

SZOTE Élettani Intézet és JATE Kibernetikai Laboratórium

Elemi idegi folyamat matematikai analízise

Török Attila, Máté Eörs, Szekeres László, Bohus Mihály és Fodor Zsuzsa

Puhatestű állatokon végzett idegrendszeri vizsgálataink során szükségesnek láttuk, hogy finomabb analízis alá vegyük az egysejtaktivitást. A kollokvium címe alapján úgy véljük, hogy akkor járunk el helyesen, ha ezen elemi idegi folyamatok vizsgálatában alkalmazott mérési, regisztrálási és feldolgozási módszereinket domborítjuk ki.

Vizsgálatainkhoz a *Helix pomatia* L. (éti csiga) garatalatti ganglionjait választottuk, melyek azzal az előnyös tulajdonsággal rendelkeznek, hogy számos u.n. órlás idegsejtet tartalmaz. Ezen idegsejtek egyikének érdekes működési sajátosságai vannak, amelyek különösen alkalmasak arra, hogy rajtuk keresztül demonstráljuk eredményeinket. Az ehhez hasonló módon működő neuronokat Arvanitaki és Chalazonitis (1955) vizsgálatai óta az irodalom Br-sejteknek nevezi.

Mint ismeretes az idegsejt membránja elektromosan hyperpolarizált állapotban van mindaddig, amíg nem kerül ingerületbe. Ez esetben polaritása rövid időre ellenkező előjelű lesz. Tehát az idegsejt fizikai mérések során felfogható mint egy rendkívül kis teljesítményű feszültség-generátor. Az ingerület alatti feszültségváltozást akciós potenciálnak nevezzük, de sok esetben a spike elnevezés is használatos. Mi a rövideg kedvéért előadásunkban az utóbbi megjelölést használjuk.

Kísérleteinknél a gangliont *in vitro* vizsgáltuk. A megfelelő sejtet preparálós mikroszkóp alatt kerestük ki. A mérések alatt a preparátumot fiziológiai csiga-Ringerben tartottuk.

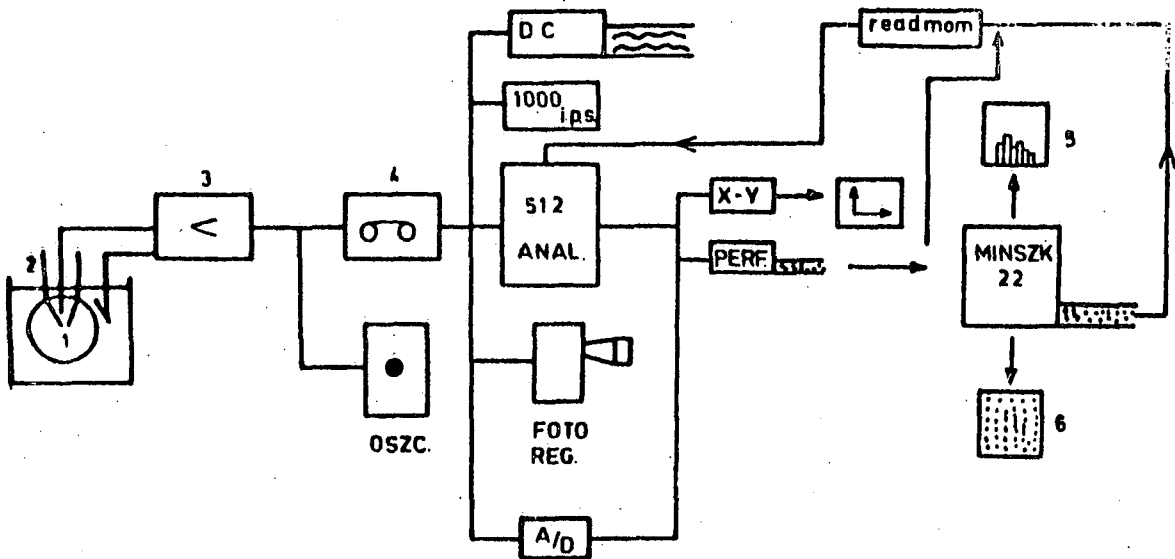
Az 1. ábrán látható a mérési és az adatfeldolgozó rendszer blokk-diagramja. Az idegsejtből (1) üveg mikroelektrodával (2) vezetjük el az elektromos aktivitást, egy MIKI gyártmányú 1623 típusú biológiai erősítőhöz. (3). A felerősített jelet oszcilloszkópon történő vizuális ellenőrzés mellett Philips gyártmányú ANALOG-7 típusú mágneses jeltárolóra visszük. Itt említjük meg, hogy ezzel a készülékkel négy különböző sebességgel lehet felvételt készíteni, illetve azt lejátszani. Ez lehetővé teszi a kísérlet során rögzített folyamatok 2x, 4x, 8x, 16x és 32x-es gyorsítását, illetve lassítását az analízis során. Tehát pl. ha a vizsgált jelenségnek a részletei is érdekelnek, akkor a legnagyobb sebességgel

készítjük a felvételt, visszajátzásnál pedig a leglassubbat használjuk. Mi ezt a módszert az akciós potenciálok jelalakjának analizésénél alkalmaztuk úgy, hogy a visszajátzásnál 32x-es lassítást használtunk. Ez a lassított jel analóg-digitál konverter által vezérelt Facit perforálón keresztül 8 csatornás lyukszalagra kerül. Mivel a konverter másodpercenként 150-szer mérte meg a jeltárolóból jött feszültségingadozás amplitudó-értékét, ezért az eredeti folyamatnak közel 0,2 msec-kénti feszültségértékeit nyertük digitálisan a további számítógépes feldolgozásra. Sok esetben azonban ilyen finom felbontásra nincs szükség. Fordított üzemmódot érdemes választani, ha a kísérletnek az a célja, hogy több órás változás tendenciáját vizsgáljuk meg. Ekkor, ha leglassabb sebességfokozattal készítjük a felvételt és a meglévő csatornákat egymásután használjuk, akkor egy kazettára közel 2 napos felvételt lehet rögzíteni. Ugyanakkor értékelésnél az esetleg 2 óra alatt visszajátzható.

A mágneses jeltárolóból a kísérletek befejezése után az analizálandó részleteket KFKI gyártmányu NTA 512 típusu sokcsatornás analizátorba visszük. Az így nyert adatokat további számítógépes analizis céljára is alkalmas formában ugyancsak lyukszalagra rögzítjük, melyeken a következő összefüggések lehetnek:

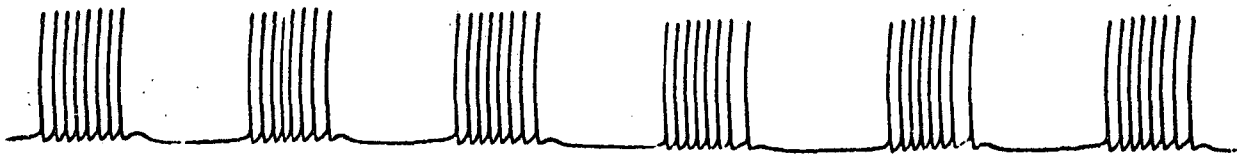
- a) szekvenciális interspike-idő intervallum értékek
- b) interspike-, inter-burst hisztogramok
- c) akciós potenciál jelalakja
- d) spikesűrűség időbeli változása
- e) auto- és kereszt-korrelogram

Mód van az analizátorból az adatok kimentésére a már említett lyukszalagos rögzítés mellett a display fényképezése vagy annak X-Y íróra való kivételé által. Hasznosnak bizonyult az értékelendő részek kiválogatása úgy, hogy a mágneses jeltárolóból a jeleket egy DC erősítőbe vittük, mely 4 csatornás tintairós regisztrátumot készít. Mi erre a célra Galileo gyártmányu R 35 f típusu polifiziográfot használtunk. Egy ilyen regisztrátumot mutatunk be a 2. ábrán, mely a Br-sejt jellemző működését írja le. Látható, hogy az egymást követő kisülések csoportokban, ugynevezett burst-ökben jelentkeznek, és a sorozatokon belül az interspike-időintervallumok hossza bizonyos törvényszerűséget mutat. Az ilyen típusu kisüléssorozatok analizésének szempontjait a 3. ábra szemlélteti. Az alkalmazott jelölések értelmezése: i a burst sorszám, T_i az i . burst-ben az utolsóelőtti és az utolsó spike között eltelt idő, n_i az i . burst spike-jainak darabszáma, τ_{in_i} ugyanezen kisüléssorozat utolsó spike-jának jelzélessége, Δ_i az i . és az $i+1$. burst között eltelt idő hossza. A 3. ábra c. része a fenti adatokból készített statisztikák táblázatát mutatja. (Sz.Br_{oc}. 1971).



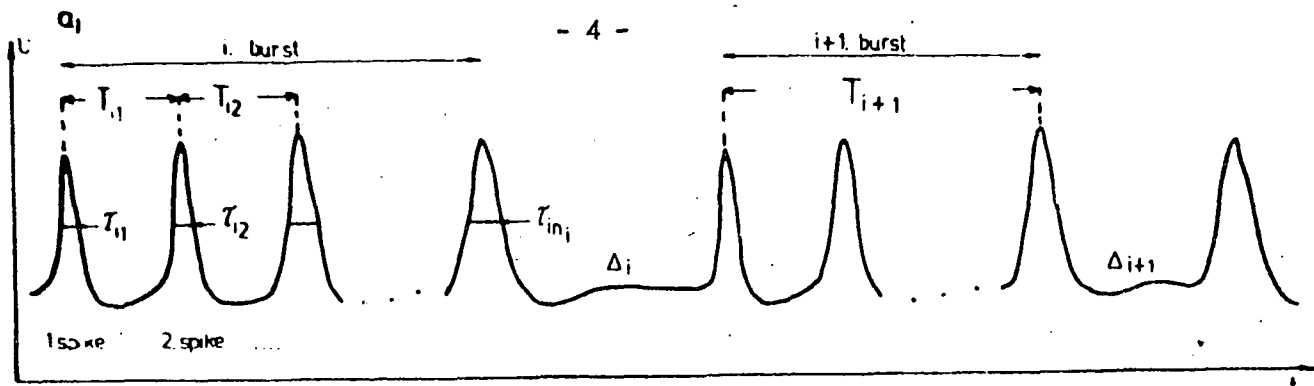
1. ábra

A berendezés blokkképe



2. ábra

BR típusú kislés sorozat



b_j

1.	i	n _i	T _{i,1}	T _{i,2}	...	T _{i,k}	...	T _{i,n_i-1}	T _i	Δ _i	$i = 1, 2, \dots, N$ $1 \leq n_i \leq n$ $T_i = \sum_{k=1}^{n_i} T_{i,k}$ $t = \sum_{i=1}^N T_i + \Delta_i$
2.	i	n _i	T _{i,1}	T _{i,2}	...	T _{i,k}	...	T _{i,n_i-1}	T _i	Δ _i	
...											
i.	i	n _i	T _{i,1}	T _{i,2}	...	T _{i,k}	...	T _{i,n_i-1}	T _i	Δ _i	

c_j: pl.

	n _i	T ₁	T ₂	...	T	Δ
előfordulások száma	177	177	177		177	176
átlag	859	413,8	342,8		2856	4251
szórás
konfidencia int.

3. ábra

a.) A kisléssorozat jelölései

b.) A sorozat-kikereső táblázat elve

c.) A kislési mintázat statisztikai adatai

	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80
0	334	300	124	110	351	173	482	...	0	1
0	174	344	113	111	371	134	379	...	0	1
0	194	309	109	108	321	154	422	...	0	1
0	430	307	101	90	313	135	377	...	0	1
0	423	335	114	110	370	137	341	...	0	1
0	408	334	113	97	313	104	379	...	0	1
0	433	343	111	98	358	110	346	...	0	1
0	423	347	109	90	302	107	383	...	0	1
0	387	324	117	113	376	145	383	...	0	1
10	424	307	108	101	295	145	347	...	548	1
0	384	314	98	100	311	157	343	...	321	0	1
0	420	347	111	109	335	138	417	...	437	0	1
0	432	334	105	119	309	118	384	...	481	0	1
0	411	324	117	109	319	144	404	...	481	0	1
0	423	315	117	118	340	144	330	...	484	0	1
0	403	307	109	108	311	119	408	...	419	0	1
0	430	307	109	118	342	114	408	...	424	0	1
0	443	371	108	97	317	134	398	...	408	0	1
0	423	341	109	98	342	130	383	...	408	0	1
0	434	374	102	107	357	127	478	...	307	0	1
0	442	382	100	141	343	153	389	...	437	0	1
7	441	370	100	124	358	148	0	1
0	411	331	103	108	344	117	441	0	1
0	374	307	113	110	317	177	482	0	1
0	379	307	103	109	334	163	512	0	1
0	427	323	102	108	302	147	438	0	1
0	424	304	111	109	323	143	393	...	481	0	1
0	451	375	105	102	371	143	300	0	1
0	431	357	101	108	311	165	417	0	1
0	413	344	114	104	314	151	416	0	1
0	418	363	107	108	344	154	432	0	1
0	424	367	107	111	377	147	403	...	384	0	1
0	387	324	102	108	314	154	413	...	327	0	1
0	418	318	115	121	317	184	301	0	1
0	387	307	104	110	308	154	374	...	537	0	1
0	387	307	104	110	308	154	374	0	1
0	427	323	102	108	302	147	438	0	1
0	424	304	111	109	323	143	393	...	481	0	1
0	451	375	105	102	371	143	300	0	1
0	431	357	101	108	311	165	417	0	1
0	413	344	114	104	314	151	416	0	1
0	418	363	107	108	344	154	432	0	1
0	424	367	107	111	377	147	403	...	384	0	1
0	387	324	102	108	314	154	374	...	537	0	1
0	418	318	115	121	317	184	301	0	1
0	387	307	104	110	308	154	374	0	1
0	427	323	102	108	302	147	438	0	1
0	424	304	111	109	323	143	393	...	481	0	1
0	451	375	105	102	371	143	300	0	1
0	431	357	101	108	311	165	417	0	1
0	413	344	114	104	314	151	416	0	1
0	418	363	107	108	344	154	432	0	1
0	424	367	107	111	377	147	403	...	384	0	1
0	387	324	102	108	314	154	374	...	537	0	1
0	418	318	115	121	317	184	301	0	1
0	387	307	104	110	308	154	374	0	1
0	427	323	102	108	302	147	438	0	1
0	424	304	111	109	323	143	393	...	481	0	1
0	451	375	105	102	371	143	300	0	1
0	431	357	101	108	311	165	417	0	1
0	413	344	114	104	314	151	416	0	1
0	418	363	107	108	344	154	432	0	1
0	424	367	107	111	377	147	403	...	384	0	1
0	387	324	102	108	314	154	374	...	537	0	1
0	418	318	115	121	317	184	301	0	1
0	387	307	104	110	308	154	374	0	1
0	427	323	102	108	302	147	438	0	1
0	424	304	111	109	323	143	393	...	481	0	1
0	451	375	105	102	371	143	300	0	1
0	431	357	101	108	311	165	417	0	1
0	413	344	114	104	314	151	416	0	1
0	418	363	107	108	344	154	432	0	1
0	424	367	107	111	377	147	403	...	384	0	1
0	387	324	102	108	314	154	374	...	537	0	1
0	418	318	115	121	317	184	301	0	1
0	387	307	104	110	308	154	374	0	1
0	427	323	102	108	302	147	438	0	1
0	424	304	111	109	323	143	393	...	481	0	1
0	451	375	105	102	371	143	300	0	1
0	431	357	101	108	311	165	417	0	1
0	413	344	114	104	314	151	416	0	1
0	418	363	107	108	344	154	432	0	1
0	424	367	107	111	377	147	403	...	384	0	1
0	387	324	102	108	314	154	374	...	537	0	1
0	418	318	115	121	317	184	301	0	1
0	387	307	104	110	308	154	374	0	1
0	427	323	102	108	302	147	438	0	1
0	424	304	111	109	323	143	393	...	481	0	1
0	451	375	105	102	371	143	300	0	1
0	431	357	101	108	311	165	417	0	1
0	413	344	114	104	314	151	416	0	1
0	418	363	107	108	344	154	432	0	1
0	424	367	107	111	377	147	403	...	384	0	1
0	387	324	102	108	314	154	374	...	5				

A 4. ábra az előző ábra b részében közölt szempontok alapján MINSZK-22 típusu digitális nagyszámítógépen kiszámított és kinyomtatott eredménytáblázatának egy protokoll példánya. Az itt alkalmazott fejléc jelölései alatt a következőket kell érteni "NDB" az egyes burst-ökben található spike-ok darabszáma, "NAGYTEEK" a burstok időtartama, "IDO MSEC" a folyamatos idő. Amennyiben egy sorozat 10 spike-nál többet tartalmaz, a kinyomtatástól függetlenül további feldolgozás céljából ez az érték is bent marad a számítógép memóriájában. (Kísérlet jele: T.lir. 1972).

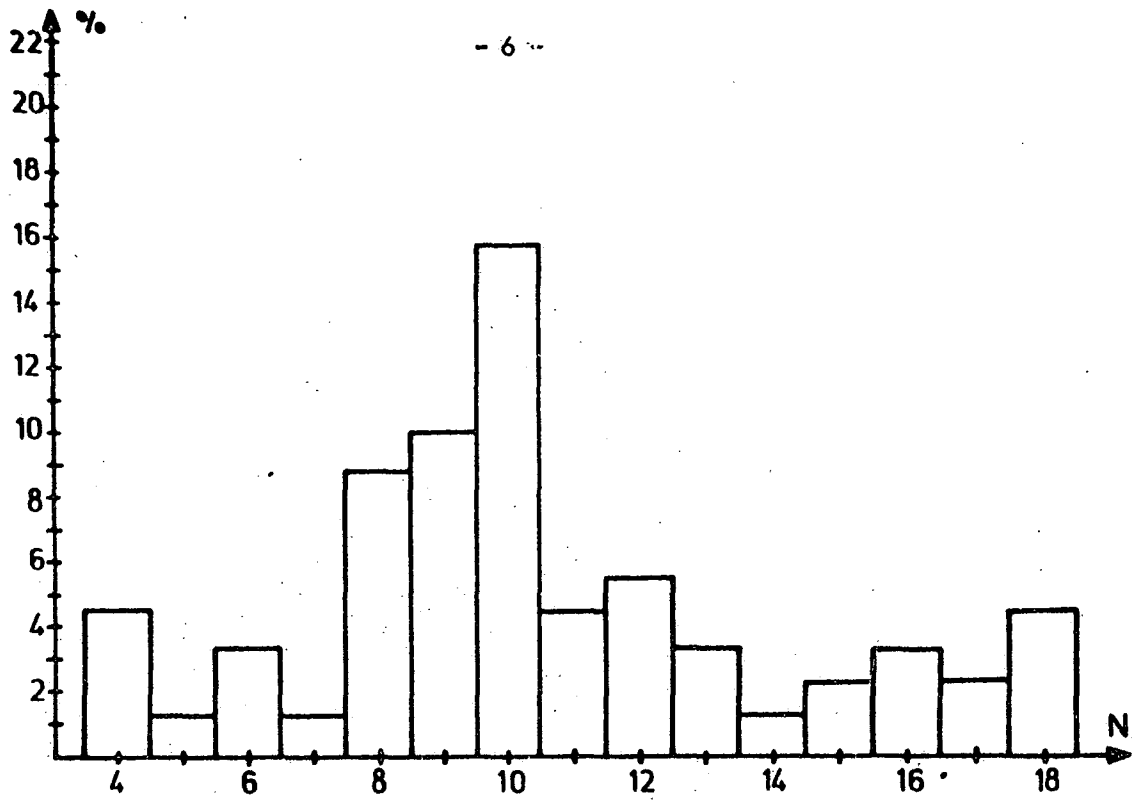
Az 5. ábra egy Br-sejt kislúlési mintázatának hisztogramja, N: a burst-ön belüli spike-ok darabszáma. (Kísérlet jele: Sz.Br β .1972).

A fenti kísérletből kiválasztottunk 10 akciós potenciálból álló burst-öknek sajátos viselkedést mutató sorozatát. A 6. ábrán ábrázoltuk ennek a 22 tagból álló train-nek az átlagaiból számított interspike (T) - idő (t) és frekvencia (ν) - idő (t) összefüggéseit. Az előző összefüggést szaggatott, az utóbbit pedig folyamatos vonallal rajzoltuk. Az alsó sor mutatja az átlag kislúlési mintázatot.

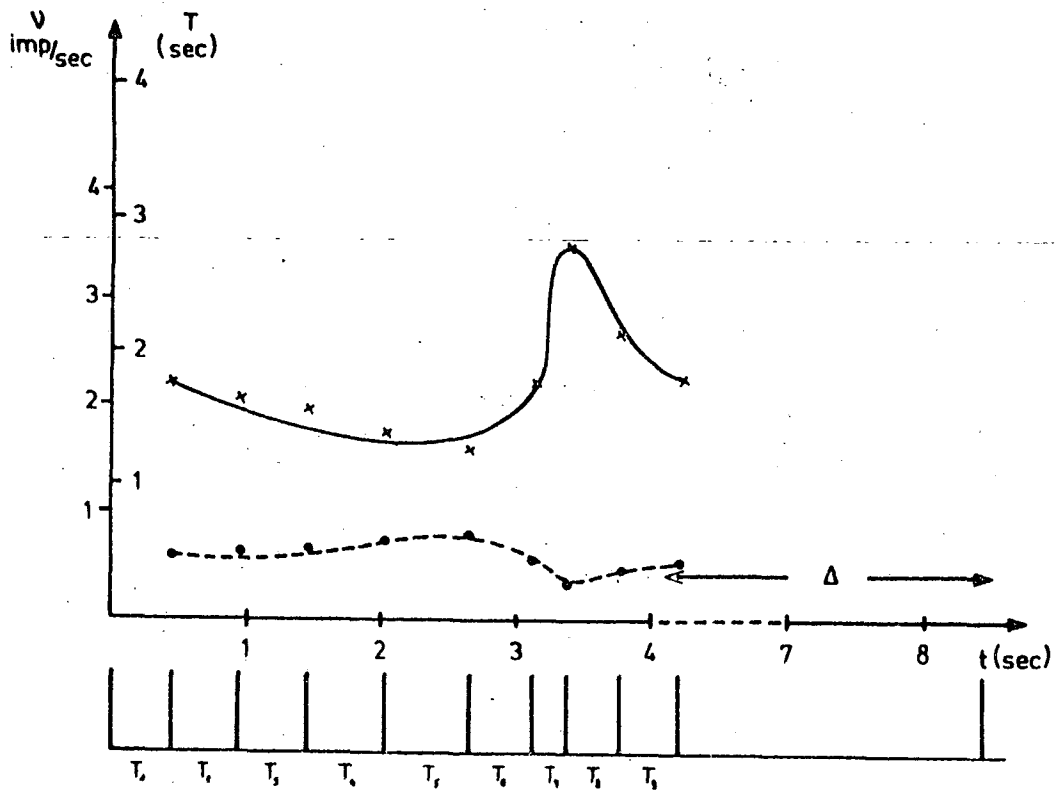
Ugyancsak nagyszámítógéppel rendeztük és számítottuk ki az egy kísérleten belüli burst-ök első, második, ... interspike-időintervallumainak statisztikai jellemzőit. A 7. ábrán látható a számítógép szélesnyomatóján kiadott első öt interspike hisztogram, az oszlopok alatti első számsor a darabszámot, a második a %-ot, a harmadik pedig az intervallumok felső határát jelenti. (Kísérlet jele: Sz. Br γ 1971).

Sajátos viselkedést mutat az egy sorozaton belül egymás után következő akciós potenciálok lefutása. Azt tapasztaltuk, hogy spike-ok jelszélessége egy sorozaton belül egyre nő. A 8. ábra egy 9 tagból álló kislúlési sorozat akciós potenciáljainak időbeli lefutását mutatja egymásra fotózva. (Kísérlet jele: Sz. Br. 1971.)

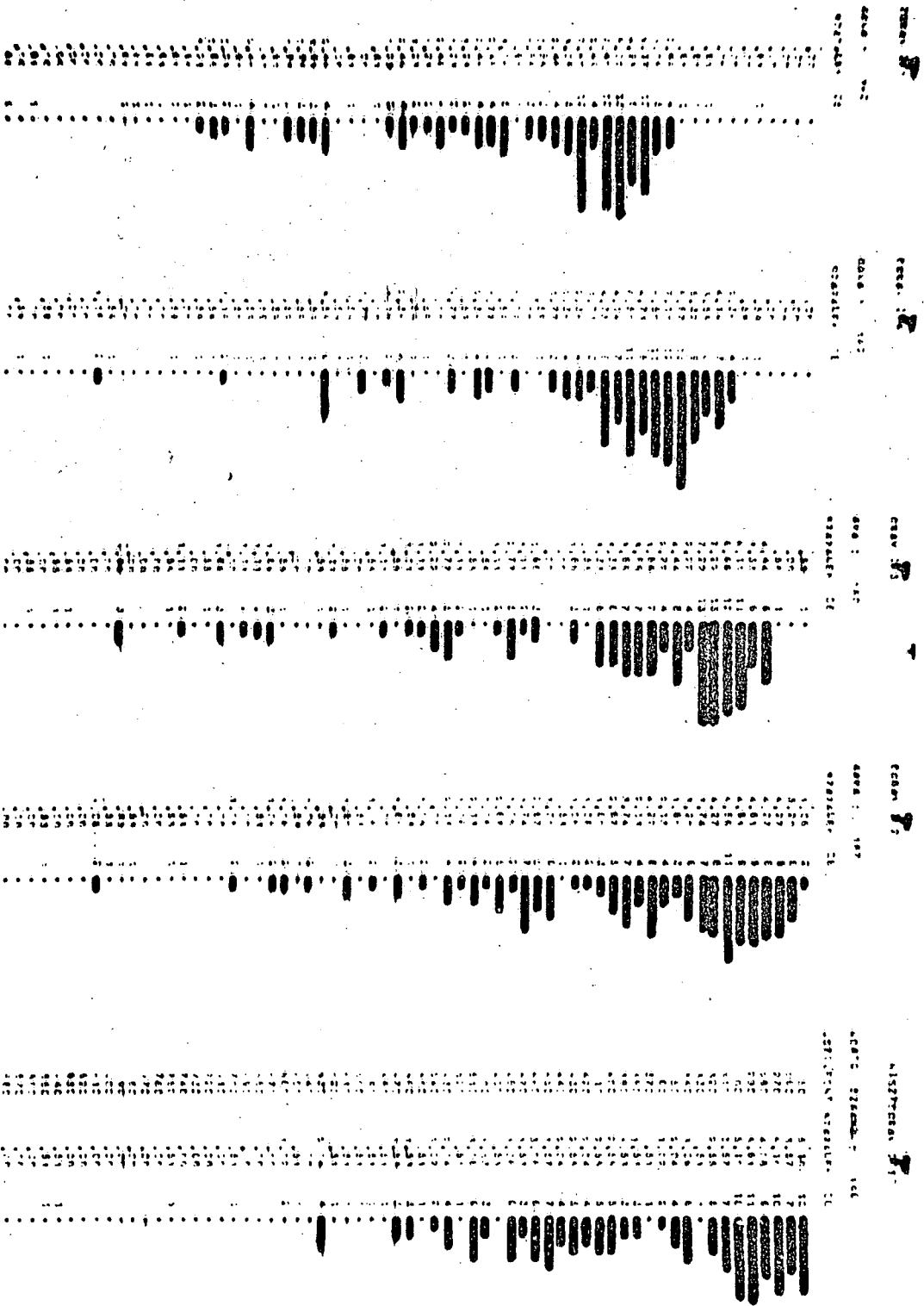
A jelszélesség-analízis finomabb elvégzése érdekében az oszcilloszkópos felvételek mellett idődigitalizálást is alkalmaztunk. A használt két módszer egyike a következő volt. A 9. ábrán látható egyetlen akciós potenciál (felső vonal), ennek egy céláramkörben megjelenő digitalizált alakja (középső vonal), valamint a legalsó vonal ennek az akciós potenciálnak a jelszélessége. Ez utóbbi került be az analízátorba, ahonnan az értéket msec-os pontossággal lyukszalagra rögzítettük. A másik módszer a jelalak-analízishez nagy lassítással felvett finom felbontású lyukszalagos technika volt. A MINSZK-22 számítógéppel a lyukszalagról kikerestük az akciós potenciálokat és azt a 10. ábra szerint kinyomtattuk. Vízszintes irányban két pont közötti távolság 0.832 msec-nak felel meg, a függőleges irányban a lépték: számértékenként 0,5 mV. A képen csak minden 3. számértéknek megfelelő szélesség van kinyomtatva. A kép bal felső sarkában



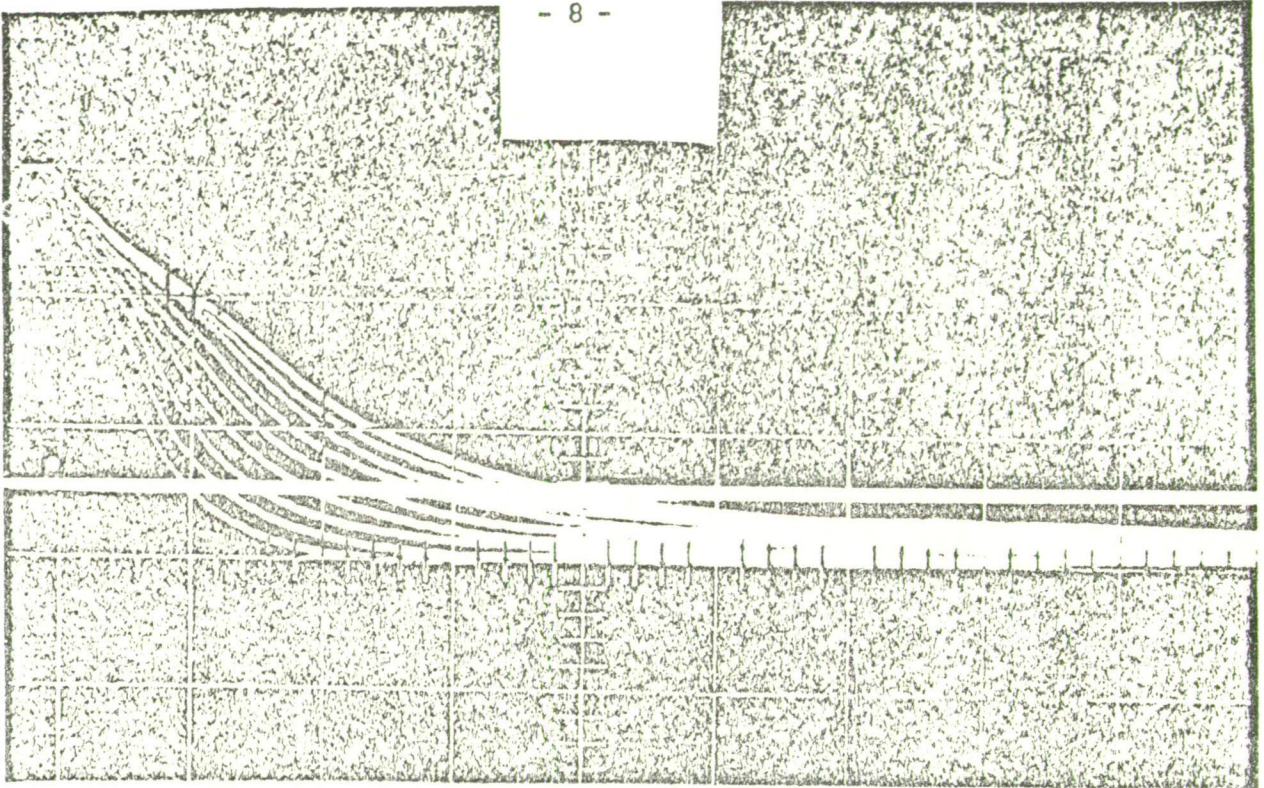
5. ábra
Burstök hisztogramja



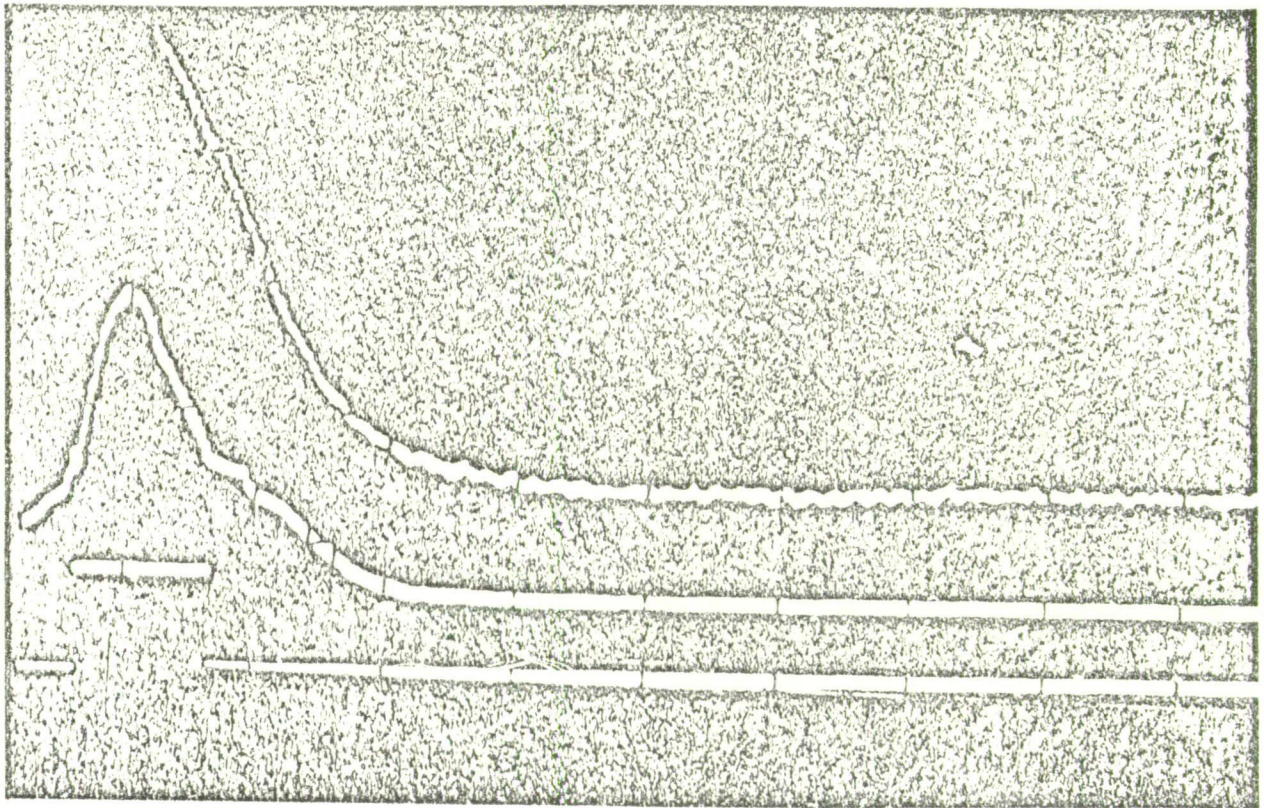
6. ábra



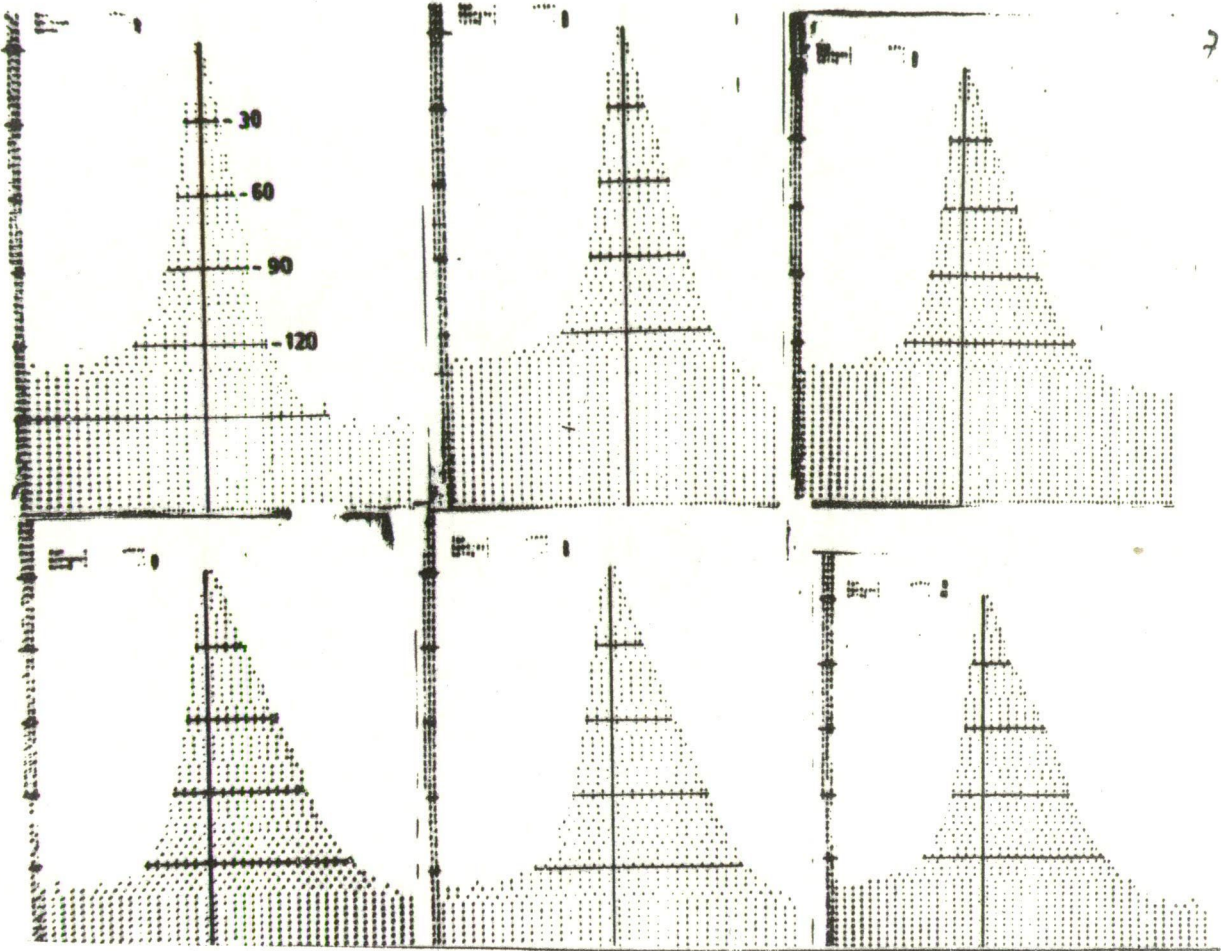
7. ábra
 Interspiké intervallumok hisztogramjai



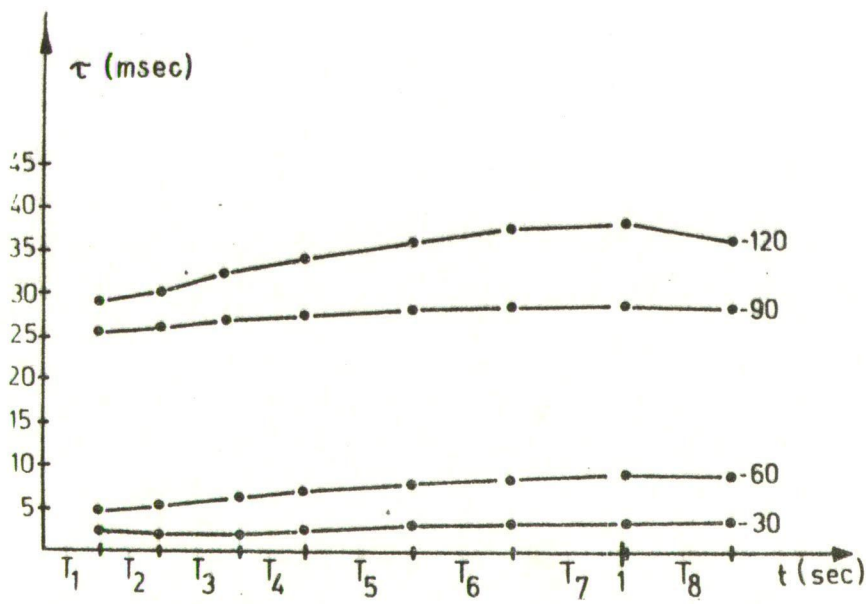
8. ábra



9. ábra



10. ábra



11. ábra

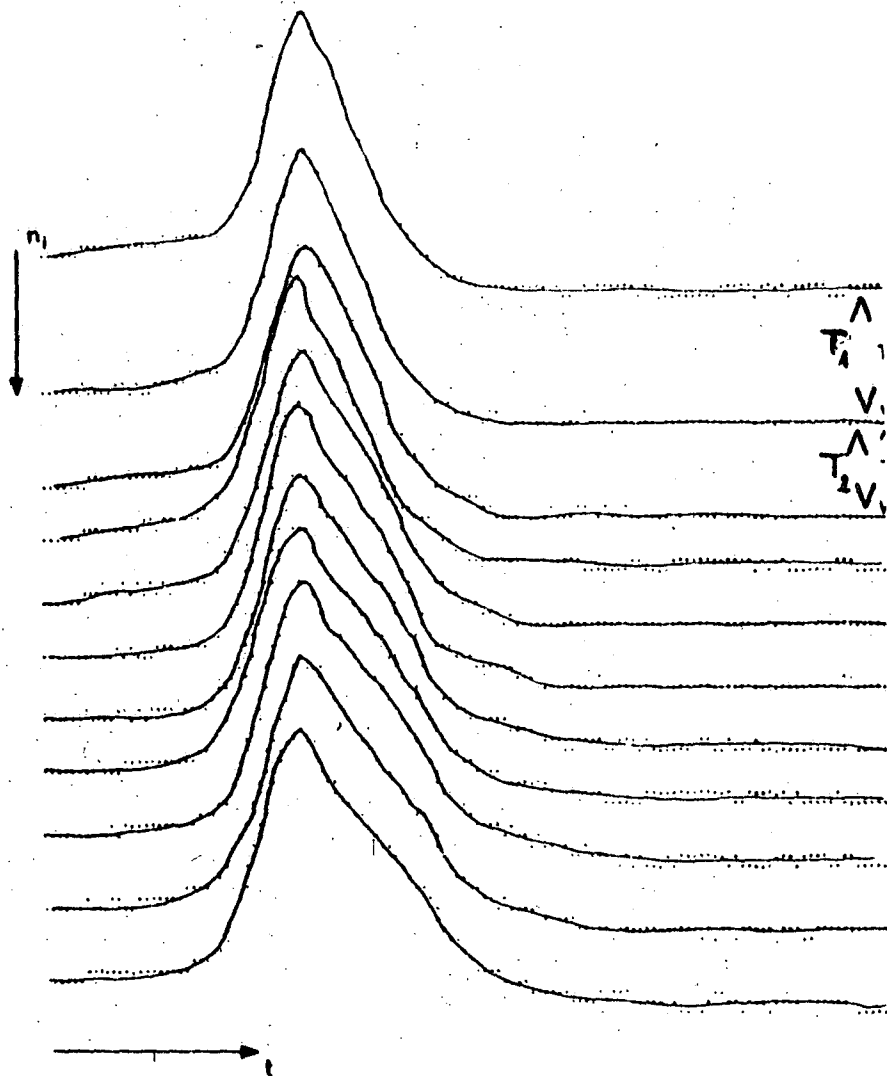
levő adatok: a kísérlet kezdetétől eltelt idő, a burst sorozatszám és a spike burst-on belüli sorszáma. Megnéztük, hogy az akciós potenciál tengelyére merőlegesen négy különböző magasságban milyen széles a spike. Ezek a szélességek csucstól lefelé 30, 60, 90 és 120 egységgel lettek megmérve, melyek értelemszerűen 15, 30, 45 és 60 mV levonását jelentik a csucspotenciálból. (Kísérlet jele: Sz. Br. 1972.)

Számítógépes programmal kaptuk meg az akciós potenciálok különböző magasságokban levő jelszélességeit is. Ezek (τ), időtől (t) való változását mutatjuk be a 11. ábrán. (Kísérlet jele: Sz. Br. 1971.)

Egy reprezentatív burst számítógép szélesnyomatója által kirajzolt spike-jait demonstráljuk a 12. ábrán. A sorozat első akciós potenciálja van legfelül, majd az azt követők rendre egymás alatt. A spike-ok egymástól mért függőleges távolsága arányos a köztől eltelt idővel (T), míg a vízszintes tengely a folyamatos időt (t) jelenti. (Kísérlet jele: T.Br. 1972.)

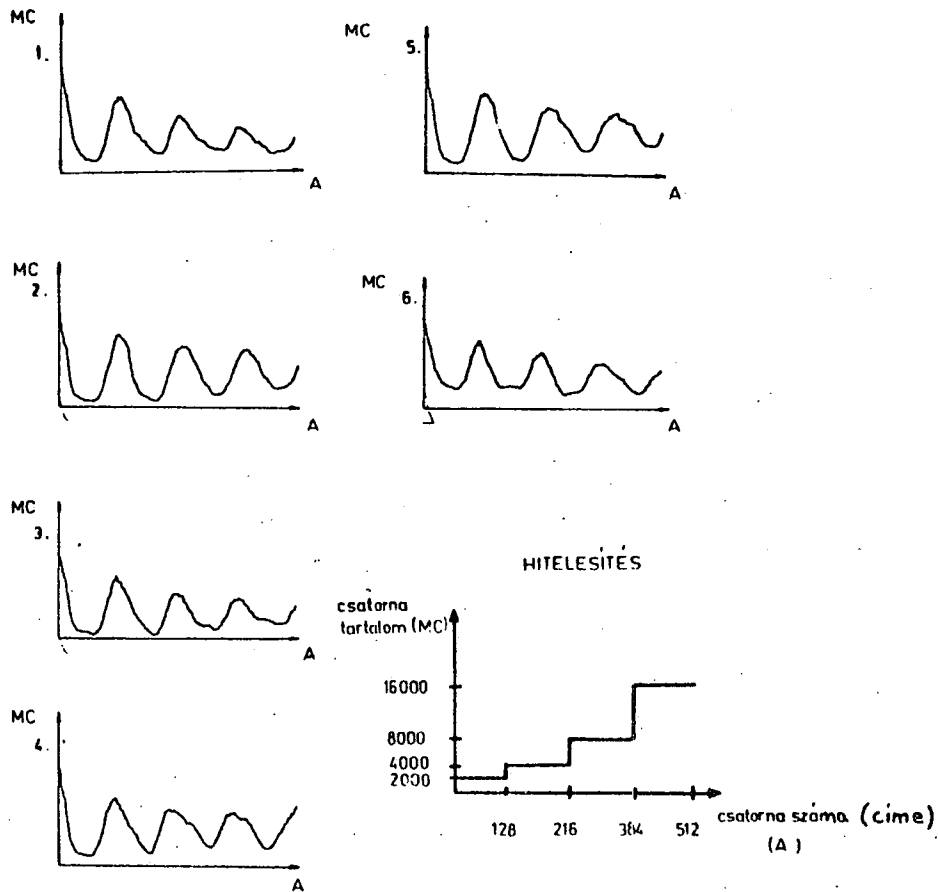
Végezetül ismertetni kívánjuk azon vizsgálatainkat, melyek arra irányultak, hogy az egymás utáni kisülések miként befolyásolják egymást. Legelőször az interspike-időintervallumok korrelációját néztük meg egy sorozaton belül. A 13. ábra hat egymásután következő burst autokorrelogramját mutatja, a hitelesítéssel. Ezeket a vizsgálatainkat szintén az 512 csatornás analízátorral végeztük, annak Korall B típusu plug-in-játszvánálva. A függőleges tengely az analízátor egy-egy csatornájának memória tartalmát (MC), a vízszintes pedig a csatorna címét (A) jelenti. Az analízátorba 4x-esen lassított jelet tápláltunk be, és 20 μ sec-os csatornaváltási idővel dolgoztunk. Mivel az igénybe vett csatornák száma 512 volt, így a késleltetés 10-5100 msec között változott. Egy-egy sorozatban 8-9 spike volt. (Kísérlet jele: T.Br. 1972.)

Az összefüggések vizsgálatában tovább menve kézenfekvőnek adódott megnézni az interspike-idők és az előttük lévő spike-ok jelszélessége, valamint az egymást követő akciós potenciálok jelszélessége közötti korrelációkat. Erre a célra egy 10×10 -es mátrixot alkottunk, melynek általános tagja öt sorvektorból áll. Az r_{ij} jelenti az i . és a j . interspike-idők közötti korrelációs együtthatót, feltéve, hogy mindkét idő létezik, a második ezek együttes előfordulásának száma, a harmadik vektor első tagja az i . interspike-idők átlaga, ha létezik a j . átlagidő, míg a második tag a j . átlagidő, ha van i . interspike idő. Alattuk tüntettük fel ezek szórását, és konfidencia intervallumait. A számítógéppel kiszámítottuk a bővített interspike-idők korrelációs mátrixa mellett (14. ábra) az ugyancsak bővített korrelációs mátrixot a jelszélességi idők (τ), valamint az interspike idők (T) és jelszélességi idők között. Ezeknél a jelölések: r_{ij} helyett ρ_{ij} , ill. R_{ij} , a $\bar{T}_{i/i}$ helyett pedig $\bar{\tau}_{i/i}$, ill. \bar{T}_i/τ_i .



12. 6bra

Br burstok autócorrelogramjai - 12 -



13. ábra

KORRELÁCIÓS MÁTRIX

$$R = \begin{pmatrix} r_{11} & r_{12} & \dots & r_{1n} \\ r_{21} & r_{22} & \dots & r_{2n} \\ \vdots & \vdots & & \vdots \\ r_{ni} & r_{n2} & \dots & r_{nn} \end{pmatrix}$$

$n=10$

a bővített korrelációs mátrix általános tagja:

$$\begin{pmatrix} r_{ij} & db_{ij} \\ \bar{T}_{ij} & \bar{T}_{ji} \\ S_{ij} & S_{ji} \\ \text{konf.int.} & \text{konf.inf.} \end{pmatrix}$$

$r_{ii} = 1$
 $r_{ij} = r_{ji}$
 $db_{ij} = db_{ji}$
 $\bar{T}_{ij} \neq \bar{T}_{ji}$
 $S_{ij} \neq S_{ji}$

$i, j = 1, 2, \dots, 10$

14. ábra

A fenti vizsgálatok eredményei elég szoros korrelációt mutattak az első, másod- és harmadrendű tagok viszonylatában. De 0,5-höz közeli korrelációs együtthatók adódtak több kísérletben is az 1 és az 1+4, ... 1+6. tagok között is. Mindezek arra engednek következtetni, hogy ezek között okozati kapcsolatok is vannak a sztochasztikus paraméterek mellett. Felvetődött a gondolata annak, hogy egy-egy burst Br-sejt esetében Markov-láncnak tekinthető. Ilyen irányú vizsgálataink biztató eredményekkel kezdődtek, de további ellenőrzést kívánnak.

I r o d a l o m

- 1.) Arvanitaki, A. and Chalazonitis, N.: C.R.Acad.Sci. (Paris) 240. 462. 1955.
- 2.) Arvanitaki, A. and Chalazonitis, N.: Arch. Sci. physiol.9. 115. 1955.
- 3.) Vadász, I., Elekes, K. és Salánki J.: MÉT XXXVIII. Vándorgyűlés. 1972.
- 4.) Török, A., Lábos, E. és Szekeres L.: MÉT XXXVIII. Vándorgyűlés. 1972.