel hogy a sejt minden pontja egyenlő távolságban van az elektródától, azaz a sejt és az elektróda párhuzamosságának feltétele sérült ebben az esetben. Ezért a C sejtet, illetve TPM-át kihagytam a további elemzésekből.

Az negatív csúcsok összeillesztése és a 12 CSD pontonkénti átlagolása a membránáramok átlagos térbeli eloszlását eredményezte. Míg az egyes eloszlások alakját nagyban befolyásolhatták véletlen tényezők, mint például a sejttest helyzete a két legközelebbi mérési pont között, erről az átlagról feltételezhetjük, hogy a membránáram eloszlások általános jellegzetességeit hordozza, az akciós potenciál negatív csúcsának pillanatában. A nyelőhöz képest az ellenáramok forrássűrűsége lényegesen kisebb, az előbbi 15 % -a volt. Azonban a térbeli összegződés révén az ellenáramok által létrehozott potenciál abszolút értékében összemérhető volt monopólus tagéval. A 12 CSD átlaga csak enyhe aszimmetriát mutatott, az ellenáramok 43 %-a az apikális, 57 %-a a bazális dendriten folyt. Az egyedi CSD-k aszimmetria mutatója azonban lényegesen nagyobb volt:

$$\sum I_{nagyobb} / \sum (I_{nagyobb} + I_{kisebb}) = 0.69 \quad (4.2)$$

Az apikális és a bazális áramok egyaránt 6 – 6 esetben képviselték az ellenáramok több-



4.8. ábra. Az ellenáram modell illesztésével becsült apikális és bazális ellenáramok átlagának távolságfüggése (telt rombuszok) és az erre illesztett exponenciális függvény (folytonos vonal) logaritmikus skálán. Az  $x$  tengelyen a sejttesttől mért távolság agykérgi mélységben értendő. A hagyományos CSD módszerrel kapott eloszlás pozitív értékei (üres körök) és a rájuk illesztett exponenciális függvény (szaggatott vonal). Az apikális dendritok a negatív, a bazálisok a pozitív féltengely mentén helyezkednek el. Az exponenciális illesztésekor az apikális áramokat  $-0.7$ -től  $-0.1$   $mm$ -ig, a bazális áramokat  $0.1$ -től  $0.6$   $mm$ -ig vettem figyelembe.

ségét.

Az kifolyó áramok összege lényegesen kisebb volt, mint a befolyó összes áram:

$$-\sum I_{ki} / \sum I_{be} = 0.65 \quad (4.3)$$

A hiányzó 35 %-ért két tényező is felelőssé tehető: Egyrészt a dendritfa átmérője  $200 - 300 \mu m$ -t is elérhet. Mivel ez a kiterjedés nagyobb mint a sejt és az elektróda távolsága, a dendritfa és így a kifelé folyó áramok egy része szimmetrikus hengerként veszi körbe az elektródát. A szimmetria miatt az elektromos térerősség kiegyenlítődik és a potenciálhoz nem járul hozzá, az elektródákon nem mérhető. Másrészt, az összáram valóban különbözhet a nullától, mint ahogyan azt a sejtek belsejébe vezetett üvegelektrodákkal végzett úgynevezett egészsejt mérések eredményei mutatják.

Az illesztési folyamat elején, az ellenáramok eloszlása egyenletes volt az elektróda mentén, de az illesztés egy jellegzetes, a központi nyelőtől mért távolsággal csökkenő

eloszlást eredményezett sok esetben, illetve a CSD eloszlások átlagában (4.8. ábra).

Hosszú, homogén, passzív kábelben, kis kiterjedésű állandó áram befecskendezés hatására a befecskendezés helyétől távolodva exponenciálisan lecsengő ellenáram eloszlás jön létre (Johnston és Wu, 1995):

$$I_m(x) = \frac{I_0 \lambda_{DC}}{2} e^{-\frac{|x-x_0|}{\lambda_{DC}}} \quad (4.4)$$

Ahol  $I_0$  a befecskendezett áram  $x_0$  az áram befecskendezés helye és  $\lambda_{DC}$  a kábel egyenáramú térálladója, az exponenciális lecsengés paramétere. Az akciós potenciál nem tekinthető állandó áram befecskendezésnek, hiszen közben gyors változások zajlanak a befolyó áram erősségében. Ennek ellenére, az exponenciális függvény jól írta le mind az apikális, mind a bazális dendritek árameloszlásának átlagát 100-tól 600  $\mu m$  távolságig. Egyenes illesztésével a CSD eloszlás logaritmusára meghatároztam az illesztett exponenciális függvény kitevőjét, az illeszkedés pontosságából pedig a becsült paraméterek konfidencia-intervallumát, ami az illesztett paraméterek megbízhatóságát jellemzi. Az ellenáram modell CSD eloszlását nagyon hasonló lecsengési paraméter jellemezte mindkét esetben. Az apikális dendriten az átlagos lecsengési paraméter becslésének várható értéke 213  $\mu m$  volt, konfidencia-intervalluma pedig 184 – 253  $\mu m$ , míg a bazális dendriten 217  $\mu m$  volt a várható értéke és igen szoros 207 – 228  $\mu m$ -es a konfidencia-intervalluma. Az illesztés két meglepő eredményt hozott: egyrészt a nagyfokú hasonlóság a apikális és a bazális paraméterek várható értékei között, másrészt, a bazális dendrit áramai rendkívül pontosan követik az exponenciális szabályt, míg az apikális esetben lényegesen nagyobb az eltérés. Ezek az eredmények érdekesek, azonban lényegesen több sejt akciós potenciáljának vizsgálatára lenne szükség annak eldöntéséhez, hogy e jelenségek általános jellemzői-e a nagyagykérgi idegsejteknek. Összehasonlításképpen megvizsgáltam, hogy a hagyományos CSD módszer milyen térbeli CSD eloszlást eredményez. Míg az ellenáram modell szigorúan pozitív értékeket adott a központi csúcson kívül, addig a hagyományos CSD eloszlás pozitív és negatív értékeket egyaránt felvett. Ez természetesen

csökkenti a fenti kábel-analógia erejét és nehezíti az exponenciális illesztését, illetve az illesztett függvény értelmezését. Mindazonáltal a hagyományos CSD eloszlás esetében is megfigyelhető volt, hogy az áramforrás sűrűség abszolút értéke sok esetben, illetve átlagosan csökkenő függvénye volt a potenciálcúcstól mért távolságnak. Ez a csökkenés – hasonlóan a szimulált akciós potenciálból számolt CSD-k csökkenéséhez (4.6. E, F ábra) – lényegesen gyorsabb volt mint az ellenáram modellben. Az exponenciális függvényt csak a hagyományos CSD pozitív értékeire illesztettem. Az illesztés  $122\ \mu\text{m}$ -es becslést adott a lecsengési paraméter értékére az apikális dendriten és  $94\ \mu\text{m}$ -t a bazális dendriten.

A CSD eloszlások a tapasztalt exponenciális lecsengése felveti a lehetőséget, hogy az ellenáram-modellen további megszorítást tegyünk. Megkövetelhető, hogy az ellenáram-rendszer exponenciálisan csökkenjen a nyelőtől mért távolsággal. Ez a leírás csökkenti az illesztendő paraméterek számát, ugyanakkor megszünteti az exponenciálistól való eltérések azonosításának lehetőségét. Példaképpen említhető, hogy a szimulált akciós potenciál esetében az apikális dendrit árama nem szigorúan monoton csökkent,  $400\ \mu\text{m}$ -es távolságnál egy jelentős plató mutatkozott, amit az ellenáram modell CSD eloszlása pontosan követett, ugyanakkor egy szigorúan exponenciális eloszlás nyilván figyelmen kívül hagyott volna. A mért adatokra illesztve az exponenciális lecsengésű ellenáram modellt, a fent leírtakhoz nagyon hasonló lecsengési paramétereket kaptam, azonban a szimulált adatokra numerikusan illesztve, az exponenciális modell által becsült távolság-paraméter nem mutatott monoton távolságfüggést a sejt-elektroda távolság függvényében, tehát ez a modell nem volt alkalmas a forrás távolságának pontos becslésére, ezért a továbbiakban nem alkalmaztam.

Hosszú, egyenletes átmérőjű, passzív kábelbe nem egyenáramot, hanem szinuszos időfüggésű váltóáramot fecskendezve, a kialakuló ellenáram eloszlás térfüggése egy exponenciális és egy szinuszos térfüggésű tag szorzataként áll elő. Az exponenciális függvény, a térben és időben kialakuló szinuszhullám amplitúdójának azaz burkológörbéjének térfüggéseként jelenik meg. Ilyenkor, az egyenáramú lecsengési paraméterhez hasonló módon értelmezhető a váltóáramú lecsengési paramétert, mint az exponenciális burko-

lógörbe kitevője. A váltóáramú lecsengési paraméter frekvenciafüggő, és frekvenciafüggése egyszerűen meghatározható. Ha ismert a gerjesztő áram frekvenciája, az egyenáramú és a váltóáramú lecsengési paraméter között a következő összefüggés áll fenn (Johnston és Wu, 1995):

$$\lambda_{DC} = \frac{\lambda_{AC}}{\sqrt{1 + \sqrt{1 + (2\pi f\tau)^2}}} \quad (4.5)$$

Ahol  $\tau$  a passzív membrán időállandója,  $f$  a gerjesztő áram frekvenciája,  $\lambda_{AC}$  az  $f$  frekvenciához tartozó váltóáramú lecsengési paraméter,  $\lambda_{DC}$  pedig az egyenáramú lecsengési paraméter. Bár az akciós potenciál nem állandó szinuszos gerjesztést jelent, a fenti összefüggés segítségével, a mért lecsengési paraméterek alapján, durva becslés adható a hozzájuk tartozó egyenáramú lecsengési paraméterre. Tipikus membrán időállandóként  $\tau = 30 \text{ ms}$ -ot és a sejten belül mért akciós potenciálra jellemző frekvenciaként  $f = 500 \text{ Hz}$ -et a fenti képletbe helyettesítve a mért váltóáramú lecsengési paraméterekhez tartozó egyenáramú térállandók:

$$\lambda_{DC}^{\text{apikális}} = 2.09 \text{ mm}$$

$$\lambda_{DC}^{\text{bazális}} = 2.13 \text{ mm}$$

A szakirodalomban előforduló adatok az emlős agykéreg neuronjaiban közvetetten mért lecsengési paraméterekre több mint egy nagyságrendet is eltérnek egymástól:  $100 \mu\text{m}$ -tól  $5 \text{ mm}$ -ig találtam eredményeket. Ezt figyelembe véve, a kapott értékek igen valószerűek és alkalmasak konduktancia alapú modellek paramétereinek beállítására.

### **4.3. Az agykérgi dinamika vizsgálata kiváltott epilepsziával**

#### **4.3.1. A 4-AP kiváltotta rohamok frekvencia spektrumának változása a roham során**

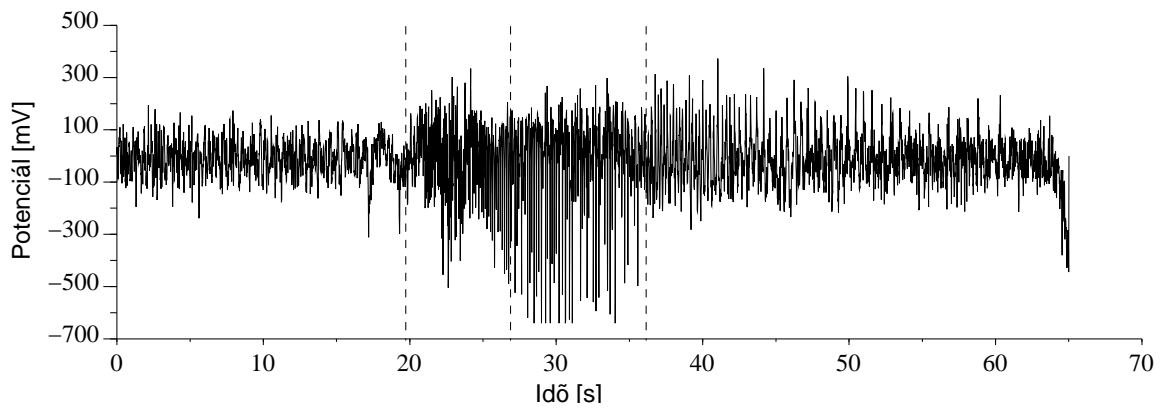
A 4-AP által létrehozott rohamoknak a szakirodalomban 3 szakaszt különböztették meg, amelyek különböznek jellegzetes hullámformáikban, amplitúdójukban, és frekvenciájukban (Perreault és Avoli, 1991). A wavelet transzformáció alkalmazásával az egyes szakaszokra jellemző finomabb részletek és a szakaszokon belüli változások is láthatóvá váltak. A szakaszokat és azok jellegzetességeit egy példa rohamon mutatom be (4.9. ábra). A szakaszok hossza rohamról rohamra változott, de az itt tárgyalt egyéb jellegzetességek mindegyik általam vizsgált rohamra jellemzőek voltak.

A roham első szakasza során az oszcilláció frekvenciája meredeken és közel egyenes ütemben csökken, miközben amplitúdója növekszik. Ebben a szakaszban az oszcilláció frekvenciaspektruma igen monoton, szinte kizárólag egy alaphang és annak felharmonikusai alkotják. A hullámforma közel van a harmonikus szinuszos formához. A roham igen alacsony amplitúdóval  $17\text{ Hz}$  körül csúcsosodó alaphanggal kezdődik amelynek frekvenciája a 7 másodperc hosszú szakasz során  $7\text{ Hz}$ -re csökken (4.10. ábra).

A második, 10 másodperc hosszú, szakaszban megállt a frekvencia csökkenése, az alaphang  $7\text{ Hz}$  körül ingadozott. Az amplitúdó ennek a szakasznak az elején érte el a maximumát, de az egész második szakasz alatt magasan maradt. A spektrum itt zavarosabb, az alaphang mellett nem csak annak felharmonikusai, de sok egyéb frekvencia is feltűnik. E bonyolult felhangrendszerben nagyobb súllyal jelennek meg magas, akár  $50\text{ Hz}$ -et is elérő frekvenciák. Mivel ebben a szakaszban az oszcilláció kevésbé szigorúan periodikus és teljesítménye a magasabb frekvenciák felé haladva lassabban cseng le, összességében inkább kaotikus jelleget mutat.

A harmadik szakaszban a spektrum ismét monotonná válik. A több mint 20 másod-

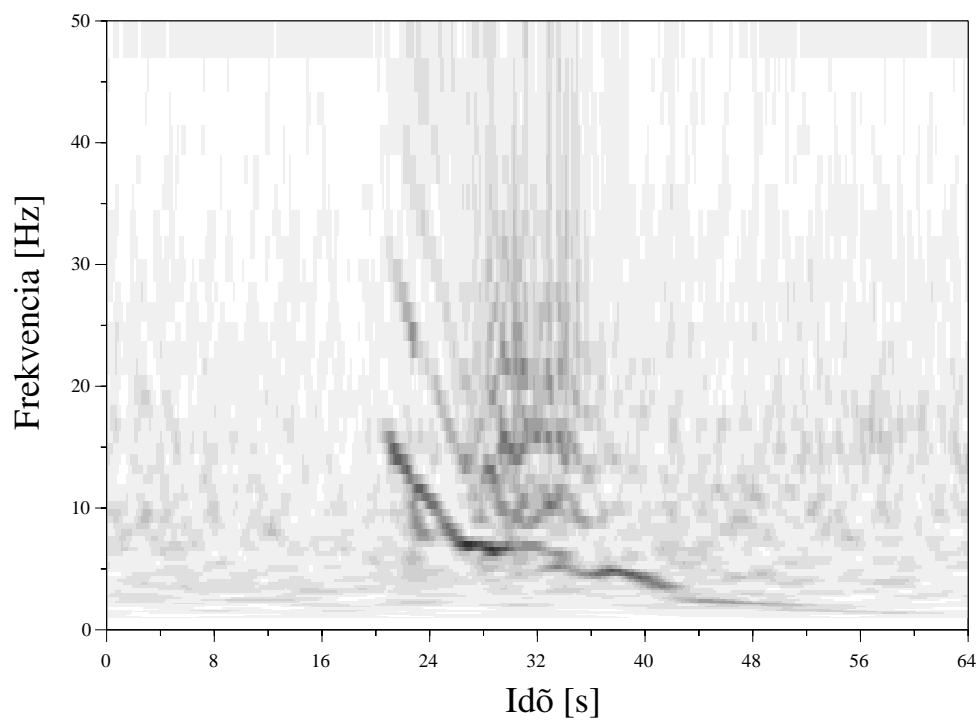




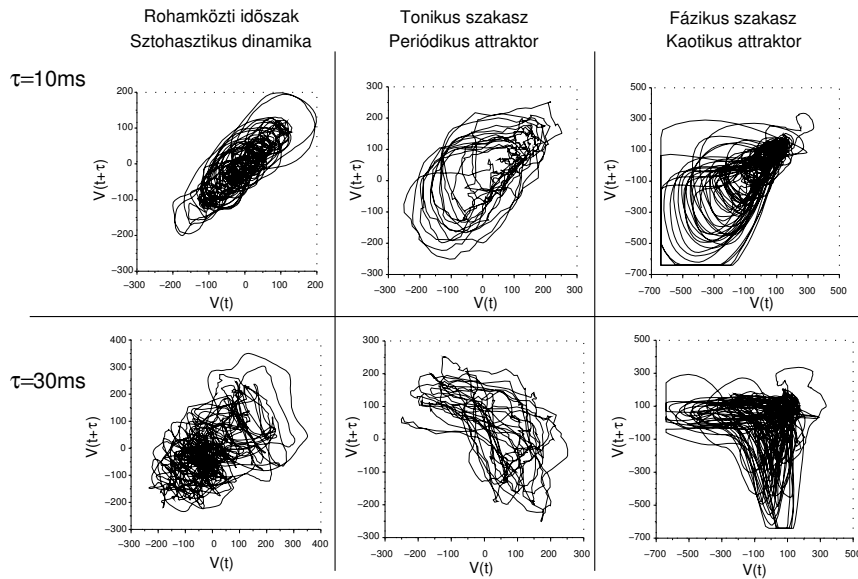
4.9. ábra. Az EKoG alakulása egy epileptikus roham során. A roham első szakasza 20. másodperctől a 27.-ig tart, a második szakasz a 27. másodperctől a 37.-ig, míg a harmadik szakasz a 37. másodperctől a felvétel végéig.

perc hosszú szakasz során az alaphang  $7\text{ Hz}$ -ről előbb  $5\text{ Hz}$ -re csökken, ahol átmeneti teljesítmény növekedés tapasztalható, ezután fokozatosan  $3\text{ Hz}$ -ig lassul, majd a harmadik szakasz és egyben a roham egy  $10 - 12$  másodperc hosszan elnyúló  $1 - 2\text{ Hz}$ -es szintén fokozatosan lassuló oszcillációval fejeződik be. A hullámalak megváltozott a második szakaszhoz képest, eltűntek a második szakaszra jellemző nagy negatív hullámok és nagyobb súlyt kaptak a pozitívak. Ahogyan a roham során eddig is tapasztaltuk, a frekvenciában bekövetkezett változásokat a harmadik szakaszban sem követik az amplitúdó változásai. Míg az oszcilláció folyamatosan lassul, az amplitúdó nem csökken lényegesen, csak a roham utolsó  $4 - 5$  másodpercében.

A leírt eseménysor igen jellemző volt a 4-AP kiváltotta rohamokra, de érzékenynek mutatkozott a görcskészséget befolyásoló egyéb anyagokra. Azok a kísérleti állatok, amelyekben krónikus higanykezelés hatására agyi fejlődési rendellenességek jöttek létre, nagyobb görcskészséget és erősebb rohamtevékenységet mutattak, ugyanakkor a rohamokban nem volt észlelhető a fent leírt koreográfia. Néhány, különösen erős görcstevékenységet mutató esetben, a roham első csökkenő frekvenciájú szakaszát megelőzte egy roham előtti szakasz, amikor az alap EKoG háttéréből kiemelkedett egy rövid növekvő frekvenciájú szakasz, amely a maximumát ott érte el, ahol a roham, illetve a fent vázolt eseménysor elkezdődött.



4.10. ábra. A wavelet együtthatók szürke skálán ábrázolva. A  $x$  tengelyre az időt, az  $y$  tengelyre a frekvenciát mértem fel. A sötétebb szín nagyobb amplitúdót jelez.



4.11. ábra. Az EKoG alapján  $10\text{ ms}$  és  $30\text{ ms}$  késleltetéssel rekonstruált attraktorok a roham előtt, a roham első és második szakaszából.

### 4.3.2. Az epileptikus aktivitást mutató rendszer rekonstruált attraktorának változása a roham során

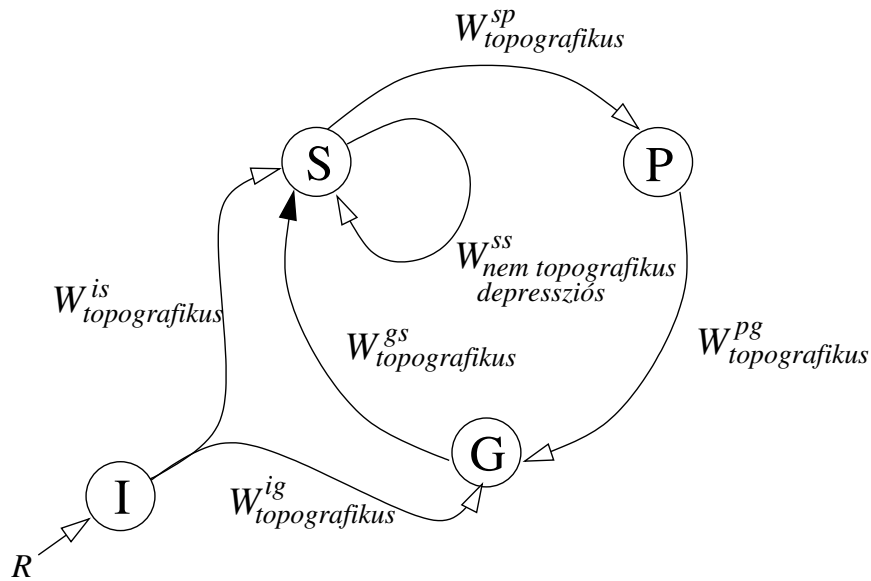
A roham során az EKoG mintázataiban végbemenő változások az azt létrehozó dinamikai rendszer változásaira utalnak. Azért, hogy a dinamikai rendszer változásairól képet kapjunk, elkészítettem a mért EKoG visszatérési leképezéseit, az időben eltoltt EKoG-ot ábrázolva az EKoG függvényében (4.11. ábra). Három rövid időszakot használtam fel a visszatérési képek elkészítéséhez, a roham előtt, a roham első és második szakaszából. A roham előtt,  $10\text{ ms}$  késleltetéssel bonyolult szerkezetű attraktor rajzolódott ki, de  $30\text{ ms}$  késleltetéssel már a korrelálatlan jelekre jellemző körszimmetrikus folt alakult ki. A roham kezdetén alapvetően megváltozik a rendszer attraktorának jellege,  $10\text{ ms}$  késleltetésnél a rohamok közötti állapothoz képest lényegesen periodikusabb attraktor jelenik meg. A hosszabtváú korrelációk erősödése figyelhető meg a  $30\text{ ms}$  késleltetéssel készült visszatérési leképezésen. A rohamok között jellemző szerkezet nélküli kép, egy megtört átlós sávba rendeződik. A roham második, legnagyobb amplitúdójú szakaszában az attraktor szerkezete távolabb kerül a harmonikustól.  $10\text{ ms}$  késleltetéssel vizsgálva,

jellegetes kagylóhéj szerkezet látható, amelynek különböző sugarú íveit nem monoton sorrendben járja be a rendszer. 30 ms késleltetéssel nézve egy L alakzat mentén mozog a rendszer állapotát leíró pont a fázisérben.

### **4.3.3. A 4-aminopiridinnel kiváltott epileptikus rohamok leírására használt modell rendszer**

A jelenségek leírására egy igen egyszerű neuronhálózati modellt készítettem, amely a nagyagykérgi idegsejt hálózatok néhány alapvető tulajdonságát ragadja meg, ugyanakkor egyszerűsége mellett az észlelt jelenségek számos tulajdonságát tükrözi, segítve ezzel a jelenségek mögött húzódó folyamatok megértését. A szimulációkat szintén a Scilab programmal készítettem (Gomez, 1999). A hálózat kapcsolataiban néhány egyszerű elveket igyekeztem figyelembe venni: Az agykéregbe érkező szenzoros ingerület bizonyosan szétterjed a serkentő idegsejtek közötti laterális, asszociációs kapcsolatokon keresztül. Mivel az asszociációs kapcsolatokat sokban befolyásolják a külvilágból származó ingerek, ezért modellemben az  $S$  populáció sejtjei között véletlen kapcsolatok szövedéke írta le a genetikailag előre nem meghatározott kapcsolat rendszert. Az előrecsatolt gátlást – amely a serkentő ingerrel együtt, sőt néha még azt megelőzve érkezik meg az agykéregbe – kimutatták a thalamikus bemenetben (Mitzdorf, 1985). A visszacsatolt gátlás egy olyan általános szabályozástechnikai elv, amely biztosítja a serkentő kapcsolatokon szétfutó ingerület mennyiségének fékmentartását. Természetesen hasonló alapelveket számos különböző hálózattal meg lehet valósítani. Például nem szükségszerű, hogy az előrecsatolt és a visszacsatolt gátlás ugyan azt a gátlósejt-populációt használja, ugyanakkor a visszacsatolt gátlás nem feltétlenül egy serkentő populáció közvetítésével kaphatja csak a serkentést. A megvalósítás sokban különbözhet, de fenti alapelvek szinte bizonyosan részei lesznek egy majdani részletes és hűséges agykéreg modellnek.

Az idegsejtek viselkedését – a lehető legegyszerűbb módon – McCulloch-Pitts típusú modell sejtekkel írtam le. Az agykérgi neuronhálózat modell egy bemeneti, két belső ser-



4.12. ábra. Az agykérgi hálózat modellem szerkezete. A körök sejtpopulációkat, a világos nyilak serkentő, míg a sötét nyilak gátló kapcsolatokat jelölnek.

centő és egy belső gátló neuronpopulációból épült fel, amelyeket rendre  $I, S, P, G$  betűkkel jelöltem (4.12. ábra). A képletekben az  $i, s, p, g$  felső indexek jelölik a négy populációt jellemző mennyiségeket és  $is, ig, ss, sp, pg, gs$  felső indexek a populációk közötti kapcsolatokat. Mind a négy sejtpopuláció 40 sejtet tartalmazott, a képletekben a mennyiségek alsó indexe mutat a populáció egy konkrét sejtjére.

A sejtek belső állapotát egy valós szám, a membránpotenciáljuk írta le amelyet a megfelelő indexel ellátott  $V$  jelölt.  $V$  a sejthez érkező bemenetek súlyozott összegeként állt elő és a  $th$  küszöbvel ellátott  $\Theta$  küszöbfüggvényen keresztül határozta meg a sejt kimenő aktivitását, amely 0 vagy 1 értéket vehet fel és amelyet a populációknak megfelelő felső indexszel ellátott  $A$  betűk jelölnek. A receptorok felől érkező bemeneti ingereket a bemeneti  $I$  populáció minden egyes sejtjéhez minden időpillanatban egyenletes eloszlással

választottam a  $[0, 1]$  intervallumból és  $r$ -rel jelöltem:

$$A_m^i(t) = \Theta(r_m(t) - th^i) \quad (4.6)$$

$$A_j^s(t) = \Theta(V_j^s(t) - th^s) \quad (4.7)$$

$$A_e^p(t) = \Theta(V_e^p(t) - th^p) \quad (4.8)$$

$$A_l^g(t) = \Theta(V_l^g(t) - th^g) \quad (4.9)$$

Az egyes populációk küszöbei a következők voltak:  $th^i = 0.8$ ,  $th^s = 0.8$ ,  $th^p = 6.4$ ,  $th^g = 1.6$ .

A sejtpopulációk egyes sejtei közötti kapcsolatokat alul-felül indexelt  $w$  betűk, míg az általános kapcsolat erősségeket fölül indexelt  $c$  betűk jelezik. A  $w$  felső indexe a két populációt jelzi, amelyek között a kapcsolat fennáll, az alsó két index pedig a pre- illetve posztszinaptikus sejtet jelöli a küldő, illetve a fogadó populáción belül. A sejt populációk között az ingerület többnyire topografikusan rendezett kapcsolatrendszereken keresztül terjedt, ez alól csak a  $S$  populációból önmagára visszavetítő kapcsolatrendszer volt kivétel. A topografikusan rendezett, azaz a szomszédsági viszonyokat nagy léptékben megtartó kapcsolatrendszerek leírására olyan kapcsolatmátrixot választottam, amely csak a főátló körül  $\pm 7$  sejt széles sávban tartalmazott nem nulla elemeket, amelyeket a  $[0, 1]$  tartományból választottam egyenletes eloszlással. Ez azt jelenti, hogy a kapcsolatot küldő populáció egy sejtje, a fogadó populáció megfelelő sejtjének 7 sejt sugarú környezetébe vetít. Az  $S$  populáció auto-asszociációs kapcsolatrendszere ellenben teljesen véletlenszerű kapcsolatokról épült fel, minden sejtnek minden sejttel meglévő kapcsolatának erejét a  $[0, 1]$  tartományon értelmezett egyenletes eloszlásból választottam. Az aktivitás terjedését a populációk között tehát a következő képletek írják le:

$$V_j^s(t) = c^s V_j^s(t-1) + c^{is} \sum_m w_{jm}^{is} A_m^i(t-1) + \quad (4.10)$$

$$+ c^{ss} \sum_k w_{jk}^{ss} d_k^{ss}(t-1) A_k^s(t-1) + c^{gs} \sum_l w_{jl}^{gs} A_l^g(t-1)$$

$$V_e^p(t) = c^{sp} \sum_q w_{eq}^{sp} A_q^s(t-1) \quad (4.11)$$

$$V_l^g(t) = c^{ig} \sum_m w_{lm}^{ig} A_m^i(t-1) + c^{pg} \sum_e w_{le}^{pg} A_e^p(t-1) \quad (4.12)$$

$$(4.13)$$

A szimulációk során a következő általános kapcsolat erősség paramétereit alkalmaztam:  $c^{is} = 1$ ,  $c^{ss} = 2.2$ ,  $c^{sp} = 1$ ,  $c^{ig} = 1$ ,  $c^{pg} = 3$ ,  $c^{gs} = -3$ . Az  $S$  populáció sajátossága, hogy az aktivitása nem pillanatszerűen tűnik el, hanem a  $c^s = 0.7$  lecsengési időállandó által meghatározott időskálán exponenciálisan cseng le.

A hálózat sejtjeinek kifáradását, amit a szinaptikus ingerület átvivő anyagok kiürülése a szinapszisokból, illetve a nyugalmi állapotra jellemző ionkoncentráció viszonyok felborulása okoz, a  $d$  depressziós tényezővel írtam le. Ennek dinamikáját két tényező határozta meg: egyrészt egy folyamatos töltődés, amely a maximálisan feltöltött 1 értékhez közelíti  $d$  értékét, ennek sebességét a  $c^{d+}$  töltődési paraméter határozza meg, másrészt egy használattal arányos fogyás. Az egy tüzelés során elhasznált erőforrás mennyiségét  $c^{d-}$  jelöli.

$$d_k^{ss}(t) = d_k^{ss}(t-1) + c^{d+} (1 - d_k^{ss}(t-1)) - c^{d-} A_k^s(t-1) \quad (4.14)$$

A töltődési paraméter  $c^{d+} = 0.01$ , a fogyási  $c^{d-} = 0.005$ . volt a szimulációk során.

Az EKoG létrehozásában a legfontosabb szerepet a serkentő posztszinaptikus potenciálok (EPSP) játsszák (Mitzdorf, 1985). A posztszinaptikus sejt is lehet serkentő, illetve gátló. A nagyagykéregben a serkentő sejtek számarányát, illetve dendritikus arborizációját figyelembe véve, az EPSP-k túlnyomó többsége a piramis sejtek felszínére érkezik.

Ezért a hálózat aktivitásának értékelésekor csak a serkető sejtek közötti összes szinaptikus aktivitást vettem alapul. Az  $S$  populáció sűrű belső kapcsolatrendszere és az állandó bemeneti ingerlés következtében meghatározó szerepet játszott az EPSP-k létrehozásában. Így a következő két tag mellett az EPSP-k egyéb forrásai elhanyagolhatónak bizonyultak. A fenti megfontolások alapján a modell EKG frekvenciáját így a következő mennyiséggel jellemeztem:

$$V_{EPSP}(t) = c^{is} \sum_j \sum_m w_{jm}^{is} A_m^i(t) + c^{ss} \sum_j \sum_k w_{jk}^{ss} d_k^{ss}(t) A_k^s(t) \quad (4.15)$$

A McCulloch-Pitts modell neuron eredeti célja szerint az idegsejtek működését inkább logikai mint élettani szempontól igyekszik leírni (McCulloch és Pitts, 1943), ezért élettani folyamatok modellezése során külön figyelmet kell szentelni a modell értelmezésének. A McCulloch-Pitts modellt általában diszkrét időpillanatokon értelmezik, így tettem én is. A modellben a kimenő jelet nem követi refrakter szakasz, a sejt akár több egymást követő időlépésen keresztül aktív maradhat. Ezt a folyamatos aktív állapotot úgy tekinthetjük, mint amikor a sejt az élettanilag lehetséges legnagyobb frekvenciával tüzel. Tehát az állandó nagy értékű kimenetet mint magas tüzelési frekvenciát értelmezhetjük. Ha ellenben az átlagos aktivitási szint a sejt küszöbéhez képest alacsony, és így az aktív állapotot a sejt csak ritkán és akkor is csak rövid időre éri el, akkor az átlagos tüzelési frekvencia alacsony, ezzel szemben a modellneuron nem állandó alacsony értékeket, hanem hosszú szünetekkel pillanatszerűen magas értékeket ad. Ekkor a pillanatszerű aktív állapot jobban hasonlít egy tüzelés modelljére. Hogy ezt az ellentmondást feloldjuk, tekintsük a következő értelmezést: Osszuk fel az időt pontosan egy tüzelés hosszúságú szakaszokra, ahol az egy tüzelés hossza a refrakter periódussal együtt értendő. Ekkor minden egyes időszak során a bekövetkező tüzelések száma 0 vagy 1. Így az időegység alatt mért kimeneti aktivitás összege az akciós potenciálok számával egyenlő, és ezeket a számokat egy populáció sejtjeire felösszegezve az adott sejtcsoport által kibocsájtott akciós



potenciálok frekvenciáját kapjuk.

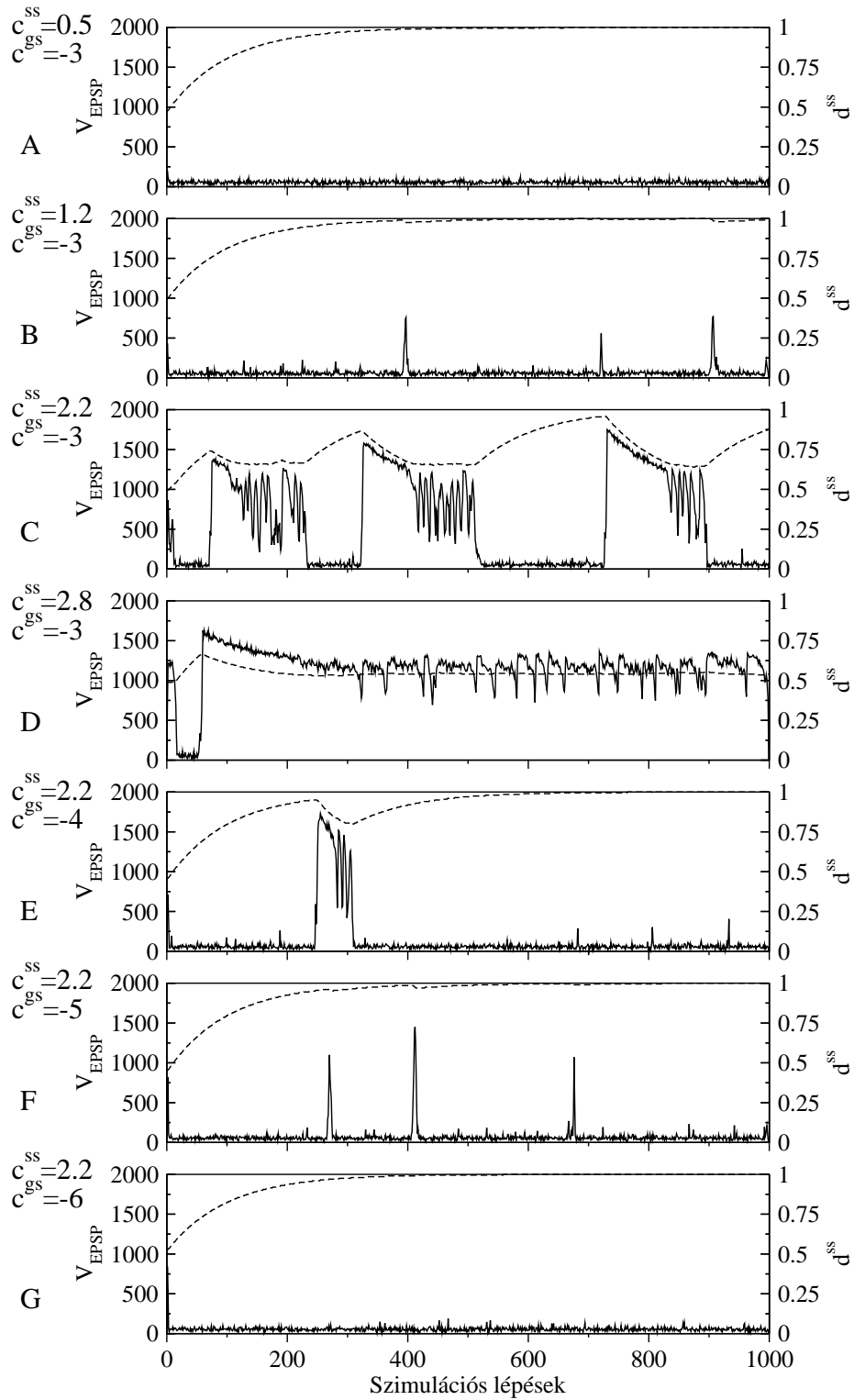
Bár az összes kimenő aktivitás frekvencia jellegű mennyiség, a mért EKoG frekvenciájával vont analógia nem tökéletes, hiszen a mérhető elektromos potenciál nem csak az egyes neuronok tüzelési frekvenciájától, de azok egymáshoz viszonyított fázisától, szinkronizációjától is függ, erről pedig a használt modellkeret nem mond semmit. Hasonló kérdés vetődik fel a szinaptikus fáradás EKoG módosító hatását illetően is: A szinaptikus fáradás egyértelműen csökkenti az összes posztzinaptikus áramot, de hogy ez a csökkenés az EKoG frekvenciájában, vagy amplitúdójában jelentkezik-e, azt a hálózat sejtjeinek tüzelési fázisai döntenek el. E modell egyszerűsége miatt nem tekinthető a nagyagykérgi neuronhálózat részletes és valóságos modelljének, ugyanakkor viselkedése sok szempontból hasonlít a mért jelenségekre, így az jelenségek mögött meghúzódó folyamatok jobb megértéséhez hozzásegíthet.

#### **4.3.4. A 4-AP-val kiváltott epileptikus rohamok szimulációja**

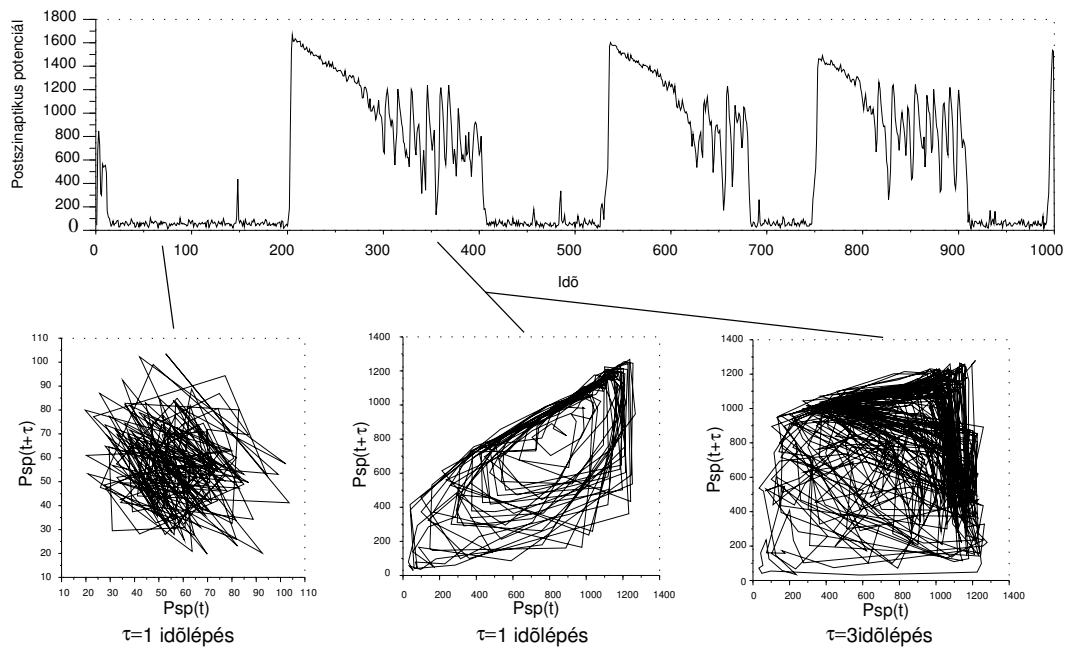
A szakirodalom az epilepszia fő mozgatórugójának az agykérgi hálózatokban a gerjesztés és gátlás arányának eltolódását tartja. A 4-AP is valószínűleg ilyen hatást fejt ki az agykéregben, a  $K^+$  áramok csökkentésével és a  $Ca^{2+}$  ionok hatékonyságának növelésével (Chagnac-Amitai és Connors, 1989), ezért modellemben én is elsősorban a gerjesztés-gátlás arányának hatását vizsgáltam a hálózat dinamikájára.

A hálózat dinamikájának változásait az öngerjesztési paraméter  $c^{ss}$  függvényében vizsgáltam (4.13. ábra). A megadott paraméterekkel, és  $c^{ss} < 0.7$  tartományban a hálózat alacsony aktivitási szinten van (4.13. A ábra). Az  $S$  és a  $G$  populáció, az  $I$  populáción keresztül folyamatosan kap külső ingereket, ezek az ingerek azonban csak kicsiny és rövid idejű változásokat okoznak a rendszer állapotában. A rendszer állapotát leíró pont, a Brown-mozgásra emlékeztető véletlenszerű mozgást végez a fázistérben (4.14. ábra bal oldal).

Ha az öngerjesztés mértékét növeljük,  $1.5 > c^{ss} > 0.7$  között nagy amplitúdójú tüskék jelennek meg a szimulált EKoG görbén (4.13. B ábra). Ez a jelenség a bistabilitás



4.13. ábra. A modell viselkedésének paraméterfüggése. A hálózat aktivitását a serkentő posztszinaptikus potenciálok pillanatnyi összegével jellemeztem, amelyet folyamatos vonal jelez és a baloldali skála mér önkényes egységekben, míg a szaggatott vonal és a jobboldali skála a szinaptikus depresszió pillanatnyi átlagát mutatja a hálózatban. Az időtengelyek azonosak minden esetben.



4.14. ábra. A modell aktivitását jellemző  $V_{EPSP}(t)$  mennyiség alakulása a szimulált rohamok során. A szimulált  $V_{EPSP}(t)$  alapján 1 időlépés késleltetéssel rekonstruált attraktor az interiktális szakaszból, illetve 1 és 3 időlépés késleltetéssel rekonstruált attraktor a roham második szakaszából.

megjelenését mutatja a rendszerben, az alacsony aktivitású fixpont mellett megjelenik egy másik attraktor és a külső inger időnként képes átlökni a rendszert a magasabb aktivitású tartományba. Ez a magasabb aktivitású állapot azonban csak igen rövid ideig áll fenn, a rendszer gyorsan visszaesik az alacsony aktivitású alapállapotába és hosszabb ideig annak környezetében marad.

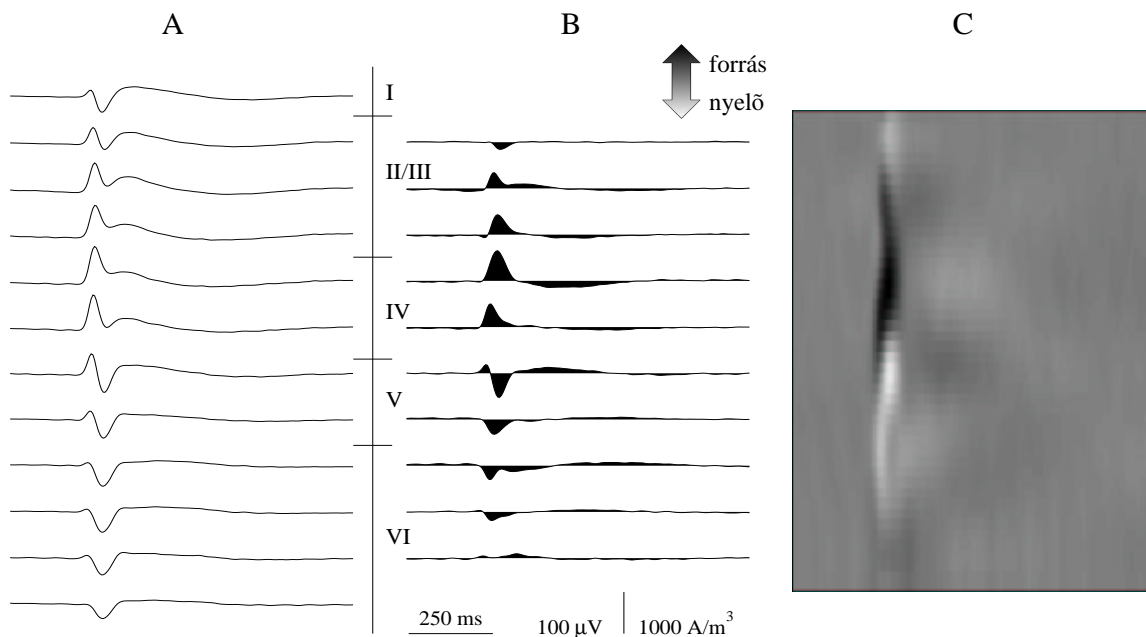
Ha az öngerjesztés erősségét tovább növeljük, a  $2.8 > c^{ss} > 1.5$  tartományban, az alacsony aktivitású szakaszokat komplex belső szerkezettel rendelkező, magas aktivitású rohamok szakítják meg (4.13. C ábra). A rohamok hirtelen indulnak el és azonnal egy teljesen aktív állapotba kerül a rendszer. Azonban a szinaptikus fáradás következtében ez a magas aktivitású állapot csak rövid távon stabil. A magas aktivitás gyorsabban használja el a rendelkezésre álló erőforrásokat, mint ahogy azok töltődni képesek.  $d$  csökkenésével az öngerjesztő kapcsolatok hatékonysága csökken, így csökken az öngerjesztés erőssége és a felső fixpont elveszíti stabilitását. Az öngerjesztés hatékonyságának csökkenésével a rendszer lassan átlép egy új tartományba, ahol nagy amplitúdójú irreguláris oszcilláció jel-

lemzi a hálózat dinamikáját. Ebben az oszcillációs állapotban nagyfrekvenciás szakaszok váltakoznak csöndes szakaszokkal kváziperiódikusan. Míg a teljesen aktív állapotot a  $d$  depressziós tényező monoton csökkenése jellemezte, ebben a szakaszban megáll, illetve nagyon lelassul a depressziós tényező csökkenése,  $d$  értéke véletlenszerűen ingadozik egy egyensúlyi érték körül. Ez a véletlen ingadozás teszi lehetővé, hogy a rendszer az oszcillációs tartományból visszatérjen a stabil alsó fixpont vonzási tartományába. Ha a hálózat visszatért az alacsony aktivitású fixpont környezetébe, ott fogva marad, addig amíg a szinaptikus erőforrások újra töltődnek és  $d$  értéke újra megközelíti a 1-et. Ha a szinapszisok feltöltődtek, a véletlen bemeneti ingereken múlik, hogy a hálózat az alsó fixpontjából mikor lép ismét fel a teljesen aktív állapotba és kezdődik el egy új roham. E dinamika eredménye egy bonyolult viselkedés, amely rövidebb-hosszabb nyugalmi periódusokból áll, amiket hirtelen kezdődő rohamok szakítanak meg. Minden roham végigjárja az események előbb felvázolt sorát, amelyben az egyes szakaszok változó hosszúságúak. Bár a modellbeli aktivitás és a mért EKoG frekvenciája között húzható párhuzam csak korlátozottan érvényes, az egyes rohamok lefutása jelentős hasonlóságot mutat a 4-AP által létrehozott rohamok megfigyelt szerkezetéhez.

Ha az öngerjesztés erősségét tovább növeltem, a rohamok közötti és a rohamon belüli szakaszok aránya csökkent, míg végül a  $c^{ss} > 2.8$  tartományban a rohamok közötti rövid szakaszok eltűnnek, rohamok egybefolynak, megjelenik a status epilepticus (4.13. D ábra).

A modellbeli epileptikus rohamok természetesen elmaradtak, ha az öngerjesztés  $c^{ss}$  paraméterét lecsökkentettem, de nem ez volt az egyetlen lehetőség a rohammentes állapot elérésére. A gátlás erősségének növelésével hasonló hatást lehetett elérni. Ha  $c^{ss} = 2.2$  mellett, a gátlás erősségét meghatározó,  $c^{gs}$  paraméter értékét fokozatosan  $-3$ -ról  $-6$ -ra változtattam, a rohamok fokozatosan ritkultak, rövidültek, csak tüskék maradtak, míg végül a  $c^{gs} < -6$  tartományban teljesen megszűntek (4.13. C, E, F, G ábra).

A modell által létrehozott aktivitás idősorok alapján  $\tau = 1$  időlépés és  $\tau = 3$  időlépés késleltetéssel hasonló visszatérési leképzéseket készítettem, mint a mért EKoG alap-



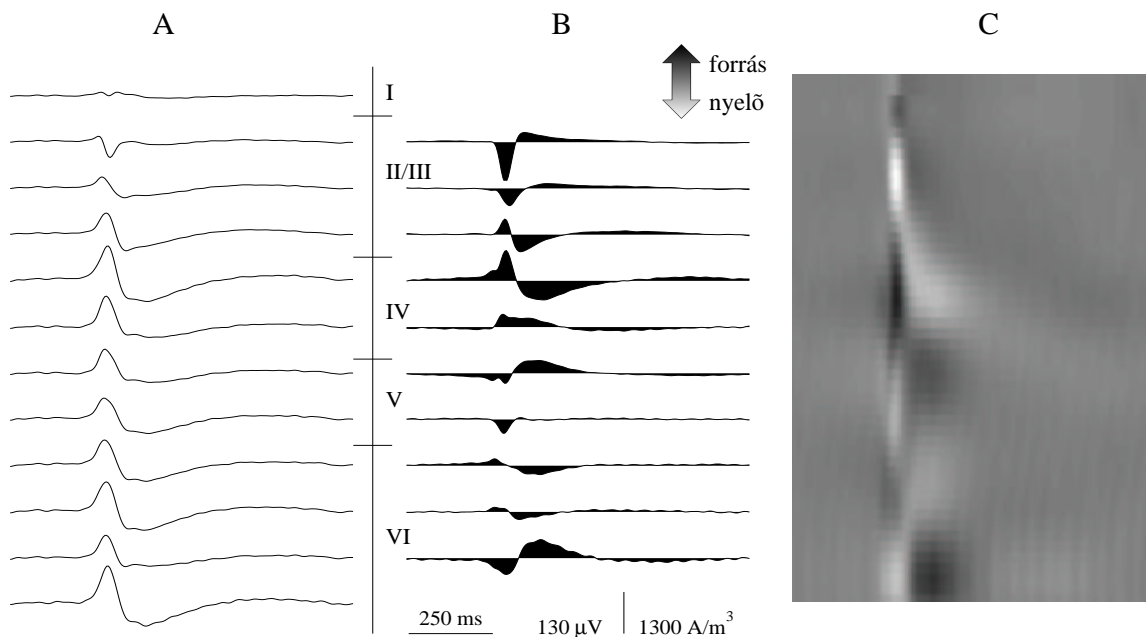
4.15. ábra. A 4-aminopiridin által kiváltott epileptikus aktivitás egy kisülése. A: potenciál, B: CSD grafikon, C: CSD színkódolt térképen

ján és hasonló szerkezeteket, illetve változásokat találtam, mint a mért EKoG esetében (4.14. ábra).

#### 4.3.5. Az agykérgi áramforrás rétegek szerinti eloszlásának jellemzői *in vitro* szeletben kiváltott epileptikus tüske aktivitás során

17 kísérleti állatból, 24 kortikális szeleten vizsgáltam a három görcskeltő által létrehozott epileptikus kisülések során az áramforrás sűrűség eloszlásban megjelenő hasonlóságokat és különbségeket. A kialakult kisülések CSD eloszlása igen változatos képet mutatott, melyből igyekeztem kiszűrni a jellegzetességeket. A jellegzetességeket három kiválasztott példán keresztül mutatom be.

Mindhárom kisüléstípus közös jellemzője volt a IV. rétegben megjelenő, jellegzetesen a negyedik réteg aljától a tetejéig terjedő nagy forrás tag, melyet többé-kevésbé kifejezett módon kísért egy, a hatodik réteg tetejétől az ötödik terjedő nyelő. A késői komponensek jellegzetessége volt két kis amplitúdójú nyelő, amelyek közül az egyik a II.- III. réteg-

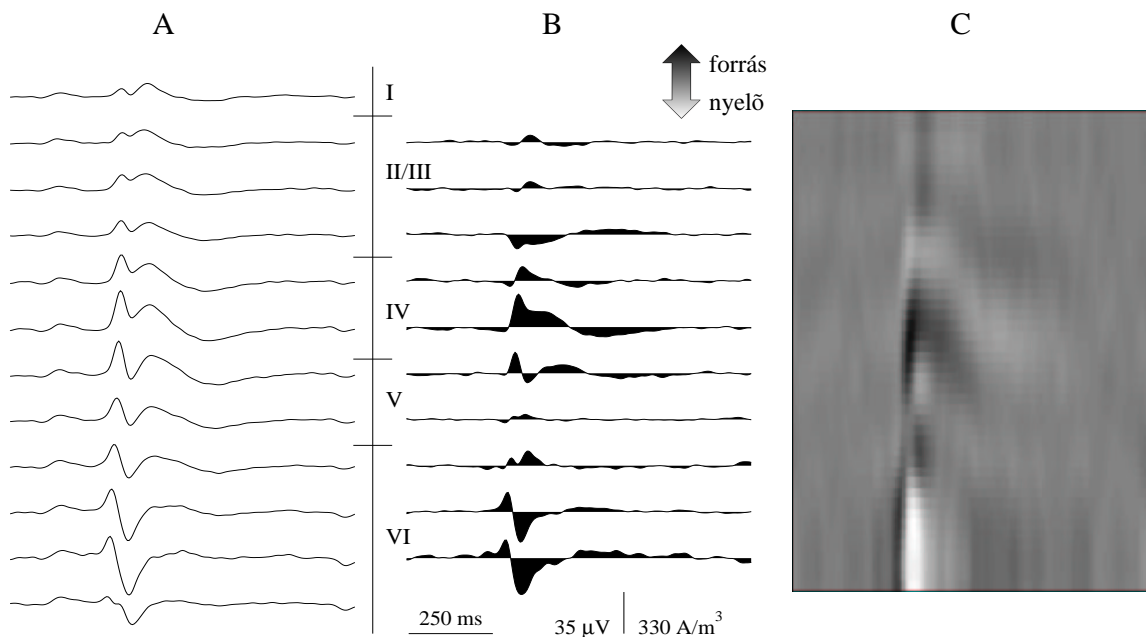


4.16. ábra. A bikukulin által kiváltott epileptikus aktivitás egy kisülése. A: potenciál, B: CSD grafikon, C: CSD színkódolt téridő térképen

ből indult és folyamatos, de viszonylag lassú mozgással az V. rétegbe tolódott át, míg a másik a VI. rétegből indulva szintén folyamatos eltolódás eredményeképpen jutott az V. rétegbe. E két nyelő természetesen minden esetben közrefogott egy hasonlóan kis amplitúdójú forrást a IV. és az V. réteg határán, amely eltűnt a két nyelő találkozásakor. Ezek a tulajdonságok számos szeletben előfordultak, azonban számos kivétel is akadt, a teljes kép így igen nagy változatosságot mutatott.

Az általánosan megfigyelt mintázat alkotóelemek mellé szinte minden esetben társultak egyéb elemek is, egyedivé téve az egyes szeleteket. Ezért az egyes csoportok jellegzetességeinek meghatározása igen nehéz feladat.

Az agykérgi szeletben 4-aminopiridin által kiváltott epileptikus aktivitás két formában jelenik meg. Általában rövid 0.3 – 12 másodpercig tartó kisüléssorozatok formájában jelentkeznek, amelyek az epileptikus agy rohamok közötti, interiktális kisüléseire emlékeztetnek. Ritkán azonban hosszú, 23 – 150 másodpercig tartó folyamatos görcsaktivitás keletkezik, amely jobban hasonlít az epileptikus rohamokhoz. Mivel szeletben e második típus ritka, a jelen vizsgálatban csak az első típusú tüske aktivitás elemzésével foglalkoz-



4.17. ábra. A magnézium-mentes oldat által kiváltott epileptikus aktivitás egy kisülése. A: potenciál, B: CSD grafikon, C: CSD színkódolt térképen

tam. A második típusú roham aktivitás azonban nagyon hasonló az *in vivo*, teljes agyon végzett kísérletekben megjelenő rohamokhoz.

A 4-AP által létrehozott kisülések rövidek és viszonylag egyszerű szerkezetűek voltak. Az általános jellemzők között már említett negyedik rétegbeli forrás és ötödik rétegbeli nyelő mellé csak ritkán csatlakozott jelentősebb aktivitás az első vagy a hatodik rétegben. Ezen kívül a már szintén említett kis amplitúdójú késői komponensek jellemezték a CSD eloszlást (4.15. ábra).

A BMI kisülések CSD képeinek legjellemzőbb eleme volt egy erős nyelő a harmadik rétegben, amely gyakran illeszkedett egy lefelé ereszkedő sorozatba, amely az első rétegből indult, a második-harmadik rétegben folytatódott, végül az ötödik réteg tetejéig ereszkedett alá. Az első és a hatodik réteg aktivitása mutatta a legnagyobb változékonyságot szeletről szeletre (4.16. ábra).

A magnézium-mentes oldatban tárolt szeletek jellegzetes, 4-6 tüskéből álló kisülés-sorozatokat mutattak, amelyek CSD képe egymáshoz igen hasonló volt, de az első tüske lényegesen hosszabb ideig tartott mint az azt követők. A kisülések CSD eloszlása nagy

vonalakban hasonlított a BMI kezelt szeletekre, de egy igen nagy nyelő mutatkozott a hatodik rétegben (4.17. ábra).

## 4.4. A véletlen Boole-hálózatok dinamikájának analitikus leírása

### 4.4.1. A hálózat felépítése

A véletlen Boole-hálózatok egy osztályát a hálózatot alkotó csomópontok  $N$  számával és az egyes csomópontokba futó élek  $K$  számával jellemezhetjük. A befutó élek száma természetesen megegyezik a csomópontokból kiinduló élek számának várható értékével. Az  $N$ ,  $K$  osztály egy képviselőjének megalkotásánál a következőképpen járunk el: A hálózat minden egyes csomópontjában elhelyezünk egy véletlenül választott Boole-függvényt. A  $K$  bemenettel rendelkező Boole-függvények száma  $2^{2^K}$  és minden egyes függvényt egyenletes eloszlással választunk ki az összes lehetséges közül. Ezután minden csomóponthoz kiválasztunk  $K$  csomópontot, hogy annak bemenetét szolgáltatassák, szintén egyenletes eloszlással a teljes hálózat  $N$  csomópontja közül. Az így megszerkesztet hálózatot ezután változatlanul tartottuk, befagyasztottuk a szimuláció során.

### 4.4.2. Hálózati dinamika

A csomópontoknak két,  $ki$ , illetve  $be$  kapcsolt állapota volt. A szimuláció kezdetén minden csomópontot véletlenszerűen állítottam  $ki$  vagy  $be$  kapcsolt állapotba. A csomópont állapota egyben az az érték, amit a kapcsolatain keresztül továbbad, azaz a csomópont kimeneti értéke. A hálózat működése a következő: Minden időlépésben minden csomópont elküldi kimeneti értékeit a vele összekötött csomópontoknak. A csomópontba érkező  $K$  darab érték képezi a csomópont Boole-függvényének bemeneteit amihez a csomópont Boole-függvénye egy kimenetet rendel. Így a teljes hálózat minden csomópontja szinkronizáltan újítja meg az állapotát és a folyamat kezdődik előlről a következő időlépésben.



A rendszer állapotát tehát  $N$  csomópont állapota, azaz egy  $N$  dimenziós bináris vektor definiálja, állapotterét pedig egy  $N$  dimenziós hiperkocka csúcspontjai alkotják. Az állapotter elemeinek, azaz a hálózat lehetséges állapotainak a száma véges:  $2^N$ , ugyanakkor igen gyorsan nő a hálózat méretével. Mivel egy adott hálózat megalkotása után, mind a kapcsolatokat, mind a csomópontok Boole-függvényeit változatlanul tartottuk, a rendszer dinamikája determinisztikus, egy adott állapotból mindig ugyanabba az állapotba lép tovább. Mivel az állapotter véges, a rendszer dinamikai fejlődése során előbb, vagy utóbb eljut az állapotter egy olyan pontjába, amelyet már korábban meglátogatott. Ha ez bekövetkezett, a determinisztikus dinamika eredményeképpen a rendszer hurokba került, újra és újra végigjárja a hurkot alkotó állapotokat. A trajektóriák, amelyeket a rendszer egy-egy kezdeti pontból indítva bejárhat tehát egy a hurokig tartó tranziens szakaszból és a hurkot alkotó állapotciklusból állnak. A tranziens szakasz határesetben nulla hosszúságú is lehet, ha a kezdeti állapot a hurkon található, a hurok pedig határesetben egy elemű is lehet, ekkor a rendszer fix pontba kerül. Az állapotciklus minden pontjába befuthat akár több tranziens szakasz és különböző kezdeti állapotból induló tranziens trajektóriák konvergálhatnak, hogy közös úton fussanak az állapotciklusukba. Az állapotciklus egy pontjába futó tranziens állapotok tehát általános esetben egy fa struktúrát alkotnak, azon tranziens trajektóriák összessége pedig, amelyekből a rendszer eljut az állapotciklusba alkotják az állapotciklus vonzási tartományát. Egy hálózatnak legalább egy, de egyszerre akár sok állapotciklusa lehet, ilyenkor a kezdeti állapot dönti el, hogy az autonóm időfejlődés során melyik ciklusába érkezik meg a rendszer. Összefoglalva megállapíthatjuk, hogy a véletlen hálózati szerkezet a valódi térben egy gazdag dinamikai struktúrát hoz létre az állapotterben. Ez a dinamikai struktúra sokban emlékeztet egy folytonos állapotterű és idejű dinamikai rendszer tulajdonságaira. Ebben az analógiában az állapotciklusok az attraktoroknak felelnek meg, melyeknek mindkét rendszerben megvan a maguk vonzási tartománya. Különbség azonban, hogy e diszkrét dinamikai rendszerekben egy attraktor vonzási tartománya általában nem topológiailag összefüggő. Ennek ellenére a stabilitás fogalmát is kiterjeszthetjük a diszkrét dinamikai rendszerekre, mint annak a va-

lőszínőségét, hogy egy kicsiny perturbáció után a rendszer ugyan abba az állapotciklusba tér vissza.

Munkámban az állapotciklus hosszának és a ciklusig vezető tranziens hosszának függését vizsgáltam a hálózat két paraméterének, a hálózat méretének és az egy csomópontra eső kapcsolatok számának függvényében. A vizsgált mennyiségeket mint az összes lehetséges hálózat szerkezet, az összes lehetséges Boole-függvény kiosztás és az összes lehetséges kezdeti állapot fölött vett átlagértéket vizsgáltam és ezt az átlagot felülvonással jelöltem.

#### 4.4.3. A lépéshossz változásainak leírása

Tekintsük a rendszer első lépését, azaz az átmenetet az első és a második állapot között. Mivel a kezdeti értékeket és a Boole-függvényeket egyenletes eloszlással választottuk, ezért a második állapot szintén egyenletes eloszlással oszlik el az állapottérben. A lépéshosszát, mint a két állapot Hamming-távolságát, azaz a különböző állapotban található csomópontok számát értelmezzük. Két egyenletes eloszlással választott pont távolságának valószínűség sűrűség függvénye (VSF), azaz az első lépés  $l_1$  hosszának eloszlása:

$$p(\lambda_1 = l_1) = \binom{N}{l_1} \left(\frac{1}{2}\right)^N \quad (4.16)$$

Az első és a második állapotot összehasonlítva látható, hogy a megváltozott kimenetek száma szintén  $l_1$ . Követve Derrida és Pomeau (1986) számításait, annak a valószínűsége, hogy pontosan  $m$  olyan csomópont található a hálózatban, amelynek az összes bemenete a változatlan kimenetű  $N - l_1$  csomóponttól származik:

$$p(\mu = m) = \binom{N}{m} \left(\frac{N - l_1}{N}\right)^{Km} \left(1 - \left(\frac{N - l_1}{N}\right)^K\right)^{N-m} \quad (4.17)$$

Tehát  $m$  olyan csomópont van, amelynek egyetlen bemenete sem változott meg és  $N - m$  amelyiknek van legalább egy megváltozott bemenete. Mivel a Boole-függvényeket

egyenletesen választottuk ki, minden függvény amelynek legalább egy bemenete megváltozott,  $1/2$  valószínűséggel változtatja meg a kimenetét. Így a második és a harmadik állapot különbségének, azaz a második lépés hosszának  $l_2$ -nek VSF-e a következő:

$$p(\lambda_2 = l_2) = \sum_{m=0}^N p(\mu = m) \left(\frac{1}{2}\right)^{N-m} \binom{N-m}{l_2} \quad (4.18)$$

Elhanyagolva a lépések közötti korrelációt és elvégezve az összegzést  $m$ -re, kifejezhetjük az  $n + 1$ -dik lépés hosszát az  $n$ -dik függvényében:

$$p(\lambda_{n+1} = l_{n+1} \mid \lambda_n = l_n) = \binom{N}{l_{n+1}} \left(\frac{1}{2} + \frac{1}{2} \left(1 - \frac{l_n}{N}\right)^K\right)^{N-l_{n+1}} \left(\frac{1}{2} - \frac{1}{2} \left(1 - \frac{l_n}{N}\right)^K\right)^{l_{n+1}} \quad (4.19)$$

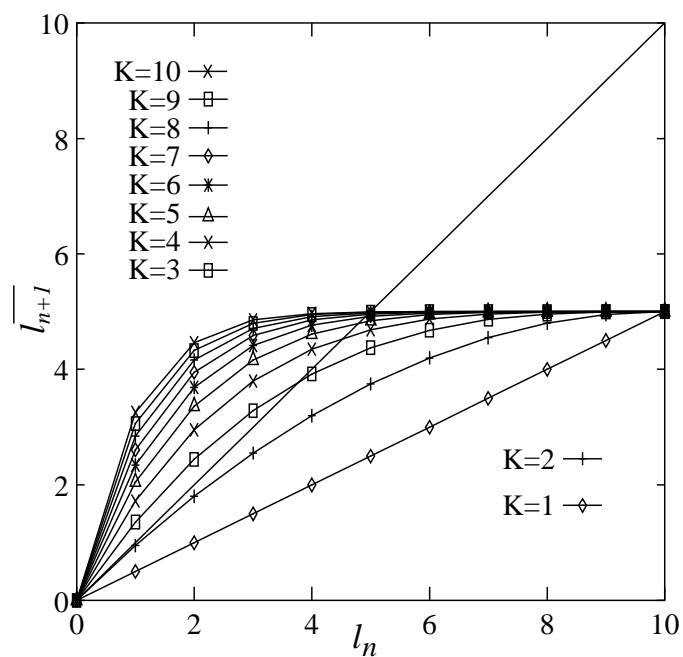
Ennek feltételes várható értéke:

$$\overline{\lambda_{n+1} \mid \lambda_n = l_n} = \frac{N}{2} \left(1 - \left(1 - \frac{l_n}{N}\right)^K\right) \quad (4.20)$$

Az eloszlásokat várható értékükkel közelítve rekurzív képletet kaptam, amely az egymást követő lépések hosszának determinisztikus időfejlődését írja le.:

$$l_{n+1} = \frac{N}{2} \left(1 - \left(1 - \frac{l_n}{N}\right)^K\right) \quad (4.21)$$

A 4.18. ábra az  $n + 1$ -dik lépés hosszának várható értékét mutatja az  $n$ -dik függvényében,  $K$  különböző értékei mellett,  $N = 10$ -nél. Erről a visszatérési leképezésről leolvashatók a lépéshossz változásának dinamikai és stabilitási viszonyai.  $K = 1$  esetében a visszatérési függvény egy  $1/2$  meredekségű egyenes, amely az azonosság leképezéshez tartozó,  $1$  meredekségű egyenest a nullában metszi. Ez ennek a leképezésnek egyetlen és stabil vonzó fixpontja. Véges lépéshosszból indulva a lépéshossz minden lépésben feleződik és exponenciálisan tart a nullához.  $K \geq 3$  esetben a nulla instabillá válik, mellette azonban



4.18. ábra. A lépéshossz fejlődését leíró visszatérési leképezés. A következő lépés hosszának várható értékét  $\overline{l_{n+1}}$  ábrázoltam az előző lépés hosszának  $l_n$  függvényében,  $N = 10$  elemszámú hálózatban, miközben a kapcsoltság  $K = 1$ -től 10-ig változik.  $K = 1$  és  $K = 2$  esetben csak egyetlen fixpont létezik, a 0-nál és az stabil.  $K \geq 3$  esetben a 0 fixpont instabillá válik és egy másik stabil fixpont jelenik meg. E második fix pont pozíciója gyorsan konvergál  $N/2$ -höz ha  $N$  és  $K$  minden határon túl nő.

megjelenik egy stabil fixpont, amely már  $K = 3$  esetében is közel van az  $N/2$  értékhez,  $K$  további növelésével pedig gyorsan konvergál hozzá. Ebben a paraméter-tartományban a lépéshossz nem csökken, hanem véges értékhez tart. A  $K = 2$  képezi a határesetet a két fázis között. A  $K = 1$  esethez hasonlóan csak egy vonzó fixpont létezik a nullában, azonban grafikon itt nem metszi az identitást, hanem hozzásimul. Ez azt mutatja, hogy a lépéshossz nem exponenciálisan, hanem annál sokkal lassabban,  $1/n$ -nel arányosan tart a nullához, ahol  $n$  a lépésszám. Ez a lassú, hatványfüggvény jellegű, skálamentes lecsengés a kritikus rendszerek sajátja és lehetővé teszi igen nagy fluktuációk kialakulását a rendszerben. Ha  $K$  és  $N$  minden határon túl nő, a 4.19. egyenlet tart a 4.16. egyenlet által leírt binomiális eloszláshoz. Ekkor az egymás után következő lépések egyenletesen oszlanak el az állapottérben és visszakapjuk a véletlen leképzés közelítést.

#### 4.4.4. Az állapottér-összehúzóds és az önelkerülő bolyongás leírása

Ezekután a rendszer viselkedését, önelkerülő véletlen bolyongásként írtam le egy összehúzóds állapottérben. Az állapottér összehúzóds ebben az esetben azt jelenti, hogy bizonyos csomópontok, illetve csomópont halmazok "befagynak". A befagyás során egy csomóponthalmaz olyan állapotba kerül, hogy a hálózat többi része felől érkező jelek többé már nem tudják megváltoztatni az állapotát. Ez többnyire azokkal a csomópont csoportokkal történik meg, amelyek bemeneteik nagy részét egymástól kapják, illetve nem érzékenyek a kívülről érkező bemenetekre. A pillanatnyi állapottér  $V_n$  méretét, azaz elemszámát visszafelé, a pillanatnyi átlagos lépéshossz alapján becsültem meg:

$$V_n = 2^{N(1-(1-\frac{1}{N})^K)} \quad (4.22)$$

Az önelkerülő bolyongás során a rendszer minden időlépésben véletlenül választ egy új állapotot, addig amíg egy olyan pontba érkezik, amelyet útja során egyszer már meglátogatott. Ha az állapottér közben összehúzóds, a korábban meglátogatott pontok közül néhány kívül rekedhet a pillanatnyi állapottéren. Jelöljük  $b_n$ -nel az  $n$ -dik lépésben még el-

érhető és már meglátogatott pontok számát. Feltételezhetjük, hogy  $b_n$  csökkenése arányos az állapottér méretének csökkenésével:

$$b_{n+1} = b_n \frac{V_{n+1}}{V_n} + 1 \quad (4.23)$$

mivel  $b_1 = 1$ :

$$b_{n+1} = 1 + V_{n+1} \sum_{k=1}^n \frac{1}{V_k} \quad (4.24)$$

A fenti mennyiségek felhasználásával felírhatjuk az dinamikai struktúrát jellemző mennyiségeket.

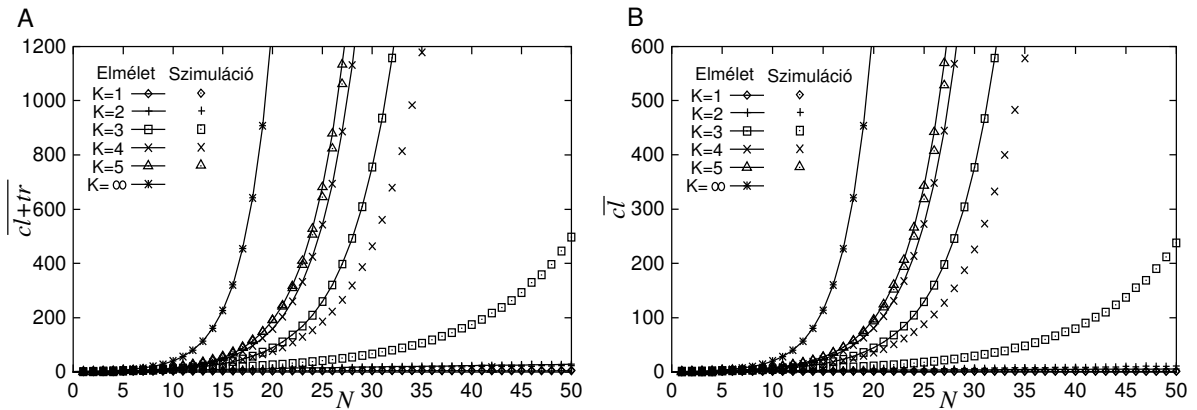
Az önelkerülő véletlen bolyongás hossza, azaz a lépések száma, amely ahhoz szükséges, hogy a rendszer belépjen egy már meglátogatott pontba egyenlő a tranziens szakasz és az állapotciklus hosszának  $tr + cl$  összegével. Annak a valószínűsége, hogy a rendszer az  $n$ -dik lépésben találkozik a múltjával:  $b_n/V_n$ . Ahhoz, hogy ez éppen az  $n$ -dik lépésben történjen meg először, az szükséges, hogy a megelőző  $n - 1$  lépésben a rendszer elkerülje a múltját, az  $n$ -dikben pedig megtalálja azt:

$$p(cl + tr = n) = \sum_{l_1=0}^N p(\lambda_1 = l_1) \frac{b_n}{V_n} \prod_{k=1}^{n-1} \left(1 - \frac{b_k}{V_k}\right) \quad (4.25)$$

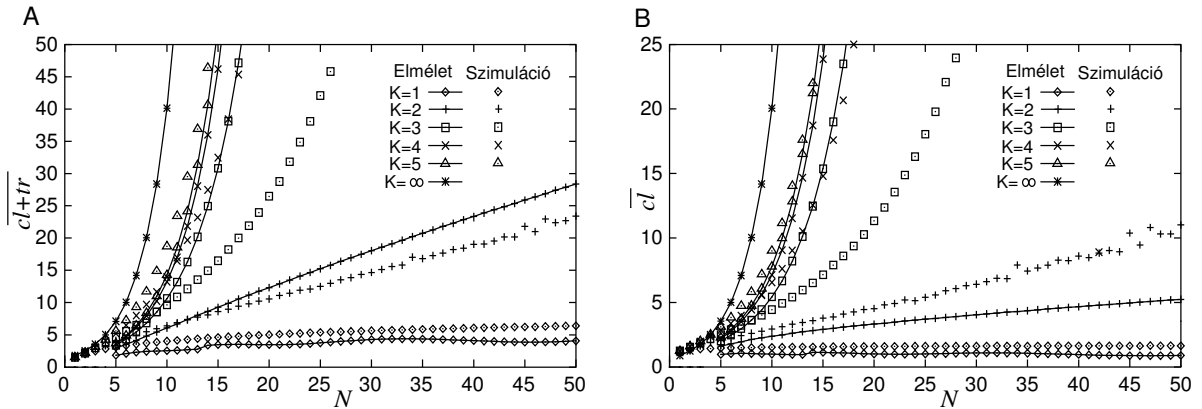
Annak a valószínűsége, hogy a  $cl$  ciklushossz éppen  $z$  legyen a következőképpen állítható elő: Felírjuk annak a valószínűségét, hogy a rendszer megtesz  $k$  lépést anélkül, hogy eljutna egy már érintett helyre, majd a  $k + 1$ -dik lépés során pontosan a  $z$  lépéssel korábbi állapotába lép be. Ez minden  $k \geq z$  esetben előfordulhat, így a megfelelő valószínűségeket összegeznünk kell a teljes utazás minden lehetséges hosszára amely maximálisan  $M = 2^N$  lépés lehet:

$$p(cl = z) = \sum_{l_1=0}^N p(\lambda_1 = l_1) \sum_{k=z}^M \frac{1}{V_{k-z+1}} \prod_{i=1}^{k-1} \left(1 - \frac{b_i}{V_i}\right) \quad (4.26)$$

Ha a 4.25. és a 4.26. egyenletbe behelyettesítjük az eddig felírt mennyiségeket, bonyo-



4.19. ábra. A, Az önelkerülő bolyongás hosszának várható értéke  $(tr + cl)$ , B, Az állapotciklus hosszának várható értéke  $\overline{cl}$ , mint a hálózat méret ( $N$ ) és a kapcsoltság ( $K$ ) függvénye. Exponenciális növekedés jellemzi a kaotikus fázist  $K \geq 3$  értékeinél. Folytonos vonallal összekötött szimbólumok jelzik az analitikus eredményeket, míg összekötetlen szimbólumok a numerikus szimulációk eredményeit. A  $K = \infty$ -vel jelölt vonal a véletlen leképezés közelítés eredményét mutatja.



4.20. ábra. Nagyítás a fagyott fázisról és a káosz határáról. A, Az önelkerülő bolyongás hosszának várható értéke  $(tr + cl)$ . B, az állapot ciklus hosszának várható értéke  $\overline{cl}$  mint a rendszer méretének ( $N$ ) és a kapcsoltság ( $K$ ) függvénye.  $K = 2$  esetben  $tr + cl$  és  $\overline{cl}$  lassan növekszik, míg  $K = 1$  esetben mindkét mérőszám igen alacsony értéken maradt.

lult sorösszegeket, illetve szorzatokat kapunk, amelyek azonban elemi műveletekből állnak össze és számítógéppel könnyen meghatározhatóak. Ennek meghatározásához az OCTAVE nevű ingyenesen hozzáférhető általános célú matematikai programcsomagot használtam. Az eredményeket a 4.19. és a 4.20. ábrán, illetve a 4.2. illetve a 4.3. táblázatban mutatom be. Összehasonlításképpen mellé tettem a Monte Carlo szimuláció során kapott átlagértékeket A Monte Carlo szimulációkat Payrits Szabolcs készítette standard C nyelven. Minden vizsgált  $K, N$  paraméterpárhoz 1000 véletlenszerűen választott hálózatot hoztunk létre, majd a szimuláció során megmértük a létrejött állapotciklus, illetve az önelkerülő bolyongás hosszát.

A számítások és a szimulációk összehasonlításával megállapíthatjuk, hogy számításaim minőségileg nagyon jól írták le a rendszer viselkedését, tehát az alkalmazott gondolatmenet és a közelítések a rendszer dinamikájának lényegi vonásait jól tükrözik. A  $K = 1, 2, 5$  esetekben számszerűleg is jó közelítéseket adtak számításaim. Mindegyik esetben a teljes úthossz becslése állt közelebb a szimulációk során mért értékhez. A  $K = 1$  esetben mind a ciklushossz, mind a teljes úthossz igen alacsony értéken maradt nagy  $N$ -ekre is. Ugyanez igaz volt a számított értékekre is, azonban a ciklushossz egy lokális maximum után csökkenést mutatott.  $K = 5$ -re igen jó közelítést kaptam mind a ciklushosszra, mind az úthosszra, mindkét mennyiség közel exponenciálisan növekedett. A fázishatárt alulról közelítő  $K = 2$  esetben igen jó közelítést kaptam a teljes úthosszra de alábecsültem a ciklushosszt. A legnagyobb hibát közel a kritikus ponthoz, de már az exponenciális tartományban, a  $K = 3, 4$  esetekben adta a számítás, lényegesen túlbecsülte a hosszakat.

Ha  $K$  és  $N$  minden határon túl nőtt, a véletlen leképezés közelítést (Harris, 1960) kapjuk vissza, amely bizonyítottan egzakt ebben a termodinamikai határesetben (Derrida és Flyvbjerg, 1987). Ekkor a csomópontok elhanyagolhatóan ritkán fagynak be, a fázistér nem húzódik össze, a bolyongás időszimmetrikussá válik. Ebben az esetben a fenti sorok felösszegezhetőek a szorzatok pedig a Stirling-formula segítségével jól közelíthetőek. Így



K N	1 szim.	1 elm.	2 szim.	2 elm.	3 szim.	3 elm.	4 szim.	4 elm.	5 szim.	5 elm.
5	1.463	0.986	2.093	1.616	2.519	2.020	2.845	2.200	3.115	2.294
10	1.538	0.997	2.95	2.382	4.449	5.441	6.551	7.148	9.011	7.788
15	1.583	1.120	3.794	2.912	7.152	15.37	14.80	23.85	27.97	27.31
20	1.606	1.016	4.534	3.328	11.33	44.47	35.57	80.57	93.11	96.70
25	1.619	1.011	5.388	3.707	18.04	129.3	87.94	272.9	318.6	343.0
30	1.626	1.085	6.421	4.054	29.17	337.0	225.6	808.9		
35	1.623	1.066	7.442	4.372	47.86		578.0			
40	1.637	0.966	8.606	4.677	79.84					
45	1.648	0.885	10.37	4.974	137.7					
50	1.644	0.899	11.00	5.251	237.7					

4.2. táblázat. Az állapot ciklus hosszának várható értéke ( $\overline{cl}$ ).

K N	1 szim.	1 elm.	2 szim.	2 elm.	3 szim.	3 elm.	4 szim.	4 elm.	5 szim.	5 elm.
5	3.081	1.843	3.921	2.938	4.633	3.362	5.189	3.552	5.596	3.668
10	4.014	2.531	6.397	6.033	9.642	10.61	13.93	13.02	18.69	14.26
15	4.603	3.460	8.612	9.225	16.46	30.80	32.44	46.15	58.46	52.61
20	5.011	3.462	10.54	12.30	26.46	89.23	76.63	159.0	191.3	190.3
25	5.361	3.742	12.50	15.23	42.07	259.2	185.1	542.7	644.7	681.4
30	5.631	4.254	14.66	18.04	66.13	754.7	463.0			
35	5.847	4.346	16.80	20.71	106.2		1178			
40	6.052	4.081	19.02	23.33	174.7					
45	6.227	3.867	21.78	25.89	292.8					
50	6.376	4.055	23.38	28.36	496.7					

4.3. táblázat. Az önelkerülő bolyongás hosszának várható értéke ( $\overline{(tr + cl)}$ ).

igen egyszerű rövid képlettel lehet közelíteni a ciklus és az úthosszat:

$$\overline{cl + tr} = 2\overline{cl} = \frac{1}{4}\sqrt{2\pi}2^{\frac{N}{2}} \quad (4.27)$$

## 5. fejezet

# Megbeszélés és következtetések

### 5.1. Az akciós potenciálok modell alapú elemzése

#### 5.1.1. Módszertani kérdések megbeszélése, a idegsejtek tüzeléseinek elemzése alapján

Az akciós potenciál idősorok statisztikai elemzéséhez viszonyítva, lényegesen kevesebb azon dolgozatok száma a szakirodalomban, amelyek a sejteken kívül, elektródákkal mért akciós potenciált térben és időben változó potenciál-hullámnak tekintik és ezt elemzési, illetve modellezési munkájuk alapjává teszik (Rall és Shepherd, 1968; Nicholson és Llinas, 1971; Varona és mtsai, 2000; Sargsyan és mtsai, 2001). Ezen munkák közös jellemzője, hogy részletes, konduktancia alapú, sokrekeszes modellsejtekből felépítik a tárgyalt agyterület legfontosabb sejtípusának – esetleg típusainak modelljét – szimulálják a hálózat, illetve sejtcsoport ingerlésének hatására létrejövő folyamatokat, az agyterület rétegzettségének, illetve geometriai viszonyainak ismeretében kiszámítják a sejtek által létrehozott és a sejtek közötti térben mérhető elektromos potenciál téridőbeli eloszlását, végül a mért és a szimulált potenciál hullámok összehasonlításával beállítják a modell paramétereit. E módszer éppen úgy modell-illesztésnek tekinthető, mint a jelen értekezésben tárgyalt munkám, és mint ilyen, kétféle, de nem élesen szétválasztható eredményre vezet:

Egyrészt a munka eredménye a modell maga, amely azzal igazolja magát, hogy a megfigyelésekkel összhangban leírja le a rendszerben zajló folyamatokat, másrészt a munka eredményei a modell paraméterei, amelyek a modell segítségével nyerhetők ki a mérésekből, az adott rendszerről szolgálnak információval és mivel a modell szabad paraméterei, ezek eltérései, változásai is nyomon követhetőek. A fenti munkák mindegyike igen bonyolult modellt állít fel, amely nem csak az analitikus megoldást teszi lehetetlenné, de a sokdimenziós paraméterter bármiféle numerikus bejárását is. Ezekben az esetekben az eredmények tekintetében hangsúly a modellen van és nem a modell illesztésével meghatározható paramétereken. Erre vezethető vissza, hogy e bonyolult modellek minél több paraméterét igyekeztek a szerzők élettani mérések alapján rögzíteni, és a szabadon maradt – illesztéssel meghatározott – paraméterek esetében sem vizsgálták, hogy a mérések alapján az ismeretlen paraméterek egyértelműen meghatározhatóak-e, tehát az inverz feladat egyértelműen megoldható-e. A szerzők általában megelégedtek annak bemutatásával, hogy létezik legalább egy olyan paraméterkészlet, amellyel a modell a vizsgált jelenséget megfelelően reprodukálja.

Jelen munkám során a fentiekhez képest más megközelítést választottam. A modell lényegesen egyszerűbb volt mint a fent tárgyalt esetekben. Bár ez az egyszerű modell nem ír le a fentiekhez hasonló bonyolult folyamatokat, de amint azt a pontforrás modellekkel történt összehasonlítás mutatta, megőrizte a modellek azon fontos tulajdonságát, miszerint a megértést segítő gondolati keretet, illetve leírást kell adnia a modellezett jelenségekről. Ugyanakkor a modell egyszerűsítésével lehetővé vált az inverz feladat megoldhatóságának vizsgálata. Ha nem is analitikus, de numerikus eszközökkel megmutattam, hogy a modell összes szabad paramétere meghatározható a mérések alapján, tehát az inverz feladat egyértelműen megoldható. Ezzel új lehetőségek nyíltak meg, hiszen a modell illesztésével a mért adatból új információ nyerhető, tehát itt eredménynek nem elsősorban, vagy nem csak a modell tekinthető hanem a modell meghatározható paraméterei.

Ellentétben a Hodgkin-Huxley típusú modellekkel és a legtöbb idegsejt modellel, az ellenáram modell nem dinamikai modell, nem ír le időben történő változásokat. Az ellen-

áram modell, egy megszorításrendszer a pillanatnyi áramforrás sűrűség eloszlásra. Azonban pillanatról pillanatra haladva alkalmas az idegsejteken folyó változások követésére az érvényességi időtartományon belül. Jelen dolgozatban csak pillanatnyi CSD eloszlásokat vizsgáltam (4.7. ábra), de fontos továbblépési lehetőség a CSD eloszlások változásainak követése az érvényességi tartományon belül, illetve a módszer fejlesztése alkalmazhatósági tartományának kiterjesztésével.

Hasonlóan az EEG/MEG alapú képképző eljárásokhoz, a modell feltételrendszere biztosítja az inverz megoldás egyértelműségét. A módszer gyakorlati alkalmazásához azonban nem feltétlenül szükséges, hogy az egyértelműség teljes mértékben megvalósuljon. Használhatjuk az egyértelműség gyengébb, gyakorlatibb meghatározását is, miszerint azt várjuk el, hogy a mérés alapján a modell paramétereit azok valódi értékei körüli elfogadhatóan kis tartományra korlátozhatjuk. Ez a definíció közelebb áll a méréselemzés és a valódi mérések viszonyához, hiszen a valódi mérések mindig mérési hibával terheltek. Numerikus vizsgálatainkkal a valódi egyértelműséget nehéz lenne belátni, de ez utóbbi gyakorlatiasabb feltételt az ellenáram modell igen jól teljesítette.

Összehasonlítva a hagyományos egy dimenziós CSD módszerrel, az ellenáram modell lényegesen jobban adta vissza a modell sejt membránján mért CSD eloszlást. Ez az eredmény meglepőnek tűnhet, különösen ha figyelembe vesszük, hogy a hagyományos CSD módszer erős fizikai alapokkal rendelkezik, azaz a Poisson-egyenlet és az Ohm-törvény közvetlen következménye. A különbség az egy dimenziós mérés értelmezéséből fakad. A hagyományos három dimenziós CSD módszer egyszerűen az 1.2.-es egyenlet alkalmazása a mért potenciálra:

$$\frac{\partial^2 V(x, y, z)}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 V(x, y, z)}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 V(x, y, z)}{\partial z^2} = -\frac{I(x, y, z)}{\epsilon\sigma} \quad (5.1)$$

Ahol a Laplace operátort részletesen kiírtam, hogy jobban láthatóvá váljék, hogy a Laplace operátorban a három irány szerinti derivált nem egy vektormező három komponensét adja, hanem értékeik összeadódnak és egyetlen skalármező  $I(x, y, z)$ -t képeznek. Ha

tehát az egydimenziós mérés nem ad információt a másik két dimenzió menti derivált értékéről, azok elhagyása nem komponensek elvesztését jelenti, hanem az  $I(x, y, z)$  áramforrás sűrűség eloszlás értékei változnak meg. Amikor a három dimenziós egyenletről (5.1.) az egydimenziós CSD

$$\frac{\partial^2 V(x, y, z)}{\partial x^2} = -\frac{I(x, y, z)}{\epsilon_r \sigma} \quad (5.2)$$

egyenletére áttérünk, akkor feltételeztük, hogy a potenciál  $y$  és  $z$  irány menti parciális második deriváltjai elhanyagolhatóak. Ez az elhanyagolás a források homogenitását feltételezi az  $y$  és  $z$  irányban. A mikroelektróda-rendszereknél leggyakoribb térbeli elrendezésben és a mi méréseinkben is a mérés vonala merőleges az agyfelszínre, az  $y$  és  $z$  irányok tehát az agyfelszínnel párhuzamos irányokat jelentik. A fenti elhanyagolás tehát azt a feltételezést hordozza, hogy a forráserősség azonos a egyes kérgi rétegeken belül, míg a rétegek között lehetnek különbségek. Ez a feltételezés jó közelítéssel igaz lehet a CSD módszer hagyományos alkalmazási területein, az eseményhez kötött, illetve kiváltott potenciálok vagy az epilepsziás agykérgi aktivitás vizsgálatakor, hiszen ezek a működések jelentős számú sejt részvételével zajlanak, de egyértelműen nem teljesül akkor, ha az áramok forrása egyetlen idegsejt. Ezért a hagyományos egy dimenziós CSD módszerrel szemben az EÁM illesztéssel végzett CSD számítás figyelembe veszi az elektromos potenciál térfüggését is, így lehetséges, hogy eredményei jobban megközelítik a valódi forráseloszlásokat.

A számítógépes szimulációk során legalább két kevésbé valószerű egyszerűsítést használtam. Egyrészt a valódi idegsejtek bonyolult alakját egyetlen, az idegsejt dendritfájának hosszanti tengelyével párhuzamos egyenessé egyszerűsítettem le, másrészt a paraméterek becslésének pontosságát zaj nélkül vizsgáltam. Mindkét egyszerűsítés azért alkalmaztam, hogy megmutassam, elvileg lehetséges a paramétereket meghatározni a mérések alapján.

A vonalforrás-eloszlás jó közelítésnek bizonyulhat, ha a vizsgált idegsejtek dendritfájának jellegzetes alakja hosszúka, mint például a nagyagykéreg ötödik rétegbeli pi-

ramis sejtjeinek esetében, feltéve hogy egyetlen dendrit ág sincs mérési pont közvetlen közelében, de a neuronok dendritfájának három dimenziós kiterjedése természetesen befolyásolja a modell illesztési eredményeket. Valószínű azonban, hogy a három dimenziós CSD eloszlások és a modellben használt egy dimenziós eloszlás között megfeleltetések találhatóak. A neuronok dendritfája, illetve a rajta folyó membránáramok levetíthetők egy egyenesre, és hengerszimmetrikus esetben ez a megfeleltetés kölcsönösen egyértelmű is lehet, bár e megfeleltetések további vizsgálatokat igényelnek. Az ellenáram modellben a vonalforrás helyett a források más térbeli elhelyezkedése, például az ellenáramok gömbszimmetrikus eloszlása is használható, ha ez közelebb áll a vizsgált sejtek alakjához, illetve elektromos tulajdonságaihoz. Ha az idegsejtek típusa a mérések alapján meghatározható, úgy ahogyan azt Barthó és mtsai (2004) tették, minden egyes sejt esetében a sejt típusának megfelelő forrásgeometria választható. Módszerem egyszerűen alkalmazható kétdimenziós elektródarács méréseinek elemzésére is. Ebben az esetben nem csak két dimenziós CSD eloszlások nyerhetők, de a távolságbecslések ellenőrzése is lehetővé válna.

A mérési zaj szintén befolyásolja a modell illesztés eredményeit. Miután eddigi munkám rámutatott az inverz feladat megoldásának elvi lehetőségére, további fejlesztést igényel a gyakorlatban legjobban használható, a mérési zajra, a véges mintavételi sűrűsége és egyéb, a mérés során előforduló pontatlanságokra kevésbé érzékeny módszer kidolgozása.

Az egyedi idegsejtből és sejten kívüli térből elvezetett elektromos potenciálok párhuzamos rögzítése kiválóan alkalmas a külső és a belső potenciálok közötti összefüggések közvetlen vizsgálatára, ugyanakkor számos nehézséget rejt (Henze és mtsai, 2000). Az általam kifejlesztett elméleti eszközök hasonló információval szolgálnak közvetett módon. Egy ilyen közvetett technika megbízhatóságában ritkán érheti el a közvetlen mérések szintjét, ugyanakkor számos előnnyel rendelkezik a fenti technikához viszonyítva.

Az üvegelektroda – a sejteken kívül elhelyezett fém elektródákkal ellentétben – egyszerre csak egyetlen sejt vizsgálatát teszi lehetővé. E kettős mérésnél külön nehézség,

hogy az üvegelektroda és a tetród csúcsainak igen közel kell lennie egymáshoz, hogy azt a sejtet, amelyikbe az üvegelektrodát vezették, a tetród is érzékelje, így nagyszámú sejt jeleinek rögzítése időigényes feladat. Ezzel szemben az én módszerem csak sejten kívüli jelek rögzítését igényli. Ilyen típusú adat nagy mennyiségben áll rendelkezésre, és az elemzés utólag is elvégezhető.

Egy idegsejtbe általában csak egy, esetleg kettő-három üvegelektrodát lehet vezetni, tehát a membránáramot legfeljebb két-három pontban lehet mérni. Az üvegelektrodás technika ezért nem alkalmas az áramok térbeli eloszlásának vizsgálatára. Ezzel szemben, egy 16 csatornás sejten kívüli fémelektroda-rendszer adatai alapján a modell illesztés módszere maximum 13 pontban teszi követhetővé a membránáramokat.

Az üvegelektroda fizikai kapcsolatban van a sejtrel, így bármilyen kicsiny elmozdulása a sejt pusztulásához vezethet, ezért az üvegelektroda alkalmazásának körülményei lényegesen korlátozottabbak, mint a sejteken kívül elhelyezett fémelektrodáké. E sejten kívüli fémelektrodák beültethetők az élő kísérleti állatok agyába és rövid gyógyulási időszak után hosszú ideg megbízható elvezetést biztosítanak, akár szabadon mozgó állatok esetében is. Ekkor a modell alapú elemzés az idegsejteken folyó áramok *in situ* vizsgálatát teszi lehetővé.

### **5.1.2. Az akciós potenciálok elemzésének megbeszélése**

Megmutattam, hogy a pontforrás modellek nem írják le megfelelően a macska elsődleges hallókérgében (A1 área) mért akciós potenciálok forrásait. Fontos megjegyezni, hogy ez nem jelenti azt, hogy a pontforrás modellek, azon belül a monopólus modell soha sem megfelelő a tüzelő idegsejtek, mint források leírására. A sejten kívül mérhető elektromos potenciál tulajdonságai függenek a sejt, illetve az sejt minden egyes nyúlványának pontos alakjától, illetve élettani tulajdonságaitól. Könnyen lehetséges, hogy vannak olyan agyterületek, illetve olyan sejtípusok, amelyek akciós potenciáljai jól közelíthetők egy monopólus forrással. Ez egyben azt is jelentené, hogy ezekben az esetekben a monopólus modellen alapuló háromszögletes helymeghatározás jól működhet. Eredményeim

alapján azonban biztosan állítható, hogy mielőtt a sejtek térbeli helyzetét háromszögeléssel meghatároznánk, minden esetben szükséges a monopólus közelítés helyességének ellenőrzése. Ez természetesen csak akkor lehetséges, ha elegendő számú elektróda áll rendelkezésre olyan térbeli elrendezésben, hogy egy-egy sejt jelét több mint négy elektróda érzékeli.

A szakirodalomban gyakran előforduló feltételezés (Henze és mtsai, 2000), hogy a sejteken kívüli folyadékban mérhető elektromos potenciál arányos a sejt membránpotenciáljának idő szerinti első deriváltjával. Ez a feltételezés a Hodgkin-Huxley egyenleteken alapszik:

$$C_m \frac{dV_m(t)}{dt} = I_m(t) \quad (5.3)$$

Ahol  $I_m$  jelöli az összes aktív és passzív membránáram összegét. Az 1.3.-es egyenlet szerint  $I_m$  arányos a sejten kívüli potenciállal, tehát az 5.3.-es egyenletet az 1.3.-es egyenletbe helyettesítve megkapjuk a fenti feltételezést. Azonban a Hodgkin-Huxley egyenletek fenti formája csak abban az esetben igaz, ha a  $V_m(t)$  membránpotenciál nem függ a helytől, a sejt teljes felszínén ugyanazt az értéket veszi fel. Ha ez nem így van, akkor egy adott sejten kívüli helyen mérhető potenciál, a sejt egyes nyúlványain folyó membránáramok súlyozott összege, illetve integrálja, a 3.2.-es egyenlet szerint. Henze és mtsai (2000) párhuzamosan rögzítették sejten belül és a sejten kívüli mérhető elektromos potenciált és arra az eredményre jutottak, hogy a sejten kívül mérhető potenciál csak abban a rövid időtartományban követi a membránpotenciál időderiváltját, amelyik az sejten kívül mért akciós potenciál negatív hullámának kezdetétől annak negatív csúcsáig tart. Ez az időtartomány pontosan megegyezik az ellenáram modell érvényességi tartományával. Ez a két eredmény egymással összhangban van, hiszen az ellenáram modell érvényességének az a feltétele, hogy a membránon átfolyó áramrendszer egyetlen nyelő határozza meg, ha pedig ez így van akkor a 3.2.-es egyenletbeli összeget egyetlen tag határozza meg, és az összes ellenáram is hozzávetőlegesen arányos a befolyó árammal. Ebből pedig kö-



vetkezik, hogy a sejten kívül mérhető potenciál arányos lesz a sejtest közelében mérhető membránpotenciál deriváltjával.

Mivel a távolságot normált TPM-ek alapján becsültem, a mért amplitúdó közvetlenül nem befolyásolta a becsült távolságot, az amplitúdó és a távolság *a priori* függetlenek voltak. Ez azt is jelenti, hogy elegendően nagyszámú mérésen elvégezve a becslést, az amplitúdó távolságfüggése meghatározható lenne.

A TPM-ok minimumának és maximumának hányadosa ( $Q$ ) negatív volt, így a háromszögletes forrás helymeghatározást nem alkalmazhattam e sejtekre. Formálisan, a negatív  $Q$  arányok képzetes távolságot eredményeznének. Ezt a problémát megoldandó, Jog és mtsai (2002) nem a tetródok egyes elektródáin mérhető amplitúdó arányokat használták a forrás helyének meghatározására, hanem az egyes elektródákon mért akciós potenciálok és egy ideális jelalak skaláris szorzatát, ami már minden esetben pozitív volt. Más megoldást választott Chelaru és Jog (2005) a problémára. A szerzők itt az amplitúdó arányok helyett azok négyzeteinek arányát használták, ami már természetesen pozitív. Mindkét munkában feltételezték ugyanakkor, hogy a sejt által létrehozott potenciál a távolsággal fordított arányban csökken. Állításuk igazolására Rall (1962) igen részletes modellezési munkáját idézték, aki megmutatta, hogy már kisszámú, sugarasan elhelyezkedő dendrit ág megléte esetén is, a sejt által létrehozott potenciál jó közelítéssel gömbszimmetrikusnak volt tekinthető, csak a dendritnyúlványok közvetlen közelében alakultak ki vékony pozitív potenciál szigetek. A gömbszimmetria meglétéből, amely csak szükséges, de nem elégséges feltétele a monopólus leírás helyességének, vonták le azt téves következtetést, hogy a potenciál a távolsággal fordított arányban csökken. Következtetésük a divergencia tétel értelmében akkor lett volna helyes, ha az egyre növekvő sugarú mérési gömbfelületek mind ugyanazt az áramforrás mennyiséget zárták volna körbe, azaz lényegében az összes membránáram a sejtestre korlátozódott volna. Ezt a feltételezést a dendritikus áramok jelenléte teszi hamissá, olyannyira, hogy a már említett Rall (1962) cikk 10. ábrája éppen azt mutatja be, hogy a sejt elektromos potenciálja dendritikus áramok jelenlétében lényegesen gyorsabban csökken a távolsággal mint annak az inverze. Itt Rall két esetet

vizsgál, egyszer felteszi, hogy a dendritikus áramok lineárisan csökkennek a távolsággal, másodszer, hogy exponenciálisan. Megmutatja, hogy a két eset között kicsiny, de mérhető különbség van, viszont mindkettő lényegesen különbözik a monopólus terétől. Rall csak feltevéseket fogalmazhatott meg a dendritikus áram térbeli eloszlásáról, hiszen az a dendritfa geometriájától és élettani paramétereitől függ. Új módszerem birtokában azonban ez az eloszlás közvetlenül a mérések alapján meghatározható.

E vizsgálat során egy példán keresztül azt is megpróbáltam bemutatni, hogy egy modell nem csupán a mérési eredmények jobb megértését teszi lehetővé, ennél többre is képes. Munkám során a megfelelő modell választással új lehetőségek tárultak fel, amelyek a jövőben lehetővé tehetik az idegsejtek működésének – eddig csak sejtbe vezetett elektródákkal mérhető – finom részleteinek meghatározását sejten kívül végzett mérések alapján.

## **5.2. A kiváltott epilepsziás vizsgálatok eredményeinek megbeszélése**

### **5.2.1. A 4-AP kiváltotta rohamok elemzési eredményeinek értelmezése**

Szente és Baranyi (1987) a 4-AP által létrehozott rohamok három szakaszát különböztette meg: magas, közepes és alacsony frekvenciájú szakaszt, amelyek különböztek hullámformáik szerint is. A wavelet analízis egyrészt megerősítette a rohamok ilyen felosztásának helyességét, hiszen rámutatott, hogy a frekvencia spektrumban is lényeges különbségek fedezhetők fel a szakaszok között, másrészt finomabb frekvencia felbontásának köszönhetően néhány új jelenségre is rámutatott. Ezek között talán a legfontosabb, hogy a roham első szakaszára nem egyszerűen a magas frekvenciák jellemzőek, hanem a frekvencia folyamatos és monoton csökkenése. Ez a jelenség adta a modell alap gondolatát, miszerint a szinaptikus depresszió az a vezérlő erő, amely végigvezeti a rendszert különböző dina-

mikai állapotain. A szakirodalomban a szinaptikus depresszió időálladójára 3 másodperc becslést találtam (Abbott és mtsai, 1997) ami megfelel a frekvencia csökkenés általam észlelt időskálájának.

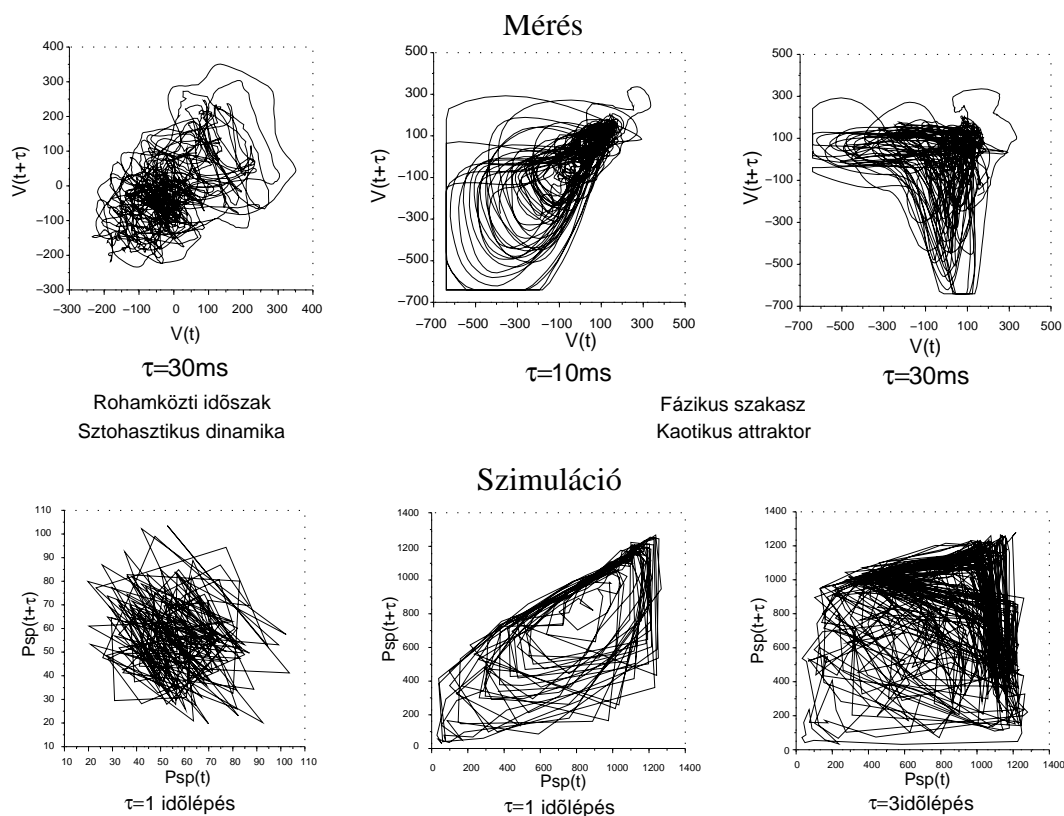
A frekvencia csökkenése nem csak a roham első szakaszára, de annak egészére jellemző, ugyanakkor ebből az általános folyamatból élesen kiválik a roham második szakasza, ahol a frekvencia csökkenése egy időre megáll, miközben az amplitúdó eléri a maximumot. Hasonló jelenség még kétszer megfigyelhető a roham során: amikor egy új, az előzőnél alacsonyabb frekvenciájú, oszcilláció veszi kezdetét az amplitúdó megnő. E jelenség emlékeztet a rezonanciára, amikor a gerjesztő frekvencia megegyezik a gerjesztett rendszer sajátfrekvenciájával, az amplitúdó megnő.

A visszatérési térképek alapján a rendszer attraktorának sok jellemzője leírható, de az attraktor valódi típusának azonosítása sokkal nehezebb, és általános esetben megoldatlan feladat. A megfigyelt attraktor típusáról biztosat állítani tehát én sem tudok, azonban megjegyzendő, hogy a visszatérési leképzéseken megjelenő szerkezet, kagylóhéjszerűen szétváló, majd visszahajló íveivel a kaotikus rendszerek egyik legalapvetőbb típusára, a jól ismert Rössler-attraktorra emlékeztet (Rössler, 1976).

### **5.2.2. Az elemzés eredményeinek összevetése a szimulációkkal**

A általam felépített neuronhálózati modell - egyszerűsége ellenére – igen jól reprodukálja a rohamok során megfigyelt jelenségeket. A szimulált rohamok első szakaszában monoton csökkenő aktivitást, míg a második szakaszában sem frekvenciájában, sem amplitúdójában nem csökkenő kvázipériódikus oszcillációt tapasztaltam. Ugyanakkor a modell nem ad számot a rohamok harmadik, lassan oszcilláló szakaszáról. A modell alap gondolata természetesen folytatható és feltételezhetjük, hogy egy második, lassabb fáradási tényező viszi át a rendszert a harmadik dinamikai fázisba. Ez a második fáradási tényező éppúgy lehet egy hosszabb időállandóval rendelkező szinaptikus depresszió, mint a nyugalmi ionkoncentráció viszonyok felborulása.

Ahogy a rohamok ismétlődnek a 4-AP-nel kezelt kísérleti állatokban, az egymás



5.1. ábra. A mért ECoG (fölső sor) és a szimulált  $V_{EPSP}(t)$  (alsó sor) alapján készített attraktor rekonstrukciók összehasonlítása. A roham előtti időszakra mindkét esetben a sztochasztikus dinamika jellemző, míg a roham második szakaszában a rekonstruált szerkezet a Rössler-attraktorra emlékeztet.

után következő rohamok között eltelt idők egyre rövidebbé válnak egészen addig, amíg a rohamok összeolvadnak és egyetlen folyamatos és hosszan tartó rohamot alkotnak: beáll a status epilepticus. A modellben a serkentés további erősítésével ez az állapot is szimulálható volt.

Az antiepileptikumok egy családjának hatásmechanizmusa a GABAerg gátlás erősítése. Ezzel analóg módon a gátlás erősítése a modellben is ritkította, rövidítette, illetve megszüntette a rohamokat. Bár a rohammentes állapot ezzel visszaállt, a rendszer nem lett azonos a kezdeti rendszerrel, az új egyensúlyt erősebb serkentés és erősebb gátlás tartja fenn. További vizsgálatokat igényel, hogy a gerjesztés és a gátlás ilyen módon megnövekedett feszültsége jár-e a dinamika változásával.

A modell és az epileptikus rohamot létrehozó valódi neuronhálózat dinamikája között

hasonlóság mutatható ki, nem csak a roham szerkezetét illetően, de a gyors oszcilláció dinamikáját vizsgálva is. A szimulált rohamok második szakaszában a visszatérési leképezések igen hasonló szerkezetet mutattak mint a valódi rohamok második szakaszában (5.1. ábra). A modell adataiból a visszatérési leképezéseket  $\tau = 1$  időlépés és  $\tau = 3$  időlépés késleltetéssel készítettem. Bár az idő értelmezése a modellben nehézkes, a kirajzolódó attraktorok nagy hasonlóságot mutatnak a mért EKG-ból,  $\tau = 10\text{ ms}$  és a  $\tau = 30\text{ ms}$  késleltetéssel készült visszatérési leképezésekhez, ami a jelenségek mögött meghúzódó hasonló dinamikára utal.

Modellemben a roham első, teljesen aktív szakaszának jellemzője volt, hogy a gátlás nem volt elegendően erős az öngerjesztés fékentartására, míg a második szakaszt a gátlás és a serkentés együttes részvételével kialakuló irreguláris oszcilláció jellemezte. Új eredmények szerint (Ziburkus és mtsai, 2006) a rohamok első szakasza alatt az interneuronok jelentős része a depolarizációs blokk állapotába kerül, amelynek jellemzője az erősen megemelkedett membránpotenciál, ugyanakkor az akciós potenciálok hiánya. Akciós potenciálok hiányában a gátlás természetesen nem képes a gerjesztés fékentartására. A piramis sejtek mindeközben gyors, de egyre lassuló ritmusban tüzelnek. A roham második szakaszában az interneuronok rövid időközökben újra és újra nagyfrekvenciás akcióspotenciál-sorozatokkal hallgattatják el a piramis sejteket. Ez a forgatókönyv sokban hasonlít az általam felvázoltakhoz, bár az akciós potenciálok hiánya a depolarizációs blokk alatt még magyarázatra vár.

A 4-AP kiváltotta rohamok elemzésének és modellezésének eredményeit összehasonlítva megállapíthatjuk, hogy egyszerű modellem több ponton mutatott jelentős hasonlóságot a kiváltott epilepszia megfigyelt jelenségeivel és ezek a hasonlóságok arra utalnak, hogy a modell dinamikájában megjelenő elvek működhethetnek a valódi rohamok során is. Összefoglalva: A rohamok mögött meghúzódó dinamikai rendszerről feltételezhetjük, hogy a roham első szakaszában a rekurrens serkentés túlsúlyban van a rekurrens gátláshoz képest, amely folyamatos nagyfrekvenciás oszcillációt eredményez, míg a roham második szakaszában a serkentés és a gátlás együtt alakítja ki az észlelt kaotikus jellegű

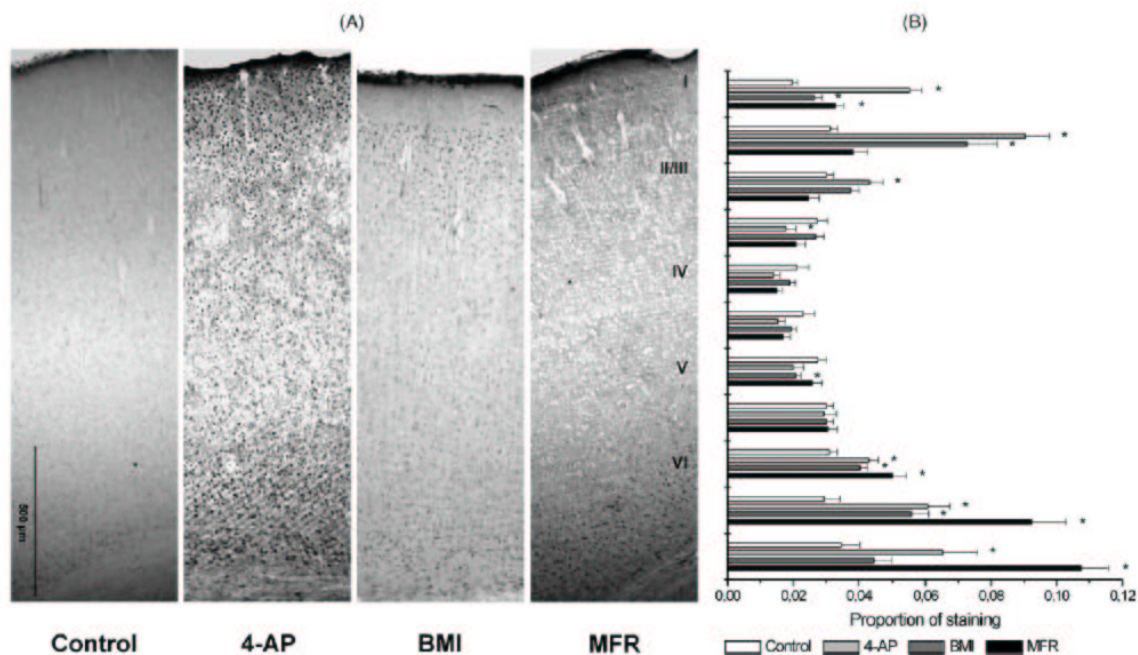
oszillációt. Valamint azt, hogy az első szakasz alatt észlelt frekvencia csökkenésért és a két szakasz közötti átmenetért a szinaptikus depresszió jelensége felelős.

### **5.2.3. Az *in vitro* kiváltott epileptikus aktivitás során, a CSD rétegeloszlások jellemzőinek összehasonlítása a c-Fos jelölődés eloszlásával**

A rétegelektrodákkal és CSD módszerrel végzett rétegelemzés eredményeit összevethetjük olyan más módszerek eredményeivel, amelyek alkalmasak az idegsejtek aktivitásának rétegenkénti meghatározására. Az összevetéshez röviden összefoglalom szerzőtársaim – Halassy Katalin és Borbély Sándor – eredményeit.

A 4 kísérleti kontroll szeletben volt a legalacsonyabb az immunopozitív sejtek száma:  $73.9 \pm 17.1$ . A kísérleti kontrollhoz képest, a kezelt és epileptikus aktivitást mutató szeletekben szignifikánsan megemelkedett az immunopozitív sejtek száma: 4-AP kezelés után a 6 szeletben átlagosan  $350.5 \pm 93.4$  festett sejtmagot, a BMI-vel kezelt 4 szeletben átlagosan  $218.1 \pm 58.5$  festett sejtmagot, míg az MFR oldatban aktivált 5 szeletben átlagosan  $282.6 \pm 76.2$  festett sejtmagot találtak.

Ha a festődés arányának rétegenkénti eloszlásában a közös tulajdonságokat vizsgáljuk megállapíthatjuk, hogy a IV. és az V. rétegben egyetlen esetben sem volt szignifikáns növekedés a kísérleti kontrollhoz képest, az I. rétegben és a VI. réteg felső részén pedig mind a három esetben szignifikánsan növekedett a megfestett sejtmagok aránya. Ha az egyedi jellegzetességeket vizsgáljuk, látható, hogy a 4-AP kezelés során szignifikánsan emelkedett a festődött magok száma a II./III. rétegben, valamint a VI. réteg alsó részén is. A BMI kezelés után a festődési kép lényegileg a közös tulajdonságokat mutatta ettől csak egyetlen ponton tért el, ugyanis szignifikáns festődési arány növekedés volt látható a II. rétegben is. Az MFR oldatban aktivált szeletek mutatták a legjellegzetesebb megoszlást. Ez a görcskeltő eredményezte a legerősebb festődés a VI. réteg teljes vastagságában, így a közös tulajdonságoktól a abban tért el, hogy a VI. réteg alján is szignifikáns festődésnő-



5.2. ábra. A: A c-Fos festett sejtmagok jellegzetes eloszlása az agykéreg keresztmetszében a kísérleti kontroll és a három görcskeltő anyag esetében. B: A festett sejtmagok arányának rétegenkénti eloszlása. \* szimbólum jelöli a szignifikáns eltéréseket a kísérleti kontrolltól.

vekedés jelent meg (5.2. ábra).

A kísérleti kontroll szeptében tapasztalt c-Fos festődés a sejteket a kísérleti protokoll során ért degeneratív hatások, például a szeletmetszés eredménye lehet, ugyanakkor a görcskiváltó kezelések során néhol előforduló szignifikáns festődéscsökkenést nehéz értelmezni.

A kisülések amplitúdója nem állt arányban az okozott c-Fos festődés mértékével: a legnagyobb kisüléseket és a legkisebb c-Fos festődést a BMI kezelés okozta, ugyanakkor fordítva, a legkisebb amplitúdó és a legnagyobb c-Fos festődés a 4-AP jellemzője volt. Az összes c-Fos aktivációban azonban nem csak a kisülések amplitúdója, de számos egyéb hatás, például a kisülések frekvenciája, az egyes kisülések hossza is közrejátszhat. Gulyás-Kovács és mtsai (2002) eredményei alapján (5.1. táblázat) egyszerű magyarázatot találhatam az észlelt különbségekre: A 4-AP által kiváltott kisülések frekvenciája majdnem kétszeresen meghaladta a BMI és az MFR által kiváltott kisülések frekvenciáját; a

Görcskeltő	Frekvencia [ $perc^{-1}$ ]	Amplitúdó [ $mV$ ]	Hossz [ $ms$ ]
4-AP	$4.5 \pm 2.0$	$2.6 \pm 0.7$	$650 \pm 120$
BMI	$2.4 \pm 1.6$	$6.7 \pm 0.9$	$810 \pm 270$
MFR	$2.1 \pm 0.3$	$5.9 \pm 1.9$	$3215 \pm 123$

5.1. táblázat. A kiváltott epilepsziák kíséréseinek paraméterei Gulyás-Kovács és mtsai (2002) munkája alapján.

legkisebb amplitúdóhoz tartozó legnagyobb festődés valószínűleg ennek eredménye. Az MFR és a BMI ugyan körülbelül egyforma amplitúdót eredményezett, de az MFR által létrehozott kísérések legtöbb esetben több részkísülésből álltak, tehát lényegesen hosszabbak voltak. Ez eredményezhette a nagyobb festődést az MFR esetében.

Ha összehasonlítjuk a három különböző görcskeltő által *in vitro* kiváltott spontán epileptikus kísérések során észlelt CSD rétegenkénti eloszlását a c-Fos festés rétegenkénti eloszlásával, egyaránt találunk összecsengő eredményeket, illetve jelentős különbségeket is.

A c-Fos festődés és a CSD rétegenkénti eloszlásának összehasonlításánál két jelentős párhuzamot találtam: A BMI kíséréseiben a legnagyobb nyelő és egyben a legnagyobb aktivitás a II. rétegben tapasztalható, csakúgy mint a legerősebb c-Fos festődést. Egyben ez volt az a réteg, ahol a BMI c-Fos festődése eltért a három anyag közös mintázatától. A másik fontos párhuzam, hogy az MFR kísérések során a legnagyobb nyelőt és a legnagyobb aktivitást a VI. rétegben találtam és ebben a rétegben okozta az MFR a legnagyobb c-Fos festődést. Ugyancsak ez volt az a réteg, ahol az MFR c-Fos képe különbözött az általánostól.

Jelentős különbséget találtam ugyanakkor a 4-AP kezelés hatására létrejött kísérések CSD mintázatai és a keletkezett c-Fos festés rétegzettsége között. A legnagyobb áramnyelőt az V. rétegben észleltem a legnagyobb forrást pedig a IV. rétegben. Ezzel szemben a legintenzívebb c-Fos festődés az I., a II. és a VI. rétegben volt látható. A szinaptikus aktivitások és a c-Fos festődés közötti eltéréseknek számos oka lehet. A szinaptikus áramok és az aktivált sejtmagok az agykéreg helyi áramköreinek megfelelően különböző rétegek-



ben helyezkedhetnek el. Lehetséges, hogy a különböző rétegbeli sejtek nem egyformán érzékenyek a degeneratív hatásokra, sőt az is lehetséges, hogy a különböző eredetű epileptikus kisülések nem egyformán terhelik a különböző rétegbeli sejteket.

#### **5.2.4. A CSD eloszlások változatossága**

Az észlelt CSD eloszlások jellemző tulajdonsága volt a változatosság. A változatosságnak többféle oka lehet és több kérdést is felvet. A lehetséges okokat két csoportba sorolhatjuk: 1, valódi okokra amelyek valóban a mintázatok sokféleségét hozzák létre; 2, technikai okokra, amelyek különbözőnek mutatnak egyébként azonos mintázatokat.

A változatosság alapvető tulajdonsága az epilepsziának, mint klinikai képnek (Halász és Rajna, 1990), és bár az *in vitro* vizsgálatok során a természetes okok többségét kizártuk, számos lehetőség mégis megmaradt. A neokortexen belül a sejtek közötti kapcsolatrendszer igen bonyolult és a meglévő adatok szerint többféle visszacsatolást is tartalmaz. Így felvetődik annak lehetősége, hogy a kérgi szövetben egy adott görcskeltő anyag hatására is többféle epileptikus aktivitás mintázat, rezgési módus alakulhat ki. Természetes a feltételezés, hogy ha ez így van, akkor a lehetséges mintázatok valószínűleg csoportokba, esetleg nem túl nagy számú csoportba sorolhatók, de az egyértelműen látszik, hogy a jelen vizsgálatban alkalmazott szeletszám nem teszi lehetővé ennek felderítését, különösen, ha figyelembe vesszük az állatok és a szeletek között bizonyára meglévő egyéni különbségeket.

Ha különböző rezgési módusok létét nem is tételezzük fel, akkor is meg kell vizsgálnunk a változatosság még egy lehetséges okát, a térbeli inhomogenitás kérdését. Az egydimenziós elektróda elrendezéssel igen jól vizsgálható a rétegek aktivitása közötti különbség, azonban nem kapunk információt arról, hogy az egyes rétegeken belül hogyan oszlik el az áramforrás-aktivitás. Nem lévén adatom az aktivitás rétegeken belüli eloszlásáról, első közelítésben a legegyszerűbb feltételezéssel éltem, feltettem, hogy a rétegeken belül homogén az áramforrás-sűrűség eloszlása. Ez a feltételezés, mint arról korábban már szóltam, olyan feltétele a hagyományos egy dimenziós CSD módszer alkalmazásá-

nak, aminek helyességét csak ritkán, vagy egyáltalán nem vizsgálják. Esetünkben elképzelhető, hogy a szeletben az epileptikus aktivitás nem homogén, hanem egy góchoz kötődik, így különböző eredményt kaphatunk ha az elektródát a góc vagy a környezete fölé helyezzük.

A lehetséges technikai okok között említhetjük a szelet felszínének sérülését. A kísérleti összeállításban a használt elektródák egy vízszintes élt alkotva fekszenek szelet felszínére, de nem hatolnak be abba. Mivel a szelet felszínének különböző régiói különböző mértékben sérülhettek a szelet metszésekor, egyik vagy másik réteg aktivitása különbözőképpen jelenhet meg a felszínen és a felvételen. Hasonló okokból az érintkezés elektromos vezetőképessége is különbözhet az egyes kontaktusoknál.

Összességében tehát megállapíthatjuk, hogy az alkalmazott görcskeltők hatásának teljes megértéséhez további kísérletekre lenne szükség, amelyek: 1. fészűelektródát használnak, amely behatol a szelet belsejébe, 2. több szelettel dolgoznak, 3. vizsgálják az aktivitás rétegen belüli homogenitásának kérdését is. Ez utóbbi elérhető kétdimenziós elektródarács használatával, vagy egyéb kiegészítő technikai alkalmazásával, például un. intrinsic imaging használatával, amely alkalmas az aktivitás kiterjedésének meghatározására a szelettel párhuzamos síkban.

Ugyancsak felvetődik az elemzési technika javításának kérdése. A  $400\ \mu\text{m}$  vastag szelet nem elegendően vastag ahhoz, hogy végtelen kiterjedésűnek, tehát homogénnek legyen tekinthető, így az egydimenziós CSD módszer alkalmazásának egyik alapfeltétele hiányzik. A valódi áramforrás-eloszlás jobb közelítését kaphatnánk egy új inverz módszer alkalmazásával, amely figyelembe veszi a forrástér végességét is (Pettersen és mtsai, 2006). Ez a technika ugyanakkor igényli a forrás kiterjedésének becslését a rétegek mentén, ami további méréseket igényelne.

### 5.2.5. Az *in vitro* és az *in vivo* eredmények összevetése a szimulációk fényében

Ha elfogadjuk, hogy az alkalmazott neuronhálózati modell alapvetően helyesen írja le a 4-AP kiváltotta rohamok során lejátszódó jelenségeket, felmerül a kérdés, hogy mit mondhatunk az *in vitro* kísérletek lehetséges mechanizmusáról a modellezési eredmények fényében. Mint azt már írtam, *in vitro* körülmények között nem csak rövid kísérletek, de hosszabb rohamok is megjelennek, bár sokkal ritkábban. Ez arra utal, hogy a kísérletek és a rohamok létrejöttéért ugyan az a lokális hálózat felelős, a mechanizmusuk között csak mennyiségi, de nem minőségi különbség van. A szimulációk megerősíteni látszanak ezt a feltételezést, hiszen ha a rekurrens kapcsolatok erőssége magasabb mint a normális esetben, de alacsonyabb mint ami a rohamok fenntartásához kell, akkor rövid, nagy amplitúdójú aktivitás tüskék jelennek meg (4.13. B ábra). A modellben az aktivitás tüskék fölfutását a rekurrens serkentő kapcsolatokon terjedő ingerlés eredményezi, míg gyors lecsengésüket a gátló visszacsatolás, amely még elég erős ahhoz, hogy gyors beavatkozással véget vessen a kezdődő rohamnak. Az összehasonlításhoz egyenlőre igen kevés támpontunk van, de ha megpróbáljuk összevetni ezt a jelenséget, a 4-AP okozta kísérletek CSD rétegeloszlásával, valamint az agykéreg kapcsolatairól ismert tényekkel, akkor a IV-dik és II-III-dik rétegbeli forrást az erős rekurrens gátlás jelének tekinthetjük, amely valószínűleg elfedi a rekurrens serkentés okozta nyelőket. A modellben serkentő posztszinaptikus sejtpopuláción gátlás által nem kompenzált serkentés a *P* populáción jelentkezik, tehát ezt azonosíthatjuk az V-dik és VI-dik rétegben megjelenő nyelővel. Ez az értelmezés összecseng azzal a jelenséggel, hogy a BMI hatására a II-III-dik rétegben forrás helyett nyelő jelenik meg. Természetesen a valódi agykérgi hálózat ennél lényegesen bonyolultabb, hiszen például a bikukulin hatására a CSD kép lényegesen bonyolultabbá vált. A kérdés, tehát, hogy az agykéreg réteges szerkezetébe tagozódott idegsejt populációk hogyan vesznek részt az epileptikus dinamikában, még előttünk áll.

### 5.3. A véletlen Boole-hálózatok analitikus eredményeinek megbeszélése

A analitikus számításokkal először Derrida és Pomeau (1986) mutatta meg, hogy a kritikus  $K = 2$  kapcsoltságnál minőségileg megváltozik a rendszer viselkedése: megmutatták, hogy  $K \leq 2$  értékekre két véletlenül kiválasztott pontból induló trajektória távolságának várható értéke csökken a lépések során, míg ennél nagyobb kapcsoltság esetében állandó értékhez tart. Számításaim egyik alapeleme, hogy hasonló gondolatmenettel nem csak két trajektória távolságának időfejlődését lehet meghatározni, hanem egy trajektórián belül, az egymás után következő lépések hosszának időfejlődését is. Ehhez nem kell mást tenni, csak az előbbi gondolatmenet két kezdőpontjába behelyettesíteni a trajektória első és második pontját. Ekkor e két pontból induló trajektóriák második pontjainak távolsága pontosan a harmadik lépés hossza, harmadik pontjainak távolsága megegyezik a negyedik lépés hosszával és így tovább.

Az önelkerülő bolyongást leíró valószínűségi képletekkel együtt ez a megközelítés alkalmas volt a rendszer viselkedését jellemző tranziens és ciklus hosszak kiszámítására. A numerikus számításokkal meghatározott értékeket összehasonlítva a Monte Carlo szimulációkkal megállapíthatjuk, hogy a lépéshosszak változásai lényegileg magyarázatot adnak a tranziensek és a ciklushosszak függésére a hálózat méretétől és kapcsoltság fokától, illetve a rendszer viselkedésének különbségeire a fagyott  $K < 2$ , a kritikus  $K = 2$  és a kaotikus  $K > 2$  tartományban.

Ugyanakkor bizonyos esetekben a számítással meghatározott értékek nagy eltérést mutattak a szimuláció eredményeitől. Ez legnyilvánvalóbban a kaotikus tartományban, de a kritikus kapcsoltsághoz közel, tehát a  $K = 3, 4$  esetekben jelentkezik, ahol az elmélet jelentősen túlbecsüli a szimulált értékeket. Ennek fő oka abban keresendő, hogy számításaimban a hálózatot mindenkor egy egészként kezeltem. Ezzel szemben alacsonyabb kapcsoltságok esetén könnyen előfordulhat, hogy a hálózat nem topológiailag összefüggő, illetve ha topológiailag összefüggő, funkcionálisan még széteső lehet. A funkcionális

szétesés azt jelenti, hogy két egyébként széteső részrendszer között csak olyan élek természetű kapcsolatok, amelyekről mint bemenetektől a megfelelő Boole-függvények nem függenek, azaz a kapcsolat létezik, de nincsen hatása a kimenetre. Ezt a jelenséget vizsgálta Albert és Barabási (2000) tanulmánya, amely a cikkemmel közel egy időben jelent meg. Ha a hálózat topológiailag vagy funkcionálisan széteső, egymástól független alhálózatok alakulnak ki, melyek önállóan járnak be saját állapotkörüket. Ekkor a teljes hálózat állapotkörének hossza az alhálózatok periódusainak legkisebb közös többszöröse lesz. Albert és Barabási (2000) szerint nagy hálózatok esetében a periódusok legnagyobb közös többszöröse jól közelíthető a legnagyobb periódushosszal. Eredményeik igen jól közelítik a szimulációk eredményeit.

Az állapotciklusok hosszát bonyolult sorokkal adtam meg, azonban nagyban hozzájárulna az eredmények jobb megértéséhez, ha találnánk rövid zárt közelítő formulát e sorösszegek és szorzatok tulajdonságainak leírására. Ilyen módon ellenőrizhetővé válna Kauffman eredeti sejtése, miszerint a  $K = 2$  kritikus esetben az állapotciklus hossz közvetlenül a hálózat méretének négyzetgyökével nő.

Követve Kürten (1988a) érveit mondhatjuk, hogy a véletlen Boole-hálózatok elméletében elért eredmények alkalmazhatóak a mesterséges neuronhálózatok, például a Hopfield-típusú neuronhálózatok, illetve általánosabban tekintve a küszöblogikai elemekből felépített attraktor hálózatok leírására. Ezek a hálózatok igen elterjedtek a mesterséges neuronhálózatokkal foglalkozó szakirodalomban, de éppúgy használják őket élettani jelenségek leírását célzó modellekben is. Példaként említhetjük, hogy a kiváltott epileptikus rohamok modellezése során én is McCulloch-Pitts típusú neuron modelleket használtam építőelemként, amelyek a lineárisan szeparábilis speciális esetei az általános Boole-függvényeknek.

A véletlen Boole-hálózatok leírására használt analitikus modell általános elméleti keretként szolgálhat a hálózat szerkezet és dinamika közötti összefüggések megértésében. Más szavakkal vizsgálhatóvá válik, hogy a hálózat szerkezete a valódi térben hogyan feltehető meg egy tartalommal címezhető memória dinamikus szerkezetének a jelentések terében. A kaotikus jelenségek ilyen típusú hálózatokban bizonyos esetekben képesek

növelni a tanulás határfokát (Nara és Davis, 1997).

A zavarok lassú lecsengésének jelenségét a kritikus állapotban, használják ki a liquid state machine-ok (Maass és mtsai, 2002) arra, hogy a beágyazási dimenziószám növelésével lineáris szétválaszthatóvá tegyék az egyébként nem szétválasztható logikai függvényeket. Így véletlen hálózatok felhasználásával oldják meg a McCulloch-Pitts neuronokból felépített hálózatok egyik alap problémáját, miszerint egyrétegű hálózatok csak lineárisan szétválasztható függvények megvalósítására képesek, ugyanakkor a tanulás a legegyszerűbb és a leghatékonyabb egyrétegű hálózatokban.

Milyen következtetést vonhatunk le számításaimból az agy dinamikájára nézve? Mint már írtam, Kauffman (1969) eredeti elmélete szerint a káosz határa, a kritikus, folyékony állapot optimális a rendszer válaszadási képességét tekintve, ez pedig alapvető az idegrendszer, azon belül az agykéreg működése szempontjából. Ha tehát az agykéreg valóban a káosz határán lévő kritikus állapotban működik, dinamikájában felfedezhetőnek kell lenniük a kritikus állapot jellemzőinek.

A kritikus dinamika jellemzői közül példaként tekintsük a rendszer reakcióját a kicsiny zavarokra: Számításaimból kiderül, hogy a véletlen Boole-hálózatok akkor érik el a káosz határát, amikor egy csomópont bemeneteinek számát ( $K = 2$ ) és a csomópont bemeneteinek megváltozása utáni kimenet változás valószínűségét ( $p = 1/2$ ) összeszorozva éppen egyet kapunk. Ekkor egy kicsiny zavar által létrehozott változás várható értéke – legalábbis elsőrendben – éppen akkora mint a zavar maga volt. Tehát elsőrendű közelítésben egy külső behatás várhatóan változatlan amplitúdóval terjed tovább a rendszerben. Ha a magasabb rendű tagokat is figyelembe vesszük, akkor láthatjuk, hogy a zavar végül valószínűleg mégis elhal, de sokkal lassabban mint a fagyott esetben - exponenciális csökkenés helyett hatványfüggvény szerint cseng le. Ez már egy olyan állítás, amelyet közvetlenül alkalmazhatunk az agyra. Tehát az agykérget autonóm dinamikai rendszernek tekintve, amit a külső bemenetek időről időre megzavarnak és feltéve, hogy ez a rendszer a káosz határán lévő kritikus állapotban van, azt kell látnunk, hogy a bemenetek által indított reakciólavinák időtartamának eloszlása hatványfüggvény lecsengést mutat.

A véletlen Boole-hálózatok általános modellje kiterjeszhető új irányok felé is: Az elmúlt években a véletlen hálózatok új osztálya jelent meg a fizikai szakirodalomban, a kis-világ hálózatok, melyeket megtaláltak a légitársaságok járatainak hálózatában éppúgy, mint a világháló szerkezetében (Albert és mtsai, 1999). E hálózatok közös jellemzője, hogy az egy csomópontoz tartozó fokszámok eloszlása nem követi a Gauss-eloszlást, hanem inkább a hatványfüggvény lecsengést követő nehéz farkú eloszlások közé tartoznak. Ez általában azt is jelenti, hogy a csomópontok kapcsolatszámja nem helyettesíthető egyszerűen a várható értékével. A véletlen Boole-hálózatok dinamikájának terén elért elméleti eredmények segíthetnek mindazon dinamikai folyamatok megértésében, amelyek ilyen, vagy egyéb más komplex hálózatokon, például az agykéregben mennek végbe.

## **5.4. Miért fontosak a modellek?**

A Poisson inverz probléma megoldásának Helmholtz-féle korlátja, élesen rámutat, hogy a méréseknek határai vannak. Mivel az áramforrás sűrűség térbeli eloszlását csak akkor ismerhetjük meg, ha a potenciált a teljes térben ismerjük, hiába készítünk akár háromdimenziós elektróda rendszert a legfinomabb térbeli felbontással, a mérési pontok közötti térrészekben továbbra is meghatározatlan marad a potenciál és ezzel meghatározhatatlan a forráseloszlás. Persze nem minden minket érdeklő mennyiség mérésére van ilyen szigorú korlát. Számos olyan kérdést tehetünk fel, az idegrendszer kutatása során, amely méréssel elvileg megválaszolható, ugyanakkor megválaszolásához jelenleg nem áll rendelkezésre megfelelő mérési technika, vagy egyszerűen csak még nem mérték meg. A tudomány fejlődése időről időre előrébb viszi lehetőségeinket, de mindig létezni fog egy határ, amin túl a méretlen és a mérhetetlen terül el, és parancsol megálljt tudásvágyunknak. Nem vagyunk azonban arra kárhóztatva, hogy az érzékelhető és a mérhető világában maradjunk. A modellek, miközben hidat vernek a mért, tapasztalati tények között behatolhatnak és gyakran be is hatolnak a méretlen és a mérhetetlen területére. Ha tehát a modellek sokszor olyan folyamatokról szólnak, amelyek kívül esnek a mérhetőség ha-

tárán, mi különbözteti meg őket az önkényes képzelgésektől? Hiába húzódnak a modellek át a méretlen világán - miközben összekötik a mérhető jelenségeket - mindig következményeik, ellenőrizhető következményeik vannak a mérhető világán belül. Véleményem szerint az állatvilágból való kiszakadásunk egyik legfőbb oka és velejárója, hogy gondolkodásunk elszakadt az érzéketektől és fejünkben modelleket kezdtünk építeni mindenre, amire lehetséges volt. Ma már fel sem tűnik, hogy az idegsejt membránján átfolyó áramot a számítógép képernyőjén megjelenő görbével megszámlálhatatlanul sok, egymásra épülő, többé kevésbé igazolt feltételezés, modell kapcsolja össze. Még a valóban mérhetetlen modellek is társaink a hétköznapi életben. Gondoljunk például az energia megmaradás törvényére: mennyire meghatározza gondolkodásunkat, pedig elképzelni sem lehet olyan mérést, amellyel e törvény valóban kimérhető lenne. A tudomány számára a mérési pontokhoz kipányvázott modellek tehát hidak, amelyek méretlen, de akár mérhetetlen területekre juthatunk el, eszközök e területek felderítésében, melyekkel kijelölhetjük a továbbhaladás irányát és akár építhetünk is rájuk. Az így felderített területek egy részére egyszer majd eljutnak a mérések és igazolják, cáfolják, vagy csak finomítják a modellek feltételezéseit, más részük azonban örökre a mérhetetlenség fátyla mögé rejtezik; mégis ezek a modellek sokszor biztosabbak, mint sok jelenség, amit saját szemünkkel látunk.



## Összefoglalás

Létrehoztam egy új, modell-alapú elemzési módszert amelynek célja, hogy kinyerjük mindazt az információt, amit egy tüzelő idegsejt elektromos tere hordoz a forrásáról. Az elemzés alapján macska agykérgébe ültetett lineáris mikroelektroda-rendszerrel *in vivo* mért, tüzelő idegsejtek által a sejten kívüli térben létrehozott elektromos potenciál mintázatok szolgáltak. A mért térbeli potenciál mintázatok (TPM) alapján megmutattam, hogy sem a monopólus modell, sem bonyolultabb pontforrás modellek nem adják a mért TPM-ok megfelelő leírását. Ezért a tüzelő idegsejtek membránáramainak új modelljét állítottam fel: az ellenáram modellt. Megmutattam, hogy ez pontosabban írja le a mért adatokat és minden paramétere meghatározható a mért TPM-ok alapján numerikus illesztéssel. Az új módszerrel a sejt membránján átfolyó áramforrás-sűrűség (CSD) pontosabban határozható meg, mint a hagyományos CSD módszerrel, mert az ellenáram modell illesztése figyelembe veszi a sejt és az elektróda távolságát és a potenciál távolságfüggését. Ezután az agykérgi dinamikát kiváltott epileptikus aktivitás elemzésével vizsgáltam. A rohamok lefolyását *in vivo* rögzített EKoG alapján, az EKoG frekvencia spektrumának és rekonstruált attraktórnak változásával jellemeztem. Az észlelt jelenségek magyarázataként egyszerű neuronhálózati modellt készítettem, amely jól reprodukálta a rohamok számos jellegzetességét. Ezután három görcskeltő anyag hatására *in vitro* létrejött, 16 csatornás mikroelektroda-rendszerrel rögzített epileptikus aktivitást elemeztem. CSD módszerrel határoztam meg az epileptikus kisülések során létrejött áramforrás-eloszlást az agykéreg különböző rétegeiben. A talált mintázatok jellegzetességeit összehasonlítottam a c-Fos génexpresszió jelölés eredményével. Végül a dinamikai hálózatok egyszerű modelljét, a véletlen Boole-hálózatokat elemeztem. Analitikus közelítéseket vezettem le, amelyek leírják az állapotkörök dinamikájában, kapcsolatsűrűség függvényében megjelenő fázisátalakulást, amely elválasztja a kaotikus és a fagyott fázist egymástól. Az eredményeket összehasonlítottam a szimulációkkal és megállapítottam, hogy a javasolt analitikus leírás minőségileg jól magyarázza a dinamika és a kapcsoltság között észlelt – korábban csak szimulációkkal vizsgált – összefüggéseket.

## **Model based analysis of the cortical dynamics: from single cells to networks**

A new model-based analysis method was set up for revealing information encrypted in extracellular spatial potential patterns of neocortical action potentials. Spikes were measured by extracellular linear multiple microelectrode in vivo cat's primary auditory cortex and were analyzed based on current source density (CSD) distribution models. Validity of the monopole and other point source approximations were tested on the measured potential patterns by numerical fitting. We have found, that point source models could not provide accurate description of the measured patterns. We introduced a new model of the CSD distribution on a spiking cell, called counter-current model. This new model was shown to provide better description of the spatial current CSD of the cell during the initial negative deflection of the extracellular action potential. The new model was tested on simulated extracellular potentials. We proved numerically, that all the parameters of the model could be determined accurately based on measurements. Due to model fitting, CSD could be calculated with much higher accuracy as done with the traditional method because distance dependence of the spatial potential patterns was explicitly taken into consideration in our method. Average CSD distribution of the neocortical action potentials was calculated and spatial decay constant of the dendritic trees was determined by applying our new method. The slow dynamics of epileptic seizures is studied by combining *in vivo* electrophysiology, data analysis by using wavelet transformation and neural network modeling. Even a skeleton model with simple neurodynamics was able to reproduce many characteristics of the epileptic seizure. Then, *in vitro* experiments, interictal epileptiform activity elicited by 4-aminopyridine, bicuculline or  $Mg^{2+}$ -free solution was recorded with a 16-channel multielectrode assembly in different layers of the somatosensory cortex, and classical CSDs were calculated. The characteristics of the CSD activation patterns were determined. Finally, an approximate calculation of the length of state cycles in random Boolean networks, as a function of the size and connectivity of the network was presented. Using an annealed approximation we derive a recursive formula for the length of steps of the system. We have compared the analytical results with Monte Carlo simulations.

## Az értekezés témájához kapcsolódó saját közlemények I.

Referált folyóiratban:

- 2000 SOMOGYVÁRI ZOLTÁN, PAYRITS SZABOLCS. *Length of state cycles of random boolean networks: an analytic study* Journal of Physics A: Mathematical and General 33 (6699-6706).
- 2001 SOMOGYVÁRI ZOLTÁN, BARNA BARBARA, SZÁSZ ANDRÁS, SZENTE B.MAGDOLNA, ÉRDI PÉTER. *Slow dynamics of epileptic seizure: analysis and model* Neurocomputing 38-40 (921-926).
- 2005 SOMOGYVÁRI ZOLTÁN, ZALÁNYI LÁSZLÓ, ULBERT ISTVÁN, ÉRDI PÉTER. *Model-based source localization of extracellular action potentials* Journal of Neuroscience Methods 147 (126-137).
- 2006 BORBÉLY SÁNDOR, HALASY KATALIN, SOMOGYVÁRI ZOLTÁN, DÉTÁRI LÁSZLÓ, VILÁGI ILDIKÓ *Laminar analysis of initiation and spread of epileptiform discharges in three in vitro models* Brain Research Bulletin 69 2 (161-167)

## Az értekezés témájához kapcsolódó saját közlemények II.

Referált konferencia kiadványban:

- 2002 SOMOGYVÁRI ZOLTÁN *Belső reprezentáció neuronhálózatokban: modell alapú tanulás* in: *Evolúció és megismerés*  
Szerk: Kampis György, Ropolyi László, Typotex.
- 2004 SOMOGYVÁRI ZOLTÁN, BORBÁTH GÁBOR, ZALÁNYI LÁSZLÓ, ULBERT ISTVÁN, ÉRDI PÉTER. *Electrode-cell distance estimation method, based on spatial potential patterns of spiking cells* IEEE Proceedings of International Joint Conference on Neural Networks

## Egyéb saját közlemények

Referált folyóiratban:

- 1998 SOMOGYVÁRI ZOLTÁN, ANDAI ATTILA, SZÉKELY GYÖRGY, ÉRDI PÉTER. *On the role of self-excitation in the development of topographic order in the visual system of the frog* BioSystems, 48 (215-222)
- 2003 FÖLDY CSABA, SOMOGYVÁRI ZOLTÁN, ÉRDI PÉTER *Hierarchically organized minority games* Physica A 323 (735-742).

Könyvfejezet:

- 2002 ÉRDI PÉTER, SOMOGYVÁRI ZOLTÁN *Post-Hebbian Learning Algorithms* in: The handbook of brain theory, Second edition eds: M. Arbib, The MIT press Cambridge, MA. (533-539).

Referált konferencia kiadványban:

- 1998 SOMOGYVÁRI ZOLTÁN, ANDAI ATTILA, SZÉKELY GYÖRGY, ÉRDI PÉTER *A self-organizing model of the ontogeny of the frog's visual system: the generation of the anisotropy*. Cybernetics and System Research: 98 (ed. Trappl R), Austrian Society for Cybernetic Studies, Vienna, (317-322)

Ismeretterjesztő:

- 2001 SOMOGYVÁRI ZOLTÁN. *Idegrendszer és belső világ*. Montessori Műhely.

# Irodalomjegyzék

- Abbott LF, Varela A, Sen K, Nelson SB. 1997. Synaptic depression and cortical gain control. *Science* 275:220–224.
- Albert R, Barabási AL. 2000. Dynamics of complex systems: Calculating the period of Boolean networks. *Phys Rev Lett* 84:5660–5663.
- Albert R, Jeong H, Barabási AL. 1999. The diameter of the World-Wide Web. *Nature* 401:130–131.
- Atlan H. 1987. Self creation of meaning. *Phys Scripta* 36:563–576.
- Baillet S, Mosher J C, Leahy RM. 2001. Electromagnetic brain mapping. *IEEE Signal Proc Mag* pp. 14–30.
- Barthó P, Hirase H, Monconduit L, Zugaro M, Harris KD, Buzsáki G. 2004. Characterization of neocortical principal cells and interneurons by network interactions and extracellular features. *J Neurophysiol* 92:600–608.
- Bragin A, Penttonen M, Buzsáki G. 1997. Termination of epileptic afterdischarge in the hippocampus. *J Neurosci* 17:2567–2579.
- Chagnac-Amitai Y, Connors BW. 1989. Horizontal spread of synchronized activity in neocortex and its control by GABA mediated inhibition. *J Neurophysiol* 61:747–758.
- Chelaru MI, Jog MS. 2005. Spike source localization with tetrodes. *J Neurosci Meth* 142:305–315.

- Derrida B. 1987a. Dynamical phase transition in non-symmetric spin glasses. *J Phys A Math Gen* 20:L721–L725.
- Derrida B. 1987b. Valleys and overlaps in Kauffman's model. *Philos Mag B* 56:917–923.
- Derrida B, Flyvbjerg H. 1987. The random map model: a disordered model with deterministic dynamics. *J Phys Paris* 48:971–978.
- Derrida B, Gardner E, Zippelius A. 1987. An exactly solvable asymmetric neural network model. *Eurphys Lett* 4:167–173.
- Derrida B, Pomeau Y. 1986. Random networks of automata: A simple annealed approximation. *Europhys Lett* 1:45–49.
- Destexhe A, Babloyantz A. 1991. Self-Organization, Emerging Properties and Learning, New York:Plenum Press, ch. Deterministic Chaos in a Model of the Thalamo-Cortical System, pp. 127–150. ARW Series.
- Dimitrov AG. 2002. Spike sorting the other way. *Neurocomputing* 52-54:741–745.
- Dóczy J, Banczerowski-Pelyhe I, Barna B, Vilagi I. 1999. Effect of a glutamate receptor antagonist (GYKI 52466) on 4-aminopyridine-induced seizure activity developed in rat cortical slices. *Brain Res Bull* 49:435–440.
- Érdi P, Tóth J. 1989. Mathematical models of chemical reactions, Manchester University Press, pp. 177–181. *Nonlinear science, theory and applications*.
- Flyvbjerg H, Kjær NJ. 1988. Exact solution of Kauffman's model with connectivity one. *J Phys A Math Gen* 21:1695–1718.
- Fogelman Soulie F, Robert Y, Tchuente M (ed.). 1987. Automata networks in computer science: Theory and Applications, Manchester University Press, ch. A.1, pp. 20–34. *Nonlinear science: theory and applications*.

- Fragoso-Veloz J, Massieu L, Alvarado R, Tapia R. 1990. Seizures and wet-dog shakes induced by 4-aminopyridin and their potentiation by nifedipin. *Eur J Pharmacol* 178:275–284.
- Glass L, Hill C. 1998. Ordered and disordered dynamics in random network. *Europhys Lett* 41:599–604.
- Gomez CE (ed.). 1999. *Engineering and Scientific Computing with Scilab*. Springer. <http://scilabsoft.inria.fr/>.
- Gray CM, Maldonado PE, Wilson M, McNaughton B. 1995. Tetrodes markedly improve the reliability and yield of multiple single-unit isolation from multi-unit recordings in cat striate cortex. *J Neurosci Meth* 63:43–54.
- Gulyás-Kovács A, Dóczy J, Tarnawa I, Détári L, Banczerowski-Pelyhe I, Vilagi I. 2002. Comparison of spontaneous and evoked epileptiform activity in three in vitro epilepsy models. *Brain Res* 945:174–180.
- Halász P, Rajna P. 1990. *Epilepszia*, Innomark, pp. 221–225.
- Hämäläinen MS, Ilmoniemi RJ. 1984. Interpreting measured magnetic fields of the brain: estimates of current distributions. *technikai kozlemeney TKK-F-A599*, Helsinki University of Technology.
- Harris B. 1960. Probability distribution related to random mappings. *Annu Math Stat* 31:1045–1062.
- Helmholtz HLF. 1853. Ueber einige gesetze der vertheilung elektrischer ströme in körperlichen leitern mit anwendung auf die thierisch-elektrischen versuche. *Ann Physik und Chemie* 89:211–33, 354–77.
- Henze DA, Borhegyi Z, Csicsvári J, Akira M, Harris KD, Buzsáki G. 2000. Intracellular features predicted by extracellular recordings in the hippocampus in vivo. *J Neurophysiol* 84:390–400.



- Herdegen T, Leah JD. 1998. Inducible and constitutive transcription factors in the mammalian nervous system: control of gene expression by jun, fos and krox, and CREB/ATF proteins. *Brain Res Brain Res Rev* 28:370–490.
- Herdegen T, Sandkuhler J, Gass P, Kiessling M, Bravo R, Zimmermann M. 1993. Jun, fos, krox, and creb transcription factor proteins in the rat cortex: basal expression and induction by spreading depression and epileptic seizures. *J Comp Neurol* 333:271–288.
- Hilhorst HJ, Nijmeijer M. 1987. On the approach of the stationary state in Kauffman's random boolean network. *J Phys Paris* 48:185–191.
- Hines M. 1989. A program for simulation of nerve equations with branching geometries. *Int J Biomed Comput* 24:55–68. <http://www.neuron.yale.edu/>.
- Holt G, Koch C. 1999. Electrical interactions via the extracellular potential near cell bodies. *J Comput Neurosci* 6:169–184.
- Jan N. 1988. Multifractality and the Kauffman model. *Journal of Physics A Math Gen* 21:L899–L902.
- Jog MS, Connolly CI, Kubota Y, Iyengar DR, Garrido L, Harlan R, Graybiel AM. 2002. Tetrode technology: advances in implantable hardware, neuroimaging, and data analysis techniques. *J Neurosci Methods* 117:141–152.
- Johnston D, Wu MS. 1995. *Foundations of cellular neurophysiology*, MIT Press, pp. 68–69,82.
- Kauffman SA. 1969. Homeostasis and differentiation in random genetic control networks. *Nature* 224:177–178.
- Kauffman SA. 1984. Emergent properties in random complex automata. *Physica D* 10:145–156.

- Kauffman SA. 1989. *Origins of Order: Self-Organization and Selection in Evolution*, Oxford: Oxford University Press, pp. 237,287.
- Kürten KE. 1988a. Correspondence between neural threshold networks and Kauffman's boolean cellular automata. *J Phys A Math Gen* 21:L615–L619.
- Kürten KE. 1988b. Critical phenomena in model neural networks. *Phys Lett A* 129:157–160.
- Kürten KE, Beer H. 1997. Inhomogenous Kauffman models at the borderline between order and chaos. *J Stat Phys* 87:929–935.
- Luque B, Solè RV. 1997. Phase transitions random networks: Simple analytic determination of critical points. *Physical Review E* 55:257–260.
- Maass W, Natschläger T, Markram H. 2002. Real-time computing without stable states: A new framework for neural computation based on perturbations. *Neur Comput* 14:2531–2560.
- Mainen ZF, Sejnowski TJ. 1996. Influence of dendritic structure on firing pattern in model neocortical neurons. *Nature* 382:363–366.
- Malmivuo J, Plonsey R. 1995. *Bioelectromagnetism*, Oxford University Press, pp. 134,166.
- McCulloch WS, Pitts W. 1943. A logical calculus of the ideas immanent in nervous activity. *B Math Biophys* 5:115–133.
- Mehta RM, Dasgupta C, Ullal RG. 1996. *Neural Modeling of Brain and Cognitive Disorders*, World scientific Publishers, ch. A neural network model for kindling of focal epilepsy, pp. 347–375.
- Mitzdorf U. 1985. Current source-density method and application in cat cerebral cortex: investigation of evoked potentials and EEG phenomena. *Physiol Rev* 65:37–100.

- Morgan JJ, Curran T. 1991. Stimulus-transcription coupling in the nervous system: involvement of the inducible proto-oncogenes fos and jun. *Annu Rev Neurosci* 14:421–451.
- Nara S, Davis P. 1997. Learning feature constraints in a chaotic neural memory. *Phys Rev E* 55:826–830.
- Nicholson C, Freeman WJ. 1975. Theory of current source-density analysis and determination of conductivity tensor for anuran cerebellum. *J Neurophysiol* 38:356–368.
- Nicholson C, Llinas R. 1971. Field potentials in the alligator cerebellum and theory of their relationship to Purkinje-cell dendritic spikes. *J Neurophysiol* 34:509–531.
- Pascual-Marqui RD, Michel CM, Lehmann D. 1994. Low resolution electromagnetic tomography: a new method for localizing electrical activity in the brain. *Int J Psychophysiol* 18:49–65.
- Perreault P, Avoli M. 1991. Physiology and pharmacology of epileptiform activity induced by 4-aminopyridine in rat hippocampal slices. *Journal of Neurophysiology* 65:771–785.
- Pettersen KH, Devor A, Ulbert I, Dale AM, Einevoll GT. 2006. Current-source density estimation based on inversion of electrostatic forward solution: Effect of finite extent of neuronal activity and conductivity discontinuities. *J Neurosci Meth* 154:116–133.
- Pouzat C, Mazon O, Laurent G. 2002. Using noise signature to optimize spikesorting and to assess neuronal classification quality. *J Neurosci Meth* 115:1–15.
- Rall W. 1962. Electrophysiology of a dendritic neuron model. *Biophys J* 2:91–93.
- Rall W, Shepherd GM. 1968. Theoretical reconstruction of field potentials and dendritic synaptic interactions in olfactory bulb. *J Neurophysiol* 31:884–915.
- Rössler OE. 1976. An equation for continuous chaos. *Phys Lett* 57A:397–398.

- Sargsyan AR, Papatheodoropoulos C, Kostopoulos GK. 2001. Modeling of evoked field potentials in hippocampal CA1 area describes their dependence on NMDA and GABA receptors. *J Neurosci Meth* 104:143–153.
- Schulman LS, Seiden PE. 1986. Percolation and galaxies. *Science* 233:425–431.
- Stauffer D. 1987. Random Boolean networks: Analogy with percolation. *Phil Mag B* 56:901–916.
- Szente MB, Baranyi A. 1987. Mechanism of aminopyridine-induced ictal seizure activity in the cat neocortex. *Brain Res* 413:368–373.
- Szente MB, Boda B. 1994. Cellular mechanisms of neocortical secondary epileptogenesis. *Brain Research* 648:203–214.
- Ulbert I, Halgren E, Heit G, Karmos G. 2001. Multiple microelectrode - recording system for human intracortical applications. *J Neurosci Meth* 106:69–79.
- Valenzuela V, Benardo LS. 1995. An in vitro model of persistent epileptiform activity in neocortex. *Epilepsy Res* 21:195–204.
- Varona P, Ibarz MJ, López-Aguado L, Herreras O. 2000. Macroscopic and subcellular factors shaping population spikes. *J Neurophysiol* 83:2192–2208.
- Whitney H. 1936. Differentiable manifolds. *Ann Math* 37:645–680.
- Ziburkus J, Cressman JR, Baretto E, Schiff SJ. 2006. Interneuron and pyramidal cell interplay during in vitro seizure-like events. *J Neurophysiol* 95:3948–3954.