

PACEMAKER SEJTEK HÁLÓZATI TOPOLÓGIÁJA
FELELŐS A THETA SZINKRONIZÁCIÓÉRT A
MEDIÁLIS SZEPTUMBAN:
KÍSÉRLETI EREDMÉNYEK SZÁMÍTÓGÉPES
MODELLEZÉSE

Diplomamunka, 2005

Ujfalussy Balázs
ELTE TTK, Biológus szak

témavezetők:

Dr. Érdi Péter, a kémiai tudományok doktora, tudományos tanácsadó

Orbán Gergő, okleveles fizikus, tudományos munkatárs

Kiss Tamás, Ph.D., okleveles fizikus, tudományos munkatárs

MTA KFKI RMKI, Biofizika Osztály, Budapest

belső konzulens:

Dr. Détári László, tanszékvezető egyetemi tanár

Élettani és Neurobiológiai Tanszék

ÁMULNI MÉG

To thaimadzein...

Ámulni még, ameddig még lehet,
amíg a szíved jó ütemre dobban,
megőrizni a táguló szemet,
mellyel csodálkoztál gyermekkorodban.

Elálmélni a megszokottakon:
az andezitre plántált ősi várakon,
virágokon, felhőkön, patakon,
az azúrban kerengő vadmadáron,

a csillagon, ha végtelen terek
hajítják át a késő nyári égen.
S ámulva szólni: Most voltam gyerek.
S vén volnék már – s itt volna már a végem?

Áprily Lajos

Tartalom

Ábrák jegyzéke	iii
1. Bevezetés	1
2. Irodalmi áttekintés	2
2.1. Theta oszcilláció a szepto – hippokampális rendszerben	2
2.1.1. A hippokampális theta oszcilláció	2
2.1.2. Theta ritmus a mediális szeptumban	4
2.2. A theta oszcilláció matematikai modelljei	7
2.3. A theta oszcilláció és a szorongás kapcsolata	8
2.3.1. A benzodiazepinek hatásmechanizmusa	9
GABA_A modulátorok hatása a szepto – hippokampális theta oszcillációra	11
3. Célkitűzés	13
4. Módszerek	14
4.1. Sejtmodellek	15
4.1.1. A szeptális GABAerg sejt modellje	15
4.1.2. A hippokampo-szeptális sejt modellje	19
4.2. A sejtek közötti kapcsolatok modellezése	22
4.2.1. Szinapszisok modellje	22
4.2.2. Hálózatszerkezet	23
4.2.3. A GABA modulátorok hatásának modellezése	24
4.2.4. Egyéb technikai kérdések	25

5. Eredmények	27
5.1. Theta szinkronizáció a mediális szeptumban	27
5.1.1. Két sejt	27
5.1.2. Hálózat	28
5.1.3. A szinkronizáció mechanizmusa	29
5.1.4. Paraméterter vizsgálat	31
5.2. GABA receptor allosztérikus modulátorok hatásának modellezése	34
5.2.1. A zolpidem hatása	34
5.2.2. Az L-838,417 hatása	35
6. Megvitatás	37
6.1. Szeptális theta-generálás	39
6.2. Droghatások modellezése	43
6.2.1. Számítógépes neurofarmakológia?	44
7. Következtetések	46
Köszönetnyilvánítás	47
Irodalom	48
Melléklet	57
7.1. A szimulációk főbb scriptjei GENESIS nyelven	57
7.2. Figure captions	71
Összefoglalás	75
Summary	76

Ábrák jegyzéke

2.1. Benzodiazepin agonisták hatása a hippocampális és a szeptális aktivitásra	11
2.2. A zolpidem hatása	12
2.3. Az L-838,417 hatása	12
2.4. A szeptális egysejtaktivitás autokorrelogrammja kontroll állapotban és drogok hatására	12
4.1. A lassú kálium áram (I_{Ks}) feszültségfüggő kapuváltozóinak kinetikai paraméterei.	17
4.2. A szeptális egysejtmodell konstans áram hatására szabályos burstökkel válaszol	18
4.3. A szeptális GABAerg sejtek hálózatának sematikus ábrája	24
5.1. Két csatolt sejt viselkedése zajos input hatására	28
5.2. A szeptális GABAerg sejtekből álló hálózat viselkedése	29
5.3. A hálózat szinkronizációja	30
5.4. A hálózat viselkedése a szinaptikus konduktanciák erősségének és a sejtekre adott serkentő áram nagyságának függvényében.	32
5.5. A kapcsolódási valószínűség csökkentésének hatása a megjelenő oszcillációra. .	33
5.6. Szinkronizáció és deszinkronizáció a modellben	34
5.7. A drogok hatása a szeptális egysejtaktivitásból készített autokorrelogrammra . .	35
5.8. Aperiodikus bemenet hatására a szeptális sejtek periodicitása csökken	36
5.9. A zolpidem és az L-838,417 modellezett hatása a szeptális oszcillációra	36
6.1. Táblázat: A modell összevetése az irodalmi adatokkal	38

Bevezetés

A hippokampusz a limbikus rendszer részeként központi szerepet játszik az érzelmek és a motivációk neurobiológiájában. A mediális szeptumon keresztül érkező erőteljes szubkortikális beidegzés lehetővé teszi a hippokampális ritmusok neurotranszmitter-vezérelt modulációját. A régebbi és újabb típusú szorongásoldó gyógyszerek közös tulajdonsága, hogy – valószínűleg ezeken a rendszereken keresztül – mind befolyásolják a szepto–hippokampális rendszerre jellemző theta ritmus szubkortikális kontrollját (Gray és McNaughton, 2003).

Dolgozatomban a szepto–hippokampális theta oszcilláció keletkezését és farmakológiai modulációját vizsgálom a részletes matematikai modellezés eszköztárával. Feladatomban azt tekintetem, hogy a kísérleti eredményekkel összhangban lévő modellt adjak a mediális szeptum GABAerg sejteinek hálózatában keletkező theta oszcillációra. A modell kísérleti bázisát részben a szakirodalomban már megjelent mérések, részben pedig kollaborátorunk, dr. Hajós Mihály (Pfizer inc., Groton, Connecticut) laborjában végzett kísérletek eredményei adták. A Pfizer kutatói a szepto–hippokampális rendszer elektrofiziológiáját új szorongásoldó gyógyszerek bevezetésének céljával vizsgálták. A dolgozat második részében ezeket az eredményeket interpretálok az első részben bemutatott modell segítségével.

Irodalmi áttekintés

A következő fejezetben röviden áttekintem a munkám során felhasznált irodalmat. Először a szepto–hippokampális rendszerben megjelenő theta oszcillációról adok áttekintést, majd röviden összefoglalom a témában publikált modelleket, végül a szorongás és a theta oszcilláció kapcsolatáról írok. Az irodalmi áttekintés legutolsó fejezetében új kísérleti eredményeket is bemutatok, melyeket értelmeztem a modell segítségével.

2.1. Theta oszcilláció a szepto – hippokampális rendszerben

2.1.1. A hippokampális theta oszcilláció

A theta oszcilláció a hippokampuszban mérhető, 4–10 Hz frekvenciájú, nagy amplitúdójú (>1mV) jellemző aktivitásmintázat. Alapvetően rágeszálókra jellemző, de leírták már más fajokban (Robinson, 1980), újabban emberben is (Bódizs és mtsai, 2001; Kahana és mtsai, 2001). A sejtek közötti szinkronizáció térben igen erős, az egész hippokampális formációra kiterjed. Az oszcilláció fázisa jellemzően változik az extracelluláris elektróda agyfelszíntől mért mélységének megfelelően (Buzsáki, 2002), alig változik azonban, ha az elektródát a hippokampusz hosszten-gelye mentén mozgatjuk (Bullock és mtsai, 1990).

Az extracellulárisan mérhető nagy amplitúdójú áramok a hippokampális piramis sejtek és interneuronok nagymértékű szinkronitására utalnak. A hippokampuszban található legtöbb sejtípus (piramis sejtek és interneuronok) valóban theta periodikus ritmusos aktivitást mutat, tüzelési fá-

zisuk a theta ritmushoz csatolt (Skaggs és mtsai, 1996; Csicsvári és mtsai, 1999; Klausberger és mtsai, 2003).

A theta ritmus nem folyamatosan jelenlévő aktivitásmintázat a hippocampusban. Már a legelső tanulmányok is a felderítő viselkedésformákhoz (Vanderwolf, 1969) és REM alváshoz (Jouvet, 1969) kapcsolták megjelenését. Ilyenkor a viszonylag lassú theta aktivitást egy gyorsabb, ≈ 40 Hz-es frekvenciájú *gamma* oszcilláció kíséri (Bragin és mtsai, 1995). „Konzumatív” viselkedésformák (evés, mosakodás) alatt a hippocampusra egy nagy amplitúdójú, irreguláris aktivitásmintázat jellemző, melyet egy gyors (≈ 200 Hz) *ripple* nevű oszcilláció kísér (Buzsáki és mtsai, 1992). A viselkedési formák és oszcillációs mintázatok eme kettéválása megjelenik a sejtaktivitás szintjén is. A legtöbb sejtípus megváltoztatja tüzelési mintázatát és tüzelési rátáját a theta \leftrightarrow nem-theta átmenet során. Az interneuronok többsége (theta-on sejtek) növeli, míg a principális sejtek csökkentik tüzelési frekvenciájukat a theta ritmus alatt (Mizumori és mtsai, 1990).

A theta oszcilláció nem kizárólag a hippocampusra jellemző: leírták már a limbikus rendszer és az agytörzs sok egyéb struktúrájában, így az agytörzsi hálózatos állományban és a corpus mammillarékban (Vértes és Kocsis, 1997), a raphe magvakban (DiPrisco és mtsai, 2002) az entorhinális kéregben (Mitchell és mtsai, 1982), a szaglógumókban (Kay, 2005), a mediális szeptumban (Petsche és mtsai, 1962) is. A limbikus rendszer különböző helyein mérhető theta oszcillációk egymástól nem függetlenek, a hippocampális thetával képesek szinkronizálódni (Bland és Colom, 1993).

Az oszcilláció keletkezésének mechanizmusa azonban még nem tisztázott. A számos elképzelés közül két fő irányvonalat lehet kiemelni: 1, Keletkezhet a hippocampuson belül. 2, Egy rezonancia-szerű válaszként egy kívülről érkező ritmikus moduláló hatásra jöhet létre. Az első elképzelést azok a kísérletek támaszthatják alá, amikor bemeneteitől leválasztott hippocampális szeletben theta oszcilláció megjelenését tapasztalták (mint pl. acetilkolin agonista carbachol (Chapman és Lacaille, 1999; Williams és Kauer, 1997), vagy metabotróp glutamát receptor agonista DHPG (Gillies és mtsai, 2002) hatására). A második elképzelés alapját az a megfigyelés képezi, hogy a theta oszcilláció a hippocampusba vetítő agytörzsi és szeptális struktúrákban is jelen van, valamint hogy a szepto–hippocampális összeköttetéseket megszakítva a hippocampális theta eltűnik (Green és Arduini, 1954). Valószínű, hogy a hippocampális theta forrásául nem lehet egyetlen agyterületet megjelölni: eltérő viselkedési helyzetekben megjelenő theta

oszcillációban a különböző struktúráknak más-más szerepük lehet. Az áramforrások részletes vizsgálata a CA1 régióban két egymástól nagymértékben független ritmus-generátor jelenlétére utal (Kocsis és mtsai, 1999). Hasonló eredményt hoztak azok a kísérletek, melyek különféle farmakonok hatását vizsgálták a hippocampális theta ritmusra. Altatott állatban például a muszkarinos acetilkolin receptor antagonistája, az atropin teljesen megszünteti a theta ritmust, míg éber, szabadon mozgó állatban csupán annak megjelenési formáját (pl. mélységi profilját) változtatja meg (Buzsáki, 2002). Ez alapján hagyományosan a theta oszcillációnak atropin rezisztens és atropin szenzitív formáját különböztetik meg. Érdekes módon a theta atropin rezisztens formája különböző NMDA receptor blokkolókra (urethán, ketamin) valamint entorhinális cortex-beli lézióra érzékeny. Összegzésképpen a szeptális és hippocampális theta-generálásról szóló elméleteket nem egymásnak ellentmondó, hanem egymást kiegészítő elméletekként lehet kezelni.

A hippocampusban extracellulárisan mérhető potenciálváltozásokat elsősorban a piramissejtekre érkező szinaptikus áramok okozzák (Mitzdorf, 1985). Ezek forrásául az őket innerváló helyi gátló interneuronok, valamint a hippocampális és extra-hippocampális eredetű serkentő pályák (Schaffer kollaterálisok, perforáns pálya) jelölhetőek meg. Ezek közül theta oszcilláció alatt főként az interneuronális szinapszisok aktívak (Hasselmo, 1999). Az oszcilláció eredetének problémája így visszavezethető arra a kérdésre, hogy hogyan képesek az interneuronok az egész hippocampusra kiterjedő szinkronizált viselkedést mutatni.

A klasszikus elképzelés szerint a szepto–hippocampális kapcsolatnak éppen ebben van kulcsszerepe.

2.1.2. Theta ritmus a mediális szeptumban

A mediális szeptum központi szerepe a theta ritmus generálásában az utóbbi időben egyre nyilvánvalóbb (Yoder és Pang, 2005). A szeptum sejtszelei a hippocampális thetához fáziscsatolt, periodikus burstok formájában tüzelnek (King és mtsai, 1998). Periodikusságukat egyes sejtek fimbria-fornix lézió után is megtartják (Vinogradova, 1995; Stewart és Fox, 1989), míg ilyenkor a hippocampális theta eltűnik (Green és Arduini, 1954). Ez utóbbi megfigyelés szolgált alapjául annak a hipotézisnek, mely a szeptumból a hippocampusba vetítő GABAerg sejteknek pacemaker szerepet tulajdonít (Stewart és Fox, 1990).

A hippocampusz a mediális szeptumból GABAerg és kolinerg terminálisokat egyaránt kap. Ezeket a sejteket régóta szeretnék elektrofiziológiai alapon is elkülöníteni. Extracelluláris egysejtmérések alapján megkülönböztethető egy hosszú és egy rövid akciós potenciálú csoport – ezeket feleltetik meg a kolinerg és a GABAerg sejteknek (Brazhnik és Fox, 1999). Intracelluláris mérések alapján pedig az akciós potenciál formája az, ami két csoportra osztja a sejteket (King és mtsai, 1998). Mindkét csoport sejtjeinek jelentős része a hippocampális thetához fáziscsatolt burstök formájában tüzel (King és mtsai, 1998), ám a hagyományosan kolinergnek gondolt sejtek tüzelési frekvenciája alacsonyabb (≈ 8 Hz), mint a GABAerg sejteké ($\approx 20 - 40$ Hz) (Brazhnik és Fox, 1999; Sotty és mtsai, 2002).

Míg a szeptális kolinerg sejtek axonjai mind az interneuronokat mind a piramissejteket beidegzik (Frotscher és Leranth, 1985), addig szeptumból eredő GABAerg terminálisok a hippocampuszban kizárólag interneuronokon találhatók (Freund és Antal, 1988). A kolinerg rendszer főként metabotróp receptorokon keresztül (Cole és Nicoll, 1984) a sejtek ingerelhetőségét modulálja, valamint preszinaptikus receptorokon keresztül (Hounsgaard, 1978) az egyes szinapszisok hatékonyságát befolyásolja. Elképzelések szerint ennek a hippocampális információfeldolgozás szempontjából van lényeges szerepe. A kolinerg szinapszisokon kifejtett lassú moduláló hatás a hippocampusz theta ritmus alatt „feed-forward” módba kapcsolja, mely az entorhinális kéregből érkező impulzusok feldolgozását teszi lehetővé (Hasselmo, 1999). A mediális szeptumból eredő erőteljes GABAerg, fázikus bemenet, mely a kosársejteken és a horizontális sejteken végződik, szinkronizálja az interneuronokat, és így végeredményben – diszinhibícióon keresztül – a piramissejtek szinkronizációjához vezet (Stewart és Fox, 1990).

A klasszikus pacemaker elmélet alapján azt várnánk, hogy a szeptális GABAerg sejtek burstjei egymással szinkronizáltak legyenek. És valóban, az első mérések szerint mind a hasonló típusú hippocampális interneuronok (Buzsaki és Eidelberg, 1983; Csicsvári és mtsai, 1999), mind az őket beidegző szeptális "brief-spike" sejtek (Brazhnik és Fox, 1997) fáziseloszlása unimodális. Egy későbbi tanulmány azonban ennek ellentmondó eredményt mutatott fel: ők a GABAerg sejteket egy kicsit más módon azonosították, és az így kapott sejtek a hippocampális thetához viszonyítva, noha mind fáziscsatolt volt, együttesen mégsem mutattak semmilyen fázispreferenciát (King és mtsai, 1998). A fázisprobléma következő állomását az anatómiai és fiziológiai módszerek kombinálása jelentette. Ismert, hogy azok a GABAerg neuronok melyek a szeptumba vetítenek parvalbumin (PV) immunreaktivitást mutatnak (Freund, 1989). Borhegyi Zsolt

és munkatársai mérései szerint ezek a PV⁺ sejtek fáziseloszlása bimodális: az egyik csoport a hippocampális theta pozitív a másik a negatív csúcs közelében tüzel (Borhegyi és mtsai, 2004). Hasonlóan, a hippocampális interneuronok legvalószínűbb tüzelési fázisa is eltérő: a kosársejtek és az O-LM sejtek, melyek a szeptális sejtek fő posztzinaptikus targetjei, a hippocampális theta ellentétes fázisában tüzelnek (Klausberger és mtsai, 2003).

A szeptális sejtek közötti hálózatszerkezet igen fontos szerepet játszhat az oszcilláció létrejöttének szempontjából. Elektromikroszkópos eredmények erősítették meg, hogy a parvalbumin pozitív (PV⁺) GABAerg sejtek szinaptikus hálózatba rendeződnek (Henderson és mtsai, 2004), és a sejtek kolinerg terminálisokat is kapnak (Brauer és mtsai, 1998). A szeptális kolinerg sejtek tartalmaznak GABA_A receptorokat (Gao és mtsai, 1995), így a benzodiazepin antagonistá flumazenil növeli a hippocampális acetilkolin felszabadulást a szeptális kolinerg sejtek diszinhibícióján keresztül (Imperato és mtsai, 1994; Moor és mtsai, 1998). Az oszcilláció keletkezése azonban elsősorban a GABAerg sejtek hálózatához köthető (Henderson és mtsai, 2004). A GABAerg sejtek hálózatba rendeződése dolgozatomban is kulcsfontosságú szerepet játszik a theta szinkronizáció létrejöttében.

Ismert, hogy a kapcsolat a hippocampus és a szeptum között nem egyirányú: a stratum oriens rétegben található interneuronok egy csoportja („hippokampo–szeptális sejtek”) a mediális szeptum PV⁺ GABAerg sejtjeire vetít (Alonso és Kohler, 1982; Tóth és Freund, 1992; Tóth és mtsai, 1993). A hippocampo–szeptális sejtek hippocampális kapcsolatairól még csekély ismereteink vannak (Maccaferri, 2005), szerepét a theta aktivitás szabályozásában alig vizsgálták (Dragoi és mtsai, 1999). A hasonló sejttest-pozíciójú és dendrit arborizációjú O-LM sejtek kapcsolatairól viszont jóval több adatunk van: ismert, hogy ezek a sejtek a theta oszcilláció (stratum pyramidale-ban mérve) negatív fázisában, a piramissejtekkel közel egyidőben tüzelnek (Klausberger és mtsai, 2003), valamint axonkollaterálisokat kapnak a piramissejtek felől (Blasco-Ibanez és Freund, 1995; Lacaille és mtsai, 1987). *In vitro* tanulmányok is megerősíteték a piramissejtek és az O-LM interneuronok erős csatoltságát (Aradi és Maccaferri, 2004). A hippocampus és a szeptum kölcsönös kapcsolata felveti annak lehetőségét, hogy a hippocampális oszcillációs mintázatok létrejöttéhez szükséges ez a feed-back projekció. Wang (2002) modelljében a theta szinkronizáció egy szepto–hippokampális reciprok kapcsolódási körben jött létre (2.2. fejezet).

Mediális szeptum hippocampusról leválasztott szeletében mindezidáig egyetlen tanulmány

számol be szinkronizált theta oszcillációról (Garner és mtsai, 2005). Az oszcilláció káínát hatá-sára keletkezett a szeptum PV⁺ sejtekben gazdag részén. A keletkezett oszcilláció szempontjá-ból kritikus volt az érintetlen GABA_A transzmisszió: a benzodiazepin agonista diazepam csak az oszcilláció frekvenciáját csökkentette (12.3 Hz→6.4 Hz), a GABA_A receptor antagonistá bi-kukullin hatékonyan csökkentette a theta frekvencia teljesítményét a power spektrumban.

Érdemes itt megjegyezni, hogy újabban glutamáterg sejteket is kimutattak a mediális szeptum-ban (Sotty és mtsai, 2002; Hajszan és mtsai, 2004). A glutamáterg neuronok szeptális pace-maker hálózatban betöltött lehetséges szerepére a megvitatás első (6.1) fejezetében térek majd ki.

2.2. A theta oszcilláció matematikai modelljei

A szepto–hippokampális rendszerben kialakuló theta és gamma (≈ 40 Hz) ritmusok generálását több számítógépes modellel vizsgálták, építve anatómiai és különféle *in vitro*, és *in vivo* fizio-lógiai mérések eredményeire. 1996-ban Wang és Buzsáki a gamma oszcilláció magyarázatára alkotott egyszerű matematikai modellt, mely hippokampális GABAerg interneuronok hálózatát írta le. Eredményeik szerint a gamma frekvenciasávbeli szinkronizáció feltétele, hogy a GABA_A szinapszisok mindig gátlóak legyenek (tehát a a membránpotenciál értéke a sejtek tüzelés utáni hiperpolarizációs szakaszában is mindig a szinapszis reverzál potenciálja felett legyen), illetve, hogy a szinaptikus időállandó megfelelően nagy legyen a szinkronizáció periódusidejéhez ké-pest.

Korábbi eredményeire építve 2002-ben Wang újabb számítógépes modell segítségével azt vizs-gálta, hogyan jöhet létre szinkronizált theta oszcilláció a szepto–hippokampális rendszerben. A modellezett szeptális sejtekről Wang megmutatta, hogy a lassú kálium (I_{Ks}) és a gyors nátrium (I_{Na}) áram kölcsönhatása miatt az egyes sejtek theta frekvenciával burstölnek. A burstökön belül az egyes tüzelések, és a burstök közötti, küszöb alatti oszcilláció frekvenciája a gamma tarto-mányba esik (4.2. ábra). Teljes kapcsolódás mellett (ha minden GABAerg sejt minden másik GABAerg sejttel egyforma, (4.2.2. fejezet: $p_{AA} = 1$) valószínűséggel kapcsolódik) a hálózatban gamma frekvenciájú szinkronizálódás kialakul, ám a populációs aktivitásban a theta frekvencia nem jelenik meg. Ahhoz, hogy a theta is megjelenjen, Wang egy reciprok szepto–hippokampális kapcsolódási kört feltételezett, melyben a szeptális és a hippokampális neuron-populációk egy-

mást kölcsönösen gátolják. Ez a hálózati elrendezés nem ad magyarázatot arra, hogy miért találunk különféle fázisú sejteket a szeptumban (King és mtsai, 1998; Borhegyi és mtsai, 2004), és ellentétben áll azokkal a kísérleti eredményekkel, melyek a mediális szeptum autonóm pacemaker funkcióját bizonyítják (Garner és mtsai, 2005).

1999-ben jelent meg Borisyuk és Hoppensteadt tanulmánya, mely egy absztrakt matematikai leírást (fázis- és amplitúdó modell) használva vizsgálja a theta oszcilláció kialakulását. Modeljükben a szepto-temporális tengellyel párhuzamosan futó, láncba kötött hippokampális „egységek” gamma saját-frekvenciájú oszcillációját modulálja két theta frekvenciájú input, melyek egyikét az entorhinalis kéreggel, másikat a szeptummal azonosítják. Megmutatják, hogy bizonyos feltételek mellett az egész hippokampuszra kiterjedő fáziscsatolt állapot alakulhat ki. White és mtsai. (2000) a gamma és hozzá kapcsolt theta oszcilláció kialakulásáért két fajta $GABA_A$ szinapszist, egy lassút és egy gyorsat tesznek felelőssé matematikai modelljükben. A modell gyengeségének róható fel, hogy a fiziológiai szempontból reális oszcilláció kialakításához irreális pontossággal kell a kétfajta szinapszis erősségét beállítani.

Munkám közvetlen modellezési előzményét Hajós és mtsai. 2004-ben megjelent munkája jelenti. Az ebben használt matematikai modell részletes, realiztikus fiziológiai tulajdonságokkal rendelkező sejteket ír le. A modell segítségével a szerzők megmutatták, hogy a hippokampuszban olyan theta oszcilláció alakulhat ki, mely rezonálni képes külső periodikus bemeneteivel. A szerzők ebben a cikkben kitértek arra, hogy egy szeptális $GABA_{erg}$ hálózatban az egyes sejtek periodikusságának mértéke nagymértékben függ a hálózatban elfoglalt helyüktől.

2.3. A theta oszcilláció és a szorongás kapcsolata

A theta oszcilláció és az éberség (készenléti állapot, "arousal") közötti korreláció már a kezdetektől fogva nyilvánvaló volt (Green és Arduini, 1954). A szorongásos megbetegedések sokszor szervezet állandó, túlzott éberségével járnak együtt. Érdekes módon a szorongásoldó gyógyszerek hasonló viselkedési változásokat okoznak állatokban, mint szepto-hippokampális rendszert érintő léziók (McNaughton és Gray, 2000; Degroot és Treit, 2004). Másrészt ezek a gyógyszerek mind megegyeznek abban, hogy a szepto-hippokampális theta oszcilláció agytörzsi vezérlésébe avatkoznak bele (McNaughton és Gray, 2000). A klasszikus szorongásoldó gyógyszerek (alkohol, barbiturátok, benzodiazepinek) egyik közös tulajdonsága, hogy hatásu-

kat mind a GABA rendszeren keresztül fejtik ki. A GABA_A agonista muszcolimol intra-szeptális beadása így csökkenti az állatok szorongását különböző viselkedési tesztek szerint (Degroot és Treit, 2003). Az utóbbi évek génkiütéses technikája révén vált bizonyítottá, hogy a különböző alegységszerkezetű GABA_A receptorok modulációja markánsan eltérő hatást eredményez: az α_1 alegységet tartalmazó receptorokat az altató, az α_2 -t a szorongásoldó, az α_3 -at a nem szelektív diazepam miorelaxáns hatásával hozták összefüggésbe (Low és mtsai, 2000; Rudolph és Mohler, 2004). Összhangban áll ezzel az a tény, hogy az α_1 -szelektív pozitív allosterikus modulátor zolpidem a klinikumban alkalmazott legjobb altatók közé tartozik. Ezzel párhuzamosan fordult az érdeklődés a különböző alegységtípusok idegrendszeri lokalizációja felé (Mohler és mtsai, 2002). Megállapították, hogy a hippocampusban α_2 receptor a piramissejtek periszomatikus és axonin icialis régiójában található: ott ahol az axo-axonikus sejtek és a CCK pozitív kosársejtek axonjai végződnek (Nusser és mtsai, 1996; Nyíri és mtsai, 2001). A PV⁺ kosársejtek szinapszisaiban, valamint a disztális dendritikus régiókban kizárólag α_1 alegységet tartalmazó GABA_A receptorok vannak (Klausberger és mtsai, 2002). A mediális szeptum GABAerg sejtjei csak α_1 alegységre mutatnak immunpozitivitást, míg a kolinerg sejteken α_3 alegység található (Gao és mtsai, 1995). Az alegységszerkezetben megnyilvánuló eltérések a szinapszisok funkcionális szempontból eltérő szerepére utalnak (Freund, 2003). Kézenfekvőnek látszik az az ötlet, hogy a klasszikus szorongásoldó gyógyszerek mellékhatás-spektrumát alegység-specifikus variánsokkal hatékonyan lehetne csökkenteni. Erre egy lehetséges jelölt az α_2 -szelektív benzodiazepin agonista, az L-838,417 gyári nevű molekula (Mohler és mtsai, 2002), melynek elektrofiziológiai hatását összevetettük az α_1 szelektív zolpidem hatásával.

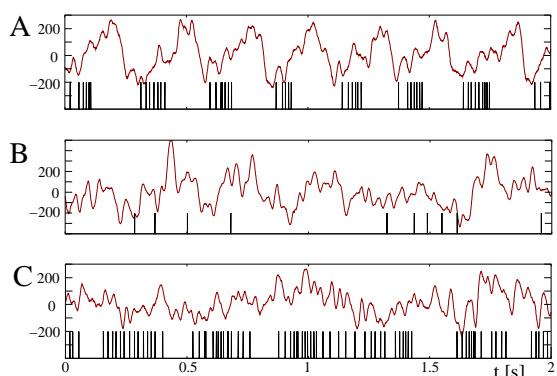
2.3.1. A benzodiazepinek hatásmechanizmusa

A modellezés szempontjából fontos tudni, hogy pontosan hogyan hatnak a benzodiazepinek. A GABA_A receptorokon a benzodiazepin kötőhely az α és a γ alegység érintkezési felszínén található allosterikus kötőhely (Világi, 2003). A benzodiazepinek a GABA_A receptor allosterikus modulátorai: önmagukban a receptort nem aktiválják, csak az agonista (GABA) hatását potenciózzák, mert a receptornak az agonistához való affinitását növelik. Benzodiazepinek jelenlétében tehát az agonista hatására mérhető mIPSP (miniatűr poszt-szinaptikus potenciál-változás) alakja megváltozik. A benzodiazepinek a csatorna konduktanciáját nem változtatják meg, ezért telített agonista-koncentrációnál működő szinapszisok esetében csak az mIPSC idő-

tartama változik meg. Telítetlen agonista-koncentráció esetén azonban az mIPSC amplitúdója és időtartama is megnő (Perrais és Ropert, 1999), amit új csatornamolekulák aktiválódásával lehet magyarázni. Elektrofiziológiai mérések azt mutatják, hogy a hippocampális interneuronokon a GABA_A szinapszisokban az agonistakoncentráció nem éri el a telítettségi szintet (Hájos és mtsai, 2000), itt tehát megváltozik a szinapszisok konduktanciája. Ha azonban az egész sejtben jelentkező szinaptikus választ vizsgáljuk, még telített agonistakoncentrációnál is kaphatunk változást az IPSP amplitúdójában az aszinkron érkező, megnyúlt időtartamú mIPSP-k szummációjára (Mody és mtsai, 1994).

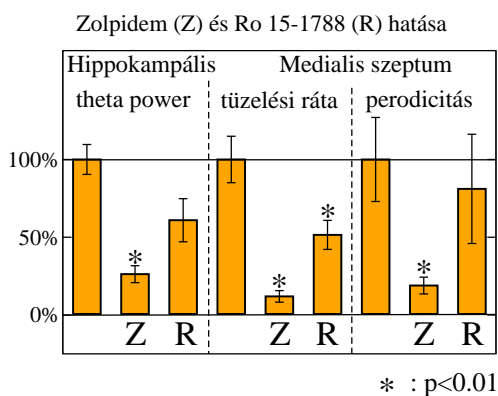
GABA_A modulátorok hatása a szepto – hippokampális theta oszcillációra

A fejezetben röviden bemutatott mérések a dolgozat második részének alapját képezik. Mint-hogy az eredmények a dolgozat megírásakor még nem elérhetőek, jónak láttam egy rövid össze-foglalót írni. Kollaborátorunk, dr. Hajós Mihály (Pfizer Inc., Groton), klorál-hidrátal altatott Sprague-Dawley patkányokon végzett méréseket az α_1 -szelektív zolpidem és az α_2 -szelektív L-838,417 elektrofiziológiai hatásának összehasonlítása céljából. Szimultán vezetett el mező-potenciált a hippokampusz CA1 régiójából és extracelluláris egysejtaktivitást a mediális szeptumból. Az hippokampuszra kontroll állapotban ≈ 4 Hz frekvenciájú theta oszcilláció volt jellemző, míg a mediális szeptum sejtei a hippokampuszhoz fáziscsatolt burstaktivitást mutat-tak (2.1.A. ábra). A GABA_A α_1 alegység szelektív pozitív alloszterikus modulátor zolpidem hatására mind a hippokampális, mind a szeptális theta eltűnt, és a szeptális sejtek tüzelési frek-venciája jelentős mértékben csökkent (2.3 és 2.1.B. ábra). Az α_2 modulátor L-838,417 hatá-sára a theta oszcilláció szintén eltűnt, ám a szeptális sejtek tüzelési frekvenciájában nem állt be egyértelmű változás (2.2. és 2.1.C. ábra). A benzodiazepin antagonistá flumazenil (gyári nevén: Ro 15-1788) az agonisták hatását mérsékelte.



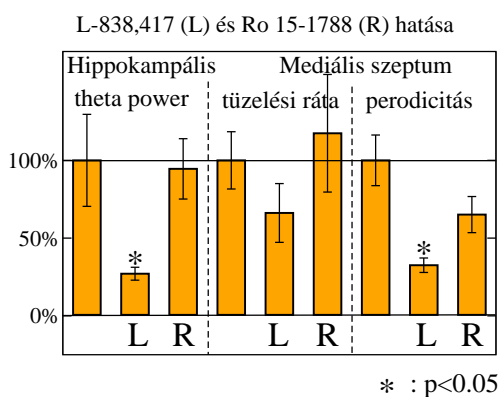
2.1. ábra.

GABA_A alloszterikus modulátorok hatása. Hippo-kampális mező potenciál a CA1 régióból és mediá-lis szeptum-beli egysejtaktivitás látszik kontroll ál-lapotban (A), zolpidem (B) és L-838,417 (C) i.v. in-jekciója után. dr. Hajós Mihály mérése.



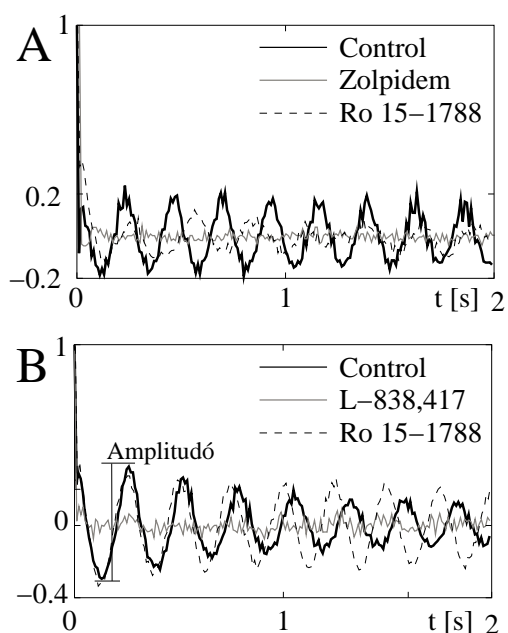
2.2. ábra.

A zolpidem (α_1 alegység-specifikus $GABA_A$ pozitív allosterikus modulátor) a hippokampális mező potenciál power spektrumában a theta komponenst és a mediális szeptum sejtjeinek theta-periodikusságát szignifikánsan csökkenti. Az L-838,417-tel ellentétben mediális szeptum sejtjeinek tüzelését is gátolja.¹



2.3. ábra.

Az L-838,417 (α_2 alegység-specifikus $GABA_A$ pozitív allosterikus modulátor) hatása. A hippokampális mező potenciál power spektrumában a theta komponenst és a mediális szeptum sejtjeinek theta-periodikusságát szignifikánsan csökkenti, ám a mediális szeptum sejtjeinek tüzelési rátájában nem okoz egyértelmű változást.¹



2.4. ábra.

A szeptális egysejtaktivitás autokorrelogrammja. Mind a zolpidem (A) mind az L-838,417 (B) csökkenti az időbeli korreláltságot szeptális egysejtaktivitásban: hatásukra a sejtek tüzelési mintázata periodikusról aperiodikusra változik. A (B) ábrán az autokorrelogramm amplitúdójának mérési módját tüntettem fel (részletesen a 4.2.4. fejezetben). Az antagonist Ro 15-1788 hatására a periodikus viselkedés visszatér.¹

¹Ezeket az eredményeket dr. Hajós Mihály és a Pfizer engedélyével közöljük.

Célkitűzés

A kutatás során két nagy kérdést kívántam megválaszolni. Az első részben a hálózatszerkezet hatását vizsgálom a szeptális GABAerg sejtek theta ritmusú szinkronizációjára. A modellben az egyes sejtek theta ritmusú burst aktivitást mutatnak és a szeptumon belül – a hippocampális thetához viszonyított tüzelési fázisuknak megfelelően (Borhegyi és mtsai, 2004) – két populációra oszthatók. Feltételezésünk szerint az egyes populációkon belül a kapcsolatok gyengék, míg a populációk között erősek. Azt vizsgáljuk, hogy ezeket a feltételeket elfogadva a hálózatban megjelenik-e a fiziológias theta ritmushoz hasonló populációs oszcilláció.

A második részben Hajós Mihály kísérleteinek magyarázatára használjuk a modellt. Feltételezhetjük-e azt, hogy az α_1 modulátor zolpidem csak a szeptális pacemaker hálózatban lévő GABAerg szinapszisok modulálásán keresztül fejt ki hatását a szepto–hippocampális rendszerre? Szükséges-e esetleg valamilyen közvetett hatásként a helyi kolinerg, vagy egyéb sejtekre kifejtett gátlást is figyelembe venni?

Második kérdésem, hogy az α_2 agonista L-838,417 hatását a szepto–hippocampális rendszerre a hippocampo–szeptális projekción keresztül fejt-e ki?

Módszerek

Kérdéseim (ld.: Célkitűzés) megválaszolására a részletes matematikai modellezés eszköztárát hívtam segítségül. (Itt a *modell* szót *matematikai modell* értelemben használom, míg a *elképzelés* alatt *matematikailag nem kidolgozott modellt* értek. Juhász-Nagy Pál 1983-as írásában az ökológiai modellek és makettek kapcsán hasonló elkülönítést tesz.) A matematikai modellezés lehetővé teszi, hogy komplex feladatokat (*elképzeléseket*) lépcsőről lépésre haladva, a matematikára jellemző precizitással tárgyaljunk: pontosan néven nevezve minden figyelembe vett hatást. Az eredmények pedig megmutatják, hogy egy *elképzelés* (most már matematikai modellként, adott paraméterekkel) a rendszerben milyen viselkedéshez vezet. A matematikai modellek hasznosak lehetnek, mert megmutatják, hogy az adott jelenség leírására egy bizonyos *elképzelés* érvényes lehet, mert önellentmondásmentes rendszert alkot, és a figyelembe vett hatások elégségesek jelenség adott szintű leírásához. A matematikai modellekkel, bár nincs közvetlen kapcsolatuk a valósággal, az *elképzeléseket* hatékonyan lehet megcáfolni vagy alátámasztani.

A modell magját a szeptális GABAerg sejtek hálózata alkotja, melyet az 5.2. fejezetben kiegészíték a hippokampo–szeptális sejtekkel. A szeptális és hippokampális sejtek számítógépes szimulációjához a Hodgkin – Huxley modellkeretet használtam (Hodgkin és Huxley, 1952). A legegyszerűbb olyan leírást választottam, mely már kellően realiztikus ahhoz, hogy a kapott eredmények a mérési adatokkal könnyen összevethetőek legyenek. Ismert, hogy az interneuronok meglehetősen kompaktnak (Jonas és mtsai, 2004): az elektromos hatások terjedése és összegződése a sejtmembrán elektromos tulajdonságai miatt gyorsan végbemegy. Ez tette lehetővé, hogy sejtek leírásakor a morfológiájukat figyelmen kívül hagyva, egyetlen kompartmentet

használjak. Igyekeztem a sejteken az ionáramok számát is a minimálisra redukálni, hogy a jelenségek könnyen értelmezhetőek legyenek. A modellekhez a GENESIS szimulációs környezetet használtam (Bower és Beeman, 1998), a programokat LINUX operációs rendszer alatt, egy 16 gépből álló Beowulf klaszteren futtattam a KFKI, RMKI-ban és a Kalamazoo College-ban.

4.1. Sejtmodellek

4.1.1. A szeptális GABAerg sejt modellje

Szimulációimban olyan sejtet kívántam használni, mely theta frekvenciás burstök formájában tüzel, mint azt az *in vivo* mérési adatok alapján a szeptális sejtekről tudjuk (4.2. ábra). Vizsgálataimhoz célszerűnek látszott a már létező matematikai modellek közül kiválasztani egy irodalmilag jól megalapozottat, ezért használtam Wang 2002-ben publikált sejtmodelljét. A sejtmodell alapjául *current-clamp* adatok szolgáltak, melyeket a mediális szeptum és a nucleus basalis GABAerg sejtjein mértek (Alonso és mtsai, 1996; Serafin és mtsai, 1996). Az utóbbi cikkben leírt TTX-es kísérletek alapján úgy gondoljuk, hogy a gamma frekvenciás membránoszcillációk alapjául a gyors nátrium (I_{Na}) és a késleltetett inaktivációjú kálium áram (I_K) kölcsönhatása szolgál. A lassú kálium áram (I_{KS}) meglétére utal a tüzelések csoportokba („burstökbe”) szerveződése és a sejtek hiperpolarizációja után, de még az első tüzelés előtt jelentkező, rámpa jellegű depolarizációs válasz. A sejtmodellbe csak ezeket az áramokat építettük be. Ennek megfelelően a membránpotenciált (V) a következő egyenlet írja le:

$$C_m dV/dt = -I_{Na} - I_K - I_{KS} - I_L - I_{syn} + I_{ext} \quad (4.1)$$

ahol C_m (a membránkapacitás) = 0.01 F/m^2 , I_{ext} a sejtre kívülről ráadott áram, mely a kolinerg és egyéb serkentő pályák együttes hatását reprezentálja. I_L a szivárgás, melyet a következőképpen számolunk:

$$I_L = (V - E_L)/R_m \quad (4.2)$$

Az R_m (membránellenállás) = $1 \Omega/\text{m}^2$, és E_L (a szivárgási áram reverzálpotenciálja) = -50 mV .

A három aktív feszültségfüggő áramot Hodgkin-Huxley egyenleteknek megfelelően írtuk le, miszerint

$$I_{cs} = g_{cs}x^n y^m (V - E_{cs}) \quad (4.3)$$

$$dx/dt = \alpha_x(V)(1 - x) - \beta_x(V)x \equiv (x_{inf}(V) - x)/\tau_x(V) \quad (4.4)$$

ahol g_{cs} a csatorna maximális konduktanciája, x és y pedig a kapuváltozói, melyeket különböző hatványra (n , m) emelhetünk. A kapuváltozókat a csatornát alkotó különböző fehérjealegységeknek feleltetjük meg. A kapuk nyitva tartását – a Na^+ és Ca^{++} csatorna m kapujának kivételével – elsőrendű kinetikájú egyenletek szerint számoltuk (4.4), ahol $\alpha(V)$ a zárt kapu nyitásának, $\beta(V)$ a nyitott kapu becsukódásának valószínűsége. Látszik, hogy α és β feszültségfüggő változók. Az egyenleteket másmilyen formában írva is értelmezhető paramétereket kapunk. $x(V)$ tehát a kapu nyitva tartása a membránpotenciál függvényében. Ha egy V membránpotenciálértéket beállítunk, akkor az x egy exponenciális függvény szerint tart egyensúlyi értékéhez, x_{inf} -hez. Hogy a különbséget e -ad részére csökkentse τ_x időre van szüksége. (A két írásmód közötti összefüggés: $(x_{inf} = \alpha/(\alpha + \beta), \tau_x = 1/(\alpha + \beta))$)

A Na^+ áramot a Hodgkin-Huxley formalizmus szerint tehát így írhatjuk le:

$$I_{Na} = g_{Na}m_{inf}^3 n (V - E_{Na}) \quad (4.5a)$$

$$m_{inf} = \alpha_m / (\alpha_m + \beta_m) \quad (4.5b)$$

$$\alpha_m = (-10^5 (V + 0.033)) / (\exp(-10^2 \cdot (V + 0.033)) - 1) \quad (4.5c)$$

$$\beta_m = 4 \cdot 10^3 \cdot \exp(-(V + 0.058)/0.018) \quad (4.5d)$$

$$\alpha_h = 350(\exp(-(V + 0.051)/0.010)) \quad (4.5e)$$

$$\beta_h = 5 \cdot 10^3 / (\exp(-10^2 \cdot (V + 0.021)) + 1) \quad (4.5f)$$

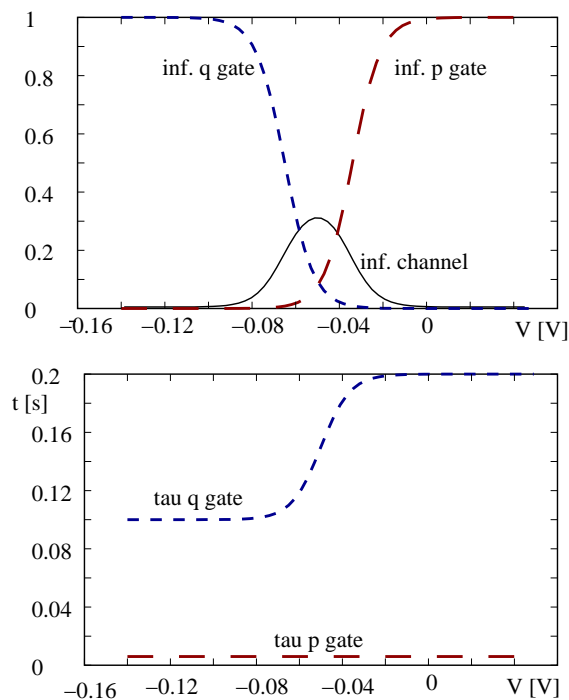
A gyors kapuváltozót (m) az egyensúlyi értékével (m_{inf}) helyettesíttem.

A késleltetett inaktivációjú kálium csatorna (I_K) viselkedését leíró egyenletek:

$$I_K = g_K n^4 (V - E_K) \quad (4.6a)$$

$$\alpha_n = (-5 \cdot 10^4 \cdot (V + 0.038)) / (\exp(-10^2 \cdot (V + 0.038)) - 1) \quad (4.6b)$$

$$\beta_n = 625 \cdot \exp(-(V + 0.048)/0.080) \quad (4.6c)$$



4.1. ábra.

A lassú kálium áram (I_{KS}) feszültségfüggő kapuváltozóinak kinetikai paramétereit. A felső ábrán az egyensúlyi nyitva tartási valószínűség, alatta a karakterisztikus idő látható. A p kapu gyors (időegységátvitel konstans, 6 ms), a q kapu lassú, időegységátvitel 120-200 ms. A karakterisztikus idő azt határozza meg, hogy mennyi időt vesz igénybe, míg a kapu nyitvatartása az adott membránpotenciálhoz tartozó egyensúlyi értéket megközelíti. Egy burst utó-hiperpolarizációi (AHP) hatására a q kapu kinyílik, a csatorna konduktanciája megnövekszik. A tüzelések közötti időszakot a q kapu inaktivációjához szükséges idő határozza meg.

A lassú kálium csatornán folyó áramot (I_{KS}) a következőképpen számoljuk:

$$I_{KS} = g_{KS} p q (V - E_K) \quad (4.7a)$$

$$p_{inf} = 1 / (1 + \exp(-(V + 0.034) / 0.0065)) \quad (4.7b)$$

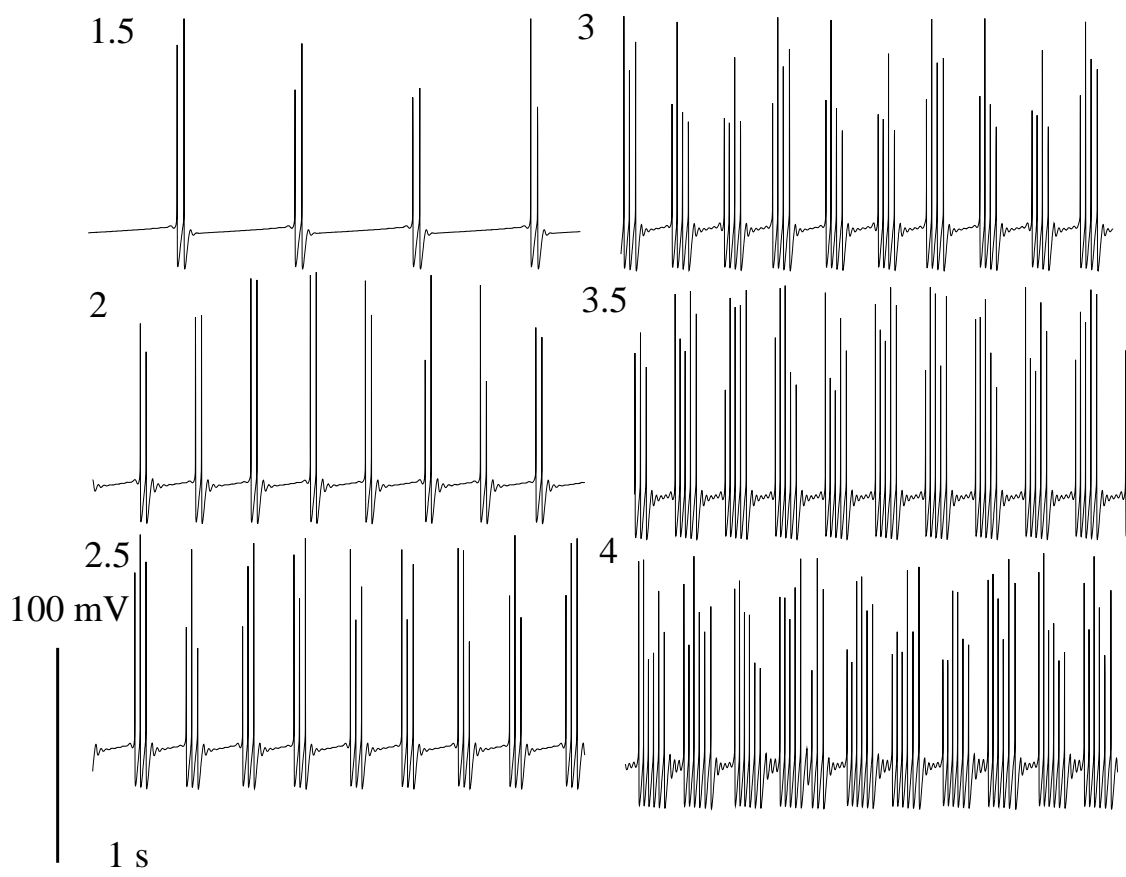
$$q_{inf} = 1 / (1 + (\exp(V + 0.065) / 0.0066)) \quad (4.7c)$$

$$\tau_p = 6 \text{ s}, \tau_q = \tau_{q0} \cdot (1 + 1 / (1 + (\exp -(V + 0.05) / 0.0068))), \tau_q = 0.1 \text{ s}. \quad (4.7d)$$

A kapuknak most az egyensúlyi értékét (p_{inf} , q_{inf}) és a karakterisztikus idejét (τ_p , τ_q) adtam meg, ez látható a 4.1. ábrán is.

A sejtre jellemző konstansok: a sejt „gömb alakú”, átmérője $d = 20 \mu\text{m}$, felülete $d^2 \pi$; $g_{Na} = 500 \text{ S/m}^2$, $g_K = 80 \text{ S/m}^2$, $g_{KS} = 120 \text{ S/m}^2$; $E_{Na} = 55 \text{ mV}$, $E_K = -85 \text{ mV}$. A nyugalmi membránpotenciál értéke -62.5 mV . Egyetlen sejt konstans áram (I_{ext}) hatására a 4.2. ábrán látható módon, theta periódusidejű, ritmikus burstokkal válaszol. A burstok frekvenciája kismértékben függ csak az áram amplitúdójától (2 – 5 Hz), a sejt tüzelési frekvenciája viszont széles skálán változhat (4 – 40 Hz). A sejtek membránpotenciáljának értéke (V_{init}) a szimuláció kezdetén egy normál eloszlást tükröz, melynek -62 mV a várható értéke, és 5 mV a szórása.

A sejtek a szimulációk többségében zajos áramot kapnak. A zaj a sejtek periodikusságát, így az



4.2. ábra.

Egyetlen szeptális sejt konstans áram hatására szabályos ritmusú tüzeléscsomagokkal (burstökkel) válaszol. Az áramot (I_{ext}) növelve nő mind a burst-frekvencia (2–5 Hz) mind a tüzelési frekvencia (4–30 Hz). A feszültséggörbék felett a számok az injektált áram nagyságát (A/m^2) jelzik. Nagyobb serkentő áram esetén jól látszik a küszöb alatti, gamma frekvenciájú oszcilláció. Wang (2002) alapján.

eredmények „szépségét” csökkenti, mégis, örültem neki, hogy a modell a zajos környezetben is működik. A zajt úgy generálom, hogy $dt = 5\text{ms}$ -onként új áram értéket választok egy Gauss eloszlásból, melynek várható értéke μ (A/m^2) és szórása $\sigma = \mu/6$ (A/m^2). (Az 5.1. ábrán pl.: $\sigma = 0.5, \mu = 3 \text{ A/m}^2$.) Az így kapott zaj jó közelítése egy 100 Hz határfrekvenciájú fehér zajnak (Dayan és Abbott (2001), 1.3. fejezet).

4.1.2. A hippokampo-szeptális sejt modellje

A modellt hippokampo-szeptális sejtekkel csak az 5.2. fejezetben egészítem ki. A szeptális theta szinkronizáció szempontjából jelenlétük nem fontos. A hippokampális horizontális sejtek azon populációját, mely a szeptumba vetít Wang (2002) alapján modelleztem. A sejtmodell fiziológiai méréseken alapul (Ali és Thomson, 1998; Lacaille és Williams, 1990; Maccaferri és McBain, 1996), melyeket OLM sejteken végeztek. A sejt egyetlen kompartmentből áll, membránpotenciálját a következő egyenlet írja le:

$$C_m dV/dt = -I_{\text{Na}} - I_{\text{K}} - I_{\text{H}} - I_{\text{Ca}} - I_{\text{KCa}} - I_{\text{L}} - I_{\text{syn}} + I_{\text{ext}} + I_{\text{field}} \quad (4.8)$$

ugyanazokkal a konvenciókkal, mint a szeptális sejt esetében. A sejt paraméterei: „gömb alakú”, $d = 20 \mu\text{m}$ átmérővel. $R_m = 1 \Omega/\text{m}^2$, $E_{\text{L}} = -65 \text{ mV}$. A sejtek membránkapacitását - a heterogenitás céljából - normál eloszlásból vettem, mellynek várható értéke: $\mu(C_m) = 0.01 \text{ F/m}^2$, szórása pedig $\sigma(C_m) = 0.003 \text{ F/m}^2$.

A gyors nátrium áram (I_{Na}) esetén a gyors kapuváltozót (m) az egyensúlyi értékével (m_{inf}) helyettesítettem. $g_{\text{Na}} = 350 \text{ S/m}^2$, $E_{\text{Na}} = 55 \text{ mV}$. Az ide vonatkozó egyenletek tehát:

$$I_{\text{Na}} = g_{\text{Na}} m_{\text{inf}}^3 n (V - E_{\text{Na}}) \quad (4.9a)$$

$$m_{\text{inf}} = \alpha_m / (\alpha_m + \beta_m) \quad (4.9b)$$

$$\alpha_m = (-10^5 (V + 0.035)) / (\exp(-10^2 \cdot (V + 0.035)) - 1) \quad (4.9c)$$

$$\beta_m = 4 \cdot 10^3 \cdot \exp(-(V + 0.060)/0.018) \quad (4.9d)$$

$$\alpha_h = 350 (\exp(-(V + 0.058)/0.020)) \quad (4.9e)$$

$$\beta_h = 5 \cdot 10^3 / (\exp(-10^2 \cdot (V + 0.028)) + 1) \quad (4.9f)$$

A késleltetett inaktivációjú kálium csatornán folyó áramot (I_{K}) leíró egyenletek:

$$I_K = g_K n^4 (V - E_K) \quad (4.10a)$$

$$\alpha_n = (-5 \cdot 10^4 \cdot (V + 0.034)) / (\exp(-10^2 \cdot (V + 0.034)) - 1) \quad (4.10b)$$

$$\beta_n = 625 \cdot \exp(-(V + 0.044)/0.080) \quad (4.10c)$$

$$g_K = 90 \text{ S/m}^2, E_K = -90 \text{ mV} \quad (4.10d)$$

A sejtmodell további három ioncsatornát is tartalmaz. A magas küszöbű kalcium (I_{Ca}) és a kalcium aktiválta kálium (I_{KCa}) áram tüzelési frekvencia adaptációt okoz. A hiperpolarizáció aktiválta aspecifikus kation áramnak (I_H) pedig a hiperpolarizáció utáni, úgynevezett „rebound burst”-ben van szerepe. Ez a burst azonban jelentősen különbözik a szeptális sejtek tüzelési formájától: míg a szeptális sejtek konstans áram hatására is periodikus burstök formájában tüzelnek, addig a hippokampo–szeptális sejteknek csak a hiperpolarizáció utáni rebound tüzelése burst jellegű.

A Ca^{++} csatorna m kapuját itt is az egyensúlyi értékével helyettesítem. Az áramot a következő egyenletek írják le:

$$I_{Ca} = g_{Ca} m_{inf}^2 (V - E_{Ca}) \quad (4.11a)$$

$$m_{inf} = 1 / (1 + \exp(V + (2 \cdot 10^{-3}))) / 9 \cdot 10^{-3} \quad (4.11b)$$

$$E_{Ca} = 120 \text{ mV}, g_{Ca} = 10 \text{ S/m}^2 \quad (4.11c)$$

Az intracelluláris Ca^{++} koncentrációt egy egyszerű szivárgási kinetika határozza meg:

$$d[Ca^{++}]/dt = -\alpha I_{Ca} - [Ca^{++}]/\tau_{Ca} \quad (4.12)$$

$\alpha = 10^5 (1/(C \cdot m^3))$, így egy tüzelés alatt $\approx 200 \text{ nM}$ Ca^{++} áramlik be a sejtbe. $\tau_{Ca} = 80 \text{ ms}$.

A feszültségtől nem függő, kalcium aktiválta kálium áram:

$$I_{KCa} = g_{KCa} [Ca^{++}] / ([Ca^{++}] + K_D) (V - E_K) \quad (4.13)$$

ahol a $K_D = 30 \mu\text{M}$, $g_{KCa} = 100 \text{ S/m}^2$.

A hiperpolarizáció aktiválta aspecifikus kation áram:

$$I_H = g_H H(V - E_H) \quad (4.14a)$$

$$dH/dt = \alpha_H(V)(1 - H) - \beta_H(V)H \quad (4.14b)$$

$$\alpha_H = \frac{1/[1 + [\exp((V + 0.08)/0.01)]]}{0.2/[\exp((V + 0.07)/0.02) + \exp(-(V + 0.07)/0.02)] + 0.005} \quad (4.14c)$$

$$\beta_H = \frac{1 - 1/[1 + \exp((V + 0.08)/0.01)]}{0.2/[\exp((V + 0.07)/0.02) + \exp(-(V + 0.07)/0.2)] + 0.005} \quad (4.14d)$$

$$g_H = 1.5 \text{ S/m}^2, E_H = -40 \text{ mV} \quad (4.14e)$$

Külső áram hiányában a modell sejt ≈ 6 Hz frekvenciával egyenletesen tüzel.

A szimulációk során hippokampális „theta” állapot esetén a sejtek szinuszoid serkentő áramot kaptak (I_{feld}). Ezzel a sejtekre érkező ritmikus serkentő és gátlóáramok összegét kívántam figyelembe venni. Az input frekvenciája a szeptális hálózat sajátfrekvenciájához közeli érték volt. $\approx 4 - 5$ Hz, amplitúdója $3.6 \cdot 10^{-11}$ A. A sejt ezen felül egy konstans serkentőáramot is kapott ($I_{\text{ext}} = 3 \cdot 10^{-12}$ A) mellyel a lassú, kolinerg serkentést kívántam modellezni (Levey és mtsai, 1995). Ilyen áram hatására a sejt ≈ 8 Hz frekvenciával, theta periodikusan tüzel.

A szimulációkat elvégeztem zajos árammal is. Ilyenkor bemenetként a sejtek altatott patkány hippokampuszának CA1-es régiójában mért (Hajós és mtsai, 2004) theta-periodikus mező-potenciál értékeket kaptak. A nyers adatokat $\approx 3.6 \cdot 10^{-11}$ A amplitúdójúra skáláztam át.

Ugyanezt a módszert alkalmaztam a hippokampális „nem-theta” állapot modellezésekor is. Ilyenkor tehát (az L-838,417 és a zolpidem hatásának modellezésekor) a sejteknek injektált áram a droghatás alatt mért áram hasonló amplitúdójúra átskálázott változata. Az áram fehér zajra hasonlít, jellemző csúcsok a Fourier spektrumban nincsenek. A sejt tüzelése aperiodikus, de frekvenciája ekkor is (az L-838,417 esetében) 8 Hz körüli érték. A CA1 mező-potenciál a piramissejtek szinaptikus áramait, tehát a piramissejtek aktivitását tükrözi. A helyi piramissejtek axonkollaterálisai képezik a hippokampo–szeptális sejteket érő serkentő bementek több mint 80%-át (Blasco-Ibanez és Freund, 1995)! Ezért reális az a feltételezés, hogy a hippokampális mezőpotenciál és a hippokampo–szeptális sejtek aktivitása között szoros összefüggés van.

4.2. A sejtek közötti kapcsolatok modellezése

A dolgozat tudományos eredményeinek szempontjából döntő kérdések mind a sejtek közötti kapcsolatok modellezésével függenek össze. Az eredmények első fejezetében (5.1. fejezet) a theta oszcilláció keletkezése a mediális szeptum GABA_Aerg sejtjeinek általam feltételezett hálózati elrendezéséhez kötődik. Az eredmények második fejezetében (5.2. fejezet) bemutatott farmakológiai alkalmazás során a modellezni kívánt drogok hatását elsősorban a sejtek közötti kapcsolatok erősségének megváltoztatásával vettem figyelembe.

4.2.1. Szinapszisok modellje

A sejteket egymással GABA_A gátló szinapszisokon keresztül kötöttem össze. A szinapszisok kinetikai paramétereit Wang 1996-ban közölt cikkében szereplőkhöz hasonlóan állítottam be. A szinaptikus áramot a következő egyenlet szerint számoltam:

$$I_{\text{syn}} = g_{\text{syn}} s (V - E_{\text{syn}}) \quad (4.15)$$

ahol E_{syn} a szinapszis reverzál potenciálja és s a szinapszis kapuváltozója, g_{syn} a szinapszis maximális konduktanciája. Ez utóbbi paraméter határozza meg két sejt között a kapcsolat erősségét. A valóságban a két sejt között több szinapszis is lehet, g_{syn} alatt ezek erősségének az összegét értjük. A kapuváltozó elsőrendű kinetikával írható le, nyitvatartási valószínűsége függ a szinaptikus transzmitter koncentráció értékétől:

$$ds/dt = \alpha F(V_{\text{pre}})(1 - s) - \beta s \quad (4.16)$$

A szinaptikus transzmitter koncentráció ($F(V_{\text{pre}})$) a preszinaptikus sejt membránpotenciáljának (V_{pre}) függvénye:

$$F(V_{\text{pre}}) = \frac{1}{1 + \exp \frac{V_{\text{pre}} - \Theta_{\text{syn}}}{K_{\text{syn}}}} \quad (4.17)$$

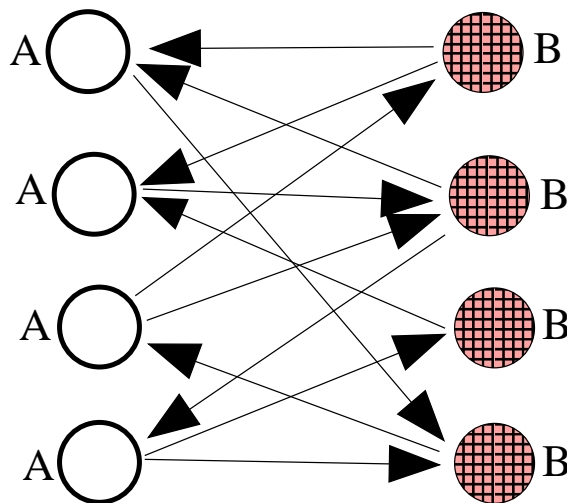
A szeptális sejtek közötti szinapszisok esetében $E_{\text{syn}} = -75 \text{ mV}$, $\alpha = 14 \frac{1}{\text{ms}}$, $\beta = 0.07 \frac{1}{\text{ms}}$; míg a hippokampális és szeptális sejtek közötti szinapszisoknál $E_{\text{syn}} = -80 \text{ mV}$, $\alpha = 20 \frac{1}{\text{ms}}$, $\beta = 0.05 \frac{1}{\text{ms}}$. $K_{\text{syn}} = 2 \text{ mV}$, $\Theta_{\text{syn}} = 0 \text{ mV}$, mindkét szinapszisa. A szinaptikus áram ilyen paraméterértékek mellett hasonló az *in vivo* mérhető IPSPkhez.

4.2.2. Hálózatszerkezet

A legújabb anatómiai és fiziológiai kutatások azt valószínűsítik, hogy a mediális szeptális sejtek közötti kapcsolat esetleg nem véletlenszerű kapcsolódás, mint ahogy 2002-es modelljében azt Wang feltételezte. A sejtek ugyanis hippokampális thetahoz viszonyított fázisukat (Borhegyi és mtsai, 2004) és anatómiai kapcsolataikat (Makó és mtsai, 2004; Gulyás és mtsai, 2004) tekintve is két csoportba sorolhatóak. Fénymikroszkópos és immuncitokémiai módszereket kombinálva kiderítették, hogy a szeptális sejtek egy csoportja, mely szomatosztatin (SOM) tartalmú interneuronokat (horizontális sejtek) idegez be a hippokampuszban, nem ad kollaterálisokat a parvalbumin tartalmú interneuronokra (kosársejtek), és amelyek PV tartalmúakat idegeznek be, nem szinaptizálnak SOM tartalmúakon (O-LM sejtek). Másrészt a mediális szeptum parvalbumin immunreaktivitást mutató GABAerg sejtjeinek fáziseloszlása a hippokampális thetahoz képest bimodális: egyes sejtek a theta pozitív, mások a negatív csúcsa közelében tüzelnek. Azt gondolom, ugyanazon két sejtcsoporthoz közelítették meg anatómiai és fiziológiai oldalról. Így a negatív csúcs közelében tüzelők a hippokampális kosársejteket gátolják, melyek aktivitása a theta pozitív csúcsa körül nő meg. Ez megoldaná a szeptális sejtek fázisa körül évek óta fennálló kérdéseket (King és mtsai, 1998), és a theta-generálásról alkotott aktuális képbe (Buzsáki, 2002) is jól beleillik.

Az itt bemutatott kísérleti adatokra építve alakítottam ki a mediális szeptum GABAerg sejtjeinek hálózatát. Úgy gondolom, hogy a hippokampuszhoz képest ellentétes fázisban tüzelő sejtek két elkülönült sejtpopulációt alkotnak, melyek kölcsönösen beidegzik egymást. A két sejtpopuláció sejtjei egyformák, ám minden sejt elsősorban a másik populáció sejtjeit innerválja (4.3. ábra). Egyazon populációba tartoznak tehát mindazok a sejtek, melyeknek kapcsolatrendszere hasonló: ugyanazokat a sejteket idegzik be, és őket is ugyanazok a sejtek innerválják.

Minden sejt, minden, a másik csoportban lévő sejttel egy g_{ij} konduktanciájú szinapszison keresztül p_{AA} valószínűséggel van összekötve. Az egy populációban lévő sejtek egymással p_{AB} valószínűséggel vannak összekötve, ugyanilyen konduktanciájú szinapszissal. Az egy sejtre eső szinaptikus konduktanciát (az összes olyan szinapszis konduktanciájának az összege, ahol a sejt posztzinaptikus helyzetben van) a szimulációk során $g_{syn} = 0.4 - 16 \text{ S/m}^2$ között változtattam ($g_{syn} = p_{AA} \cdot g_{AA} \cdot n_A + p_{BA} \cdot g_{BA} \cdot n_B$). Az 5.1. fejezet összes szimulációja során érvényes, hogy $p_{AA} = p_{BB}$, $g_{AA} = g_{BB}$, valamint $p_{AB} = p_{BA}$, $g_{AB} = g_{BA}$, de az egyes értékek szimulációnként változnak. A 5.2. fejezetben $p_{AA} = p_{BB} = 0$, $p_{AB} = p_{BA} = 1$, $g_{AB} = 0.08$, míg $g_{BA} = 0.1$. A há-



4.3. ábra.

A szeptális GABAerg sejtek hálózatának sematikus ábrája. Az egymással szinkron burstlő sejtek egy csoportba tartoznak, azonos betűvel jelöltem őket. Minden sejt, minden, a másik csoportban lévő sejttel egy g_{ij} konduktanciájú szinapszison keresztül p_{AB} valószínűséggel van összekötve. Az azonos csoportba tartozó sejtek közötti kapcsolódási valószínűséget p_{AA} -vel jelöltem. Az ábrán $p_{AA} = 0$ és $p_{AB} = 0.4$.

lőzatban aszimmetriát okoz, hogy az azonos populációba tartozó sejtek kisebb valószínűséggel vannak összekötve, mint az eltérő populációba tartozók ($p_{AA} < p_{AB}$).

A szeptális hálózatot a 5.2. fejezetben kibővítettem a hippocampo-szeptális sejtek populációjával. A hippocampális sejtek között lévő kapcsolatokat most elhanyagoltam, ezek a sejtek a szeptális hálózat egyik populációját idegzik be g_{SB} konduktanciájú szinapszissokkal. A sejteknek adott serkentőáramokat a 4.1.2. fejezetben tárgyaltam.

4.2.3. A GABA modulátorok hatásának modellezése

A 2.3.1. fejezetben összefoglalt eredmények szerint a benzodiazepinek a $GABA_A$ szinapszissokon az mIPSC-k időtartamát és amplitúdóját növelik. Ez legtöbbször a szinaptikus hatás agonista (GABA) jelenlétében történő megerősödésében nyilvánul meg. A zolpidem közvetlen hatását ezért úgy vettem figyelembe, hogy a GABA szinapszissok konduktanciáját megnöveltem. A modellezett GABAerg sejteken kívül az őket beidegző kolinerg sejtek membránján is találhatóak $GABA_A$ receptorok, és ezek aktivitását is befolyásolják a benzodiazepinek (2.1.2. fejezet). Minthogy a kolinerg sejtek szabályozzák a GABAerg sejtek serkentettségi állapotát, a modellezés során benzodiazepinek eme közvetett hatását is figyelembe kell venni. Ezért változtattam a szeptális és a hippocampális GABAerg sejtekre adott konstans serkentőáram (I_{ext}) nagyságát is.

$GABA_A$ receptorok a mediális szeptumban sem a kolinerg, sem a GABAerg sejteken nem mutatnak α_2 immunreaktivitást, és az α_2 alegység a hippocampusban különleges helyet foglal

el (2.3. fejezet). Ezért az L-838,417 hatásának modellezésekor a hálózatban semmilyen közvetlen hatását nem vehettem figyelembe. Az L-838,417 közvetett hatásként a hippokampo-szeptális sejtek intrahippokampális inputjának (I_{field}) megváltozása jöhetett szóba. Arra voltam kíváncsi, hogy az I_{field} -ben milyen változásnak kellett történnie az L-838,417 hatására, hogy a hippokampo-szeptális kapcsolatok magyarázzák a szeptumban látott változást. Modellemben a hippokampo-szeptális sejtek „theta” állapotban periodikus, „nem-theta” állapotban pedig aperiodikus I_{field} áramot kaptak (4.1.2. fejezet).

4.2.4. Egyéb technikai kérdések

A szimulációk során $n = 40 - 80$ szeptális sejtet használtam. Az egyes sejtpopulációk aktivitását a sejtek pillanatnyi tüzelési rátájának összegével közelítettem. Az egyes sejtek pillanatnyi tüzelési rátáját úgy számoltam, hogy minden tüzelést egy

$$G(t) = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} \exp\left(-\frac{(t-\mu)^2}{2\sigma^2}\right) \quad (4.18)$$

alakú Gauss görbével helyettesítettem, ahol μ a tüzelés időpontja és $\sigma = 1$ ms. Az így kapott aktivitásgörbe integrálja két tetszőleges időpont között az ez idő alatt esett tüzelések számát közelíti (Dayan és Abbott (2001), 1.2. fejezet).

A sejtek theta-periodikusságát a következőképpen számoltam: a sejt aktivitásából számolt autocorrelogramban megkerestem a legnagyobb (Q_{max}) és legkisebb (Q_{min}) értéket $t_1 = 50$ ms és $t_2 = 300$ ms között. A sejt periodikussága (P) a két érték különbsége ($P = Q_{\text{max}} - Q_{\text{min}}$, az autokorrelogram legnagyobb amplitúdója. 2.4.B. ábra).

A sejtcsoport theta-periodikusságának mérésére az 5.5.B. ábrán a szinkronitást (S) vezettem be, melyet a következőképpen számoltam: meghatároztam a populáció tüzelési frekvenciájának maximumát ($f_{\text{pop}}^{\text{max}}$) és minimumát ($f_{\text{pop}}^{\text{min}}$) minden theta periódusban, ezeknek átlagából tehát $S = \frac{(\overline{f_{\text{pop}}^{\text{max}}} - \overline{f_{\text{pop}}^{\text{min}}})}{\overline{f_{\text{pop}}^{\text{min}}}}$.

A szimulációk során tehát a következő paramétereket változtattam (független változók): a kapcsolódási valószínűségek (p_{AA}, p_{AB}), a szinaptikus konduktanciák (g_{ij}) értékeit, az egyes sejtekre adott konstans serkentőáramot (I_{ext}) és a hippokampo-szeptális sejtek bemenetéül szolgáló áramot (I_{field}).

A hálózat sejtjeinek heterogenitását a következő paraméterek okozzák:

- A sejtek inputja zajos, a zaj sejtenként különbözik (4.1.1. fejezet).
- A szeptális GABAerg sejtek membránpotenciáljának kezdeti értéke (V_{init}) véletlenszerű (4.1.1. fejezet).
- Bizonyos szimulációkban a hálózatban a szinaptikus kapcsolat valószínűsége két sejt között egynél kisebb (4.2.2. fejezet).
- A hippocampo-szeptális sejtek membránkapacitása eltérő (4.1.2. fejezet).

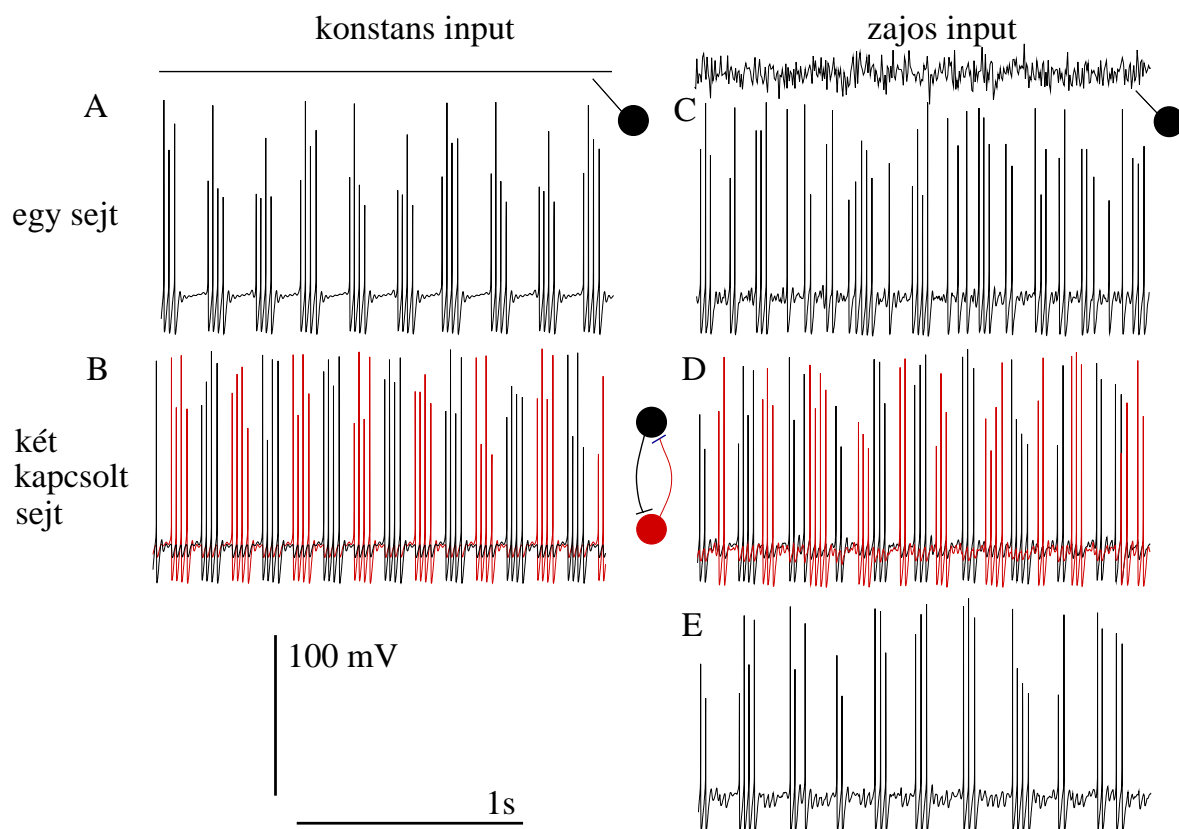
Eredmények

5.1. Theta szinkronizáció a mediális szeptumban

Az eredmények első fejezete azt a kérdést vizsgálja, hogy a mediális szeptum GABAerg sejtjei a 4.2.2. fejezetben bemutatott hálózatszerkezetet feltételezve képesek-e szinkronizálódni, és a megjelenő oszcilláció a fiziológias theta ritmushoz hasonló-e?

5.1.1. Két sejt

Vizsgálatomat először két összekapcsolt sejttel kezdtem (5.1. ábra). Ha két ilyen, theta frekvenciával burstlő gátlósejtet GABA_A szinapszisokon keresztül összekapcsolok, és a szinaptikus konduktanciát a megfelelő értékre (itt $g_{12} \approx 4 \text{ S/m}^2$ -re) állítom, akkor ezek a sejtek egymással ellentétes fázisban fognak burstolni (antifázisos szinkronizálódás). Ha egyetlen sejtnak nem konstans, hanem zajos inputot adok (4.1.1. fejezet), akkor ez a sejt elveszti theta periodicitását. Ha azonban két zajos sejtet kapcsolok össze, akkor a theta periodicitás visszatér, noha egymástól független zajt kapnak. A sejtek periodikussága zajos környezetben tehát nem csak a feszültségfüggő ioncsatornáktól, hanem a hálózat szerkezetétől, és a hálózatban meglévő zajszűrő mechanizmusoktól is függ. A két sejt egymást kölcsönösen gátolva csökkenti a rendszerre ható zaj zavaró erejét.

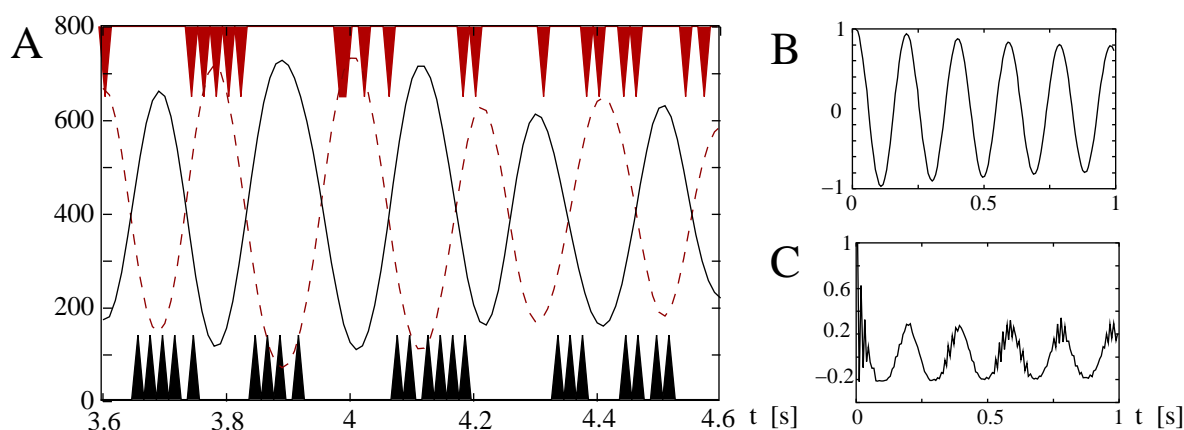


5.1. ábra.

Zaj hatása a pacemaker sejtekre. A bal oldali ábrákon a sejt konstans serkentést kap ($3 A/m^2$), a jobb oldaliakon a serkentő áram zajos. A felső sorban kontrollként egyetlen sejt viselkedését, a középső sorban két, összekapcsolt sejt viselkedése látszik. (A) Egyetlen sejt zaj nélkül ritmikusan burstól. Minden burst egyformán négy tüzelésből áll. (B) A két összekapcsolt sejt antifázisosan oszcillál. Az oszcilláció frekvenciája alacsonyabb, mint egyetlen sejt esetében. (C) A zaj hatására a sejt periodicitása lényegesen csökken, a periodikus burstok elmaradnak, a tüzelések száma burstonként változó. (D,E) Ha két sejtet összekapcsolunk, és a zaj a sejtekre függetlenül érkezik, akkor az egyes sejtek (D) periodicitása megnő, és a sejtek (E) ismét antifázisos oszcillátorokként viselkednek. A sejtek aktivitása hasonlóvá válik a zajmentes állapothoz, mert a burstok alakja és a köztük eltelt idő szabályosabb. A rendszer képes egyfajta zajszűrésre.

5.1.2. Hálózat

A két sejten végzett vizsgálat után a szinkronizálódási képességet egy $n = 2 \times 20$ sejtéből álló hálózaton (4.3. ábra) is megnéztum. A minőségi különbség a hálózat és a két sejt között az, hogy a hálózatban a szinaptikus konduktanciák ($g_{ij} \approx 0.2 S/m^2$) egyenként nem elég erősek ahhoz, hogy egy sejt egy másik sejtre jelentős hatást gyakoroljon.



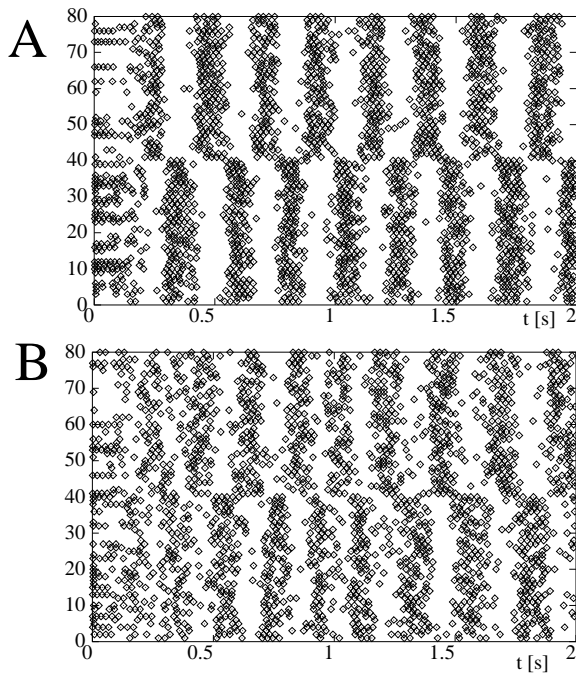
5.2. ábra.

Példa a szeptális sejtekből álló hálózat viselkedésére ($g_{\text{syn}} = 4 \text{ A/m}^2$, $I = 3.5 \text{ A/m}^2$). (A) Populációs aktivitás: minden tüzelést Gauss görbével helyettesíttem, a Módszerek fejezetben leírtak szerint. A két görbe mutatja a két populáció aktivitását. Látható, hogy a két populáció antifázisos. A görbék alatt és felett a megfelelő populációból választott egy-egy példasejt aktivitása látszik. A tuskék a tüzelések időpontját jelölik. (B) Autokorrelogram az egyik populáció aktivitásából. 5 Hz frekvenciájú, erősen periodikus oszcillációt mutat. (C) Egyetlen sejt aktivitásából számolt autocorrelogram szintén periodikus, frekvenciája megegyezik a populáció frekvenciájával.

A szinkronizált oszcilláció egy ilyen hálózatban stabil viselkedés lehet, hiszen ha a sejt membránpotenciálja túl magas (közel van a sejt a következő tüzeléshez), amikor a másik populáció éppen aktív, akkor a gátlás erősebben érvényesül ($I_{\text{syn}} = g_{\text{syn}}s(V - E_{\text{syn}})$, a szinaptikus áram a szinapszis reverzálpotenciáljától számított feszültségkülönbséggel arányos), és így hatékonyabban csökkenti a membránpotenciálját. Így a csoportban az a sejt kapja a legerősebb gátlást, amelyik a legközelebb van a következő tüzeléshez. Ahhoz, hogy a gátlás elég nagy legyen, a másik csoport sejtjeinek egyszerre kell tüzelniük. Ez először saját farkába harapó kígyónak tűnik: azt szeretnénk, hogy a hálózat szinkronizálódjon, és ehhez az kell, hogy a sejtek egyszerre tüzeljenek. Lehetséges-e, hogy a rendszer véletlenszerű kezdeti állapotból eljut a szinkronizált állapotba? A szimulációk szerint igen (5.2. ábra), még hozzá meglehetősen gyorsan (5.3. ábra).

5.1.3. A szinkronizáció mechanizmusa

A két populáció sejtjeinek paraméterei egyformák, különbség a sejtek között a membránpotenciál kezdeti értékében (V_{init}) volt. A membránpotenciál kezdeti értékét minden sejt esetén



5.3. ábra.

A mediális szeptum sejtaktivitásából készített rasterdiagramm. A vízszintes tengelyen itt az idő, a függőlegesen pedig a sejt sorszáma (80 sejt, 1-40 az egyik, 41-80 a másik populációból). A körök az egyes sejtek tüzeléseinek időpontjait jelölik. A függőleges irányú sávok szinkronizáltságra utalnak. (A) A populációkon belül nincsenek kapcsolatok ($p_{AA} = 0$), a szinkronizálódás gyors és a szinkronizáció foka magas. (B) A populációkon belüli kapcsolatok jelen vannak ($p_{AA} = 0.3$), ezért a szinkronizációhoz szükséges idő megnő, a szinkronizáció foka pedig lecsökken.

véletlenül választom egy normál eloszlásból, melynek várható értéke $\mu = -62$ mV, szórása $\sigma = 5$ mV. Az egyes sejtek serkentő áramként (I_{ext}) egymástól független fehér zajt kaptak (5.1. ábra). Ezek a kis különbségek a hálózatban felerősödve elegendőnek bizonyulnak ahhoz, hogy az egyik populáció (A) aktivitása kellően hosszú ideig megfelelően magas legyen ahhoz, hogy a másikat (B) gátolja, így annak sejtjei szinkron elhallgatnak. A lassú kálium (I_{KS}) áram hatására az A populáció sejtjeinek aktivitása lecsökken, így a B-re ható gátlás gyengülésével most ezek a sejtek kezdenek tüzelni. A szinkronizáció ideális esetben igen gyorsan végbemegy (5.3. A ábra).

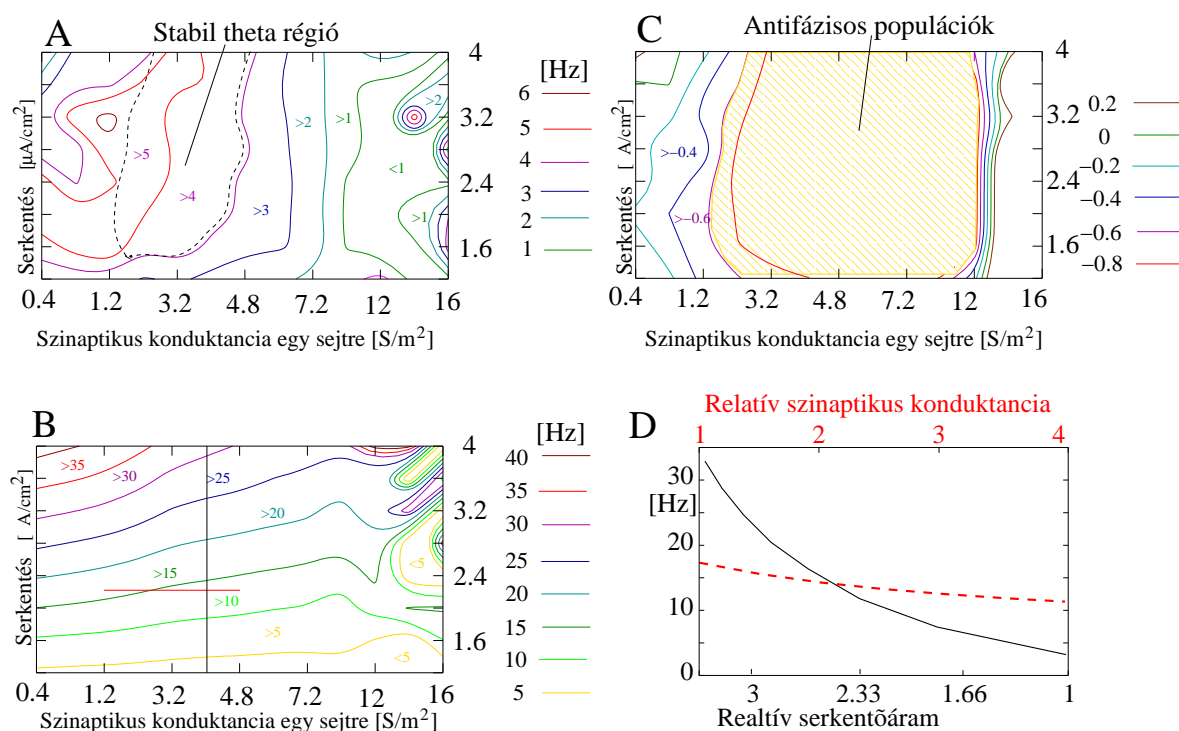
A szinkronizáció ellen hat, ha megengedem, hogy a sejtek a populációkon belül is kapcsolódjanak. Minél erősebbek a kapcsolatok a populációkon belül, az oszcilláció annál lassabban alakul ki és annál sérülékenyebb lesz a kívülről érkező zavaró hatásra. Ha tehát $p_{AB} = 1$, és $p_{AA} = 0$ akkor a szinkronizáció gyors (5.3. A ábra), ám ha $p_{AA} = 0.3$ változatlan p_{AB} mellett, a szinkronizáció sokkal több időt vesz igénybe (5.3. B ábra). 0.3-nál nagyobb p_{AA} érték mellett a hálózatban a theta oszcilláció nem jelenik meg.

5.1.4. Paramétertér vizsgálat

Egy modell fontos tulajdonsága, hogy a vizsgált jelenséget milyen széles paramétertartományban mutatja. Ha a modell realiztikus, akkor azt várjuk, hogy hasonlóan viselkedjen, ha bizonyos paramétereket a fiziológiai határok között megváltoztatunk. Vizsgáltam, hogy az oszcilláció létrejön-e különböző szinaptikus erősség, serkentő áram (5.4. ábra) valamint kapcsolódási valószínűség ($p_{AB} < 1$) mellett (5.5. ábra). Döntő tényezőnek mindkét esetben az egy sejtre eső gátlás erőssége ($g_{syn} = \sum_{i=1}^n g_{ij}$) bizonyult. Az 5.4. A. ábra szerint, ha a populációk nincsenek elég erősen összekapcsolva, a gátlás túl gyenge, az antifázisos szinkronizáció nem jön létre; ha azonban a kapcsolatok túl erősek az oszcilláció létrejön, de frekvenciája alacsony lesz (< 4 Hz), mely már nem esik a theta tartományba. A szinkronizáció csak kevésbé függ a sejtekre adott serkentő áram erősségétől. Ezt a paramétert széles sávban lehet változtatni anélkül, hogy akár a populáció oszcillációjának frekvenciája (5.4. A ábra), akár a szinkronitás mértéke (5.4. C ábra) megváltozna. Jelentősen változik viszont a sejtek tüzelési frekvenciája (5.4. C, D ábra): a serkentő áramot 1-ről $4 \mu A/cm^2$ -re növelve 10-ről 35 Hz-re nő. Minthogy a serkentőáram nagyságától csak az egyes sejtek tüzelési frekvenciája függ, a hálózat oszcillációs frekvenciája nem, egyazon populációban jelen lehetnek különböző serkentettségű sejtek, melyek különböző frekvenciával tüzelnek. Ez összhangban van azzal, hogy a szeptális sejtek tüzelési frekvenciájának a mérések szerint igen nagy szórása lehet (Dragoi és mtsai, 1999; Borhegyi és mtsai, 2004; King és mtsai, 1998). A sejtek tüzelési rátája a szinaptikus konduktancia növelésével csak kevésbé változik (5.4. D ábra).

Az 5.4. ábrán a vízszintes tengelyen a szinaptikus konduktancia (g_{syn}) szerepel. Ez a sejtre érkező szinapszisok konduktanciáinak (g_{ij}) összege. Nagyságát minden, két különböző populációban lévő i, j sejt pár között egy normál eloszlásból veszem, melynek várható értéke a stimulációk során $\mu = 0.02$ és $0.8 S/m^2$ között változott. A szórás a várható érték hatodrésze. A grafikonokon az egy sejtre érkező szinapszisok konduktanciájának várható értékét adtam meg. Itt $p_{AB} = 1$, ezért ez egy szinapszis konduktanciájának húszszorososa.

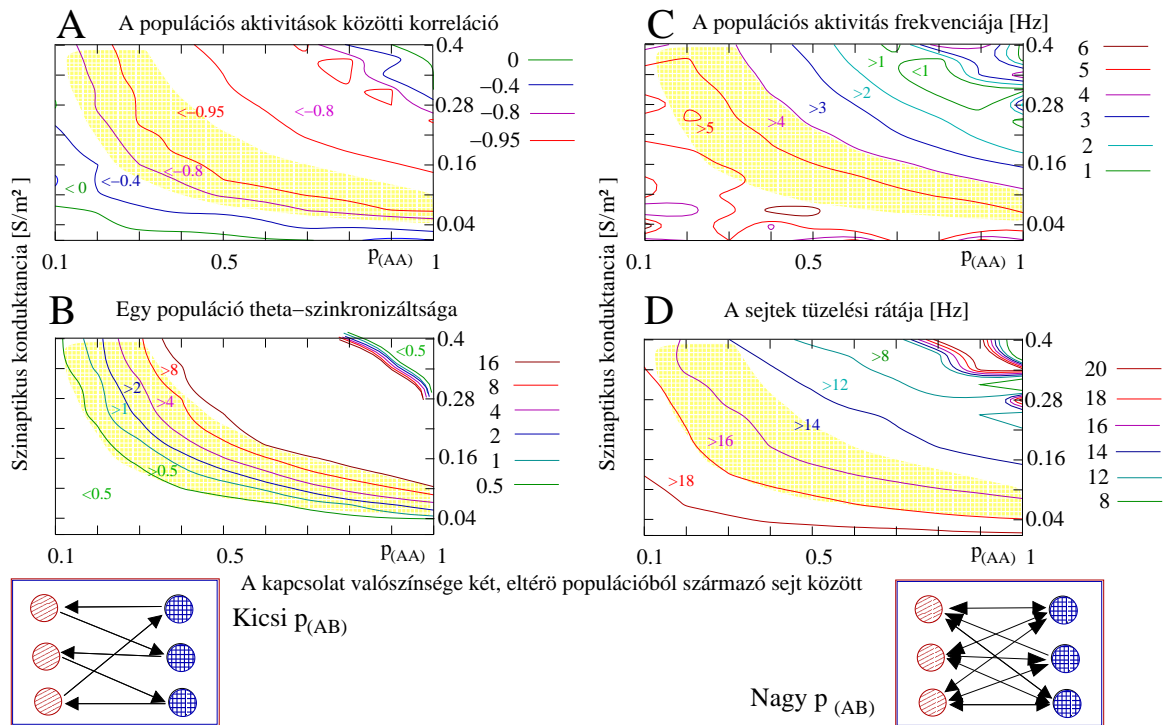
A szinkronitás alacsonyabb konnektivitásnál ($p_{AB} < 1$) is létrejön, ekkor azonban magasabb szinaptikus konduktanciák szükségesek. Abból, hogy az 5.5. ábrán látható vonalak hiperbolaszzerűek az következik, hogy ilyenkor is az egy sejtre eső gátlás erőssége (a két tengelyen ábrázolt változók szorzata) számít a sejtek szinkronitása, a populáció oszcillációs frekvenciája és a sejtek tüzelési rátája szempontjából. Ha ez közelítőleg állandó marad, az említett jellem-



5.4. ábra.

A hálózat viselkedése a szinaptikus konduktanciák erősségének és a sejtekre adott serkentő áram nagyságának függvényében. A 4.3. ábra 40 sejtől álló hálózatán változtattam e két paramétert. A serkentő áram (függőleges tengely, A, B, C) nagysága egy populáció minden sejtjére azonos, de szimulációnként 1 és $4 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ között változik. A vízszintes tengelyen a szinaptikus konduktancia (g_{syn}). (A) A populáció oszcillációs frekvenciája. A populációs aktivitás Fourier spektrumában kerestem meg a legmagasabb csúcshoz tartozó frekvenciaértéket. Nagyrészt függőleges vonalakat látunk, mert a populáció oszcillációjának frekvenciája főleg a szinaptikus konduktanciától függ. A szaggatott vonal jelöli azt a területet, ahol a theta oszcilláció (itt 4–6 Hz) jellemző a rendszerre. Magas szinaptikus konduktanciánál a frekvencia túl alacsony, alacsony konduktanciánál pedig a populációk nem szinkronizáltak. (B) Az egyes sejtek átlagos tüzelési frekvenciája. Ha nincsenek laterális kapcsolatok, akkor a szinaptikus konduktancia növelése nem okoz nagy változást az egyes sejtek tüzelési rátájában. (C) Korreláció a két populáció aktivitása között ($Q(AxB)$). Akkor tekintem a két populációt antifázisosnak, ha $Q(AxB) < -0.6$ (árnyékolt terület). (D), 4-szeresre növelt szinaptikus konduktancia is csak alig csökkenti az egyes sejtek tüzelési rátáját (szaggatott vonal), míg hasonló csökkentés a serkentőáram nagyságában jelentős tüzelési ráta csökkenést okoz (folytonos vonal). Az ábra megfelel annak, ha a B, ábrát a fekete (relatív serkentőáram) vagy a piros vonal (relatív szinaptikus konduktancia) mentén elmetszem.

zók alig változnak. Nem realiztikus azt feltételezni, hogy a szeptumban minden GABAerg sejt minden másikkal össze van kötve, ezért fontos, hogy a modell alacsonyabb konnektivitási fok mellett is működőképes.



5.5. ábra.

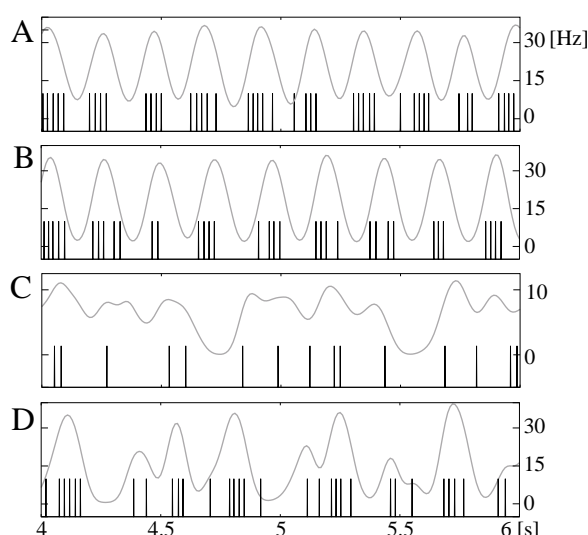
A kapcsolódási valószínűség hatása a hálózat viselkedésére. A szimulációkhoz populációnként 40 sejtet használtunk. A vízszintes tengelyen a két populáció sejtjei közötti kapcsolódási valószínűség ($p_{AB} = p_{BA}$) 0.1 és 1 között változik, (miközben $p_{AA} = p_{BB} = 0$); a függőleges tengelyen a szinaptikus konduktancia (g_{ij}). (A) A két populáció aktivitása között számolt korreláció. (B) Egy populáció aktivitásának szinkronizáltsága (S , 4.2.2. fejezet). A nagy számok magas fokú szinkronitást jelentenek. (C) A populációs aktivitás frekvenciája. (D) A sejtek tüzelési rátája. Az ábrákon látható hiperbola alakú vonalak arra utalnak, hogy a két változó szorzata ($g_{AB} \cdot p_{AB}$, az egy sejtire jutó gátlás erőssége) határozza meg a hálózat viselkedését. A grafikonokon a sárgával sátozott régió jelenti azt a paramétertartományt, ahol az oszcilláció frekvenciája (>4 Hz) és a korreláció (<-0.6) a stabil theta tartományon belül van.

5.2. GABA receptor allosztérikus modulátorok hatásának modellezése

Az eredmények második fejezetében dr. Hajós Mihály (2.3.1. fejezetben bemutatott) kísérleteiben megfigyelt jelenségeket értelmeztem a modell segítségével. A GABA_A α alegység szelektív benzodiazepin agonisták hatását a 4.2.3. fejezetben leírtak szerint modelleztem.

5.2.1. A zolpidem hatása

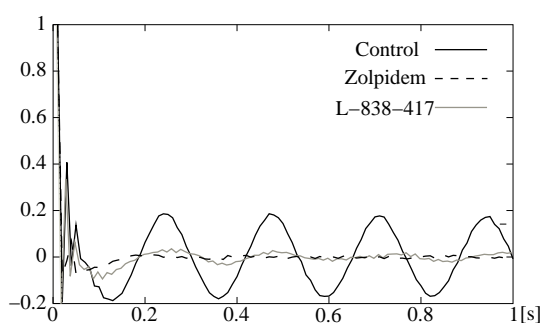
A modell szerint zolpidem közvetlen (GABA szinapszisok konduktanciájának megnövelése) és közvetett (GABAergic sejtekre adott konstans serkentőáram (I_{ext}) nagysága) hatása együttesen felelős a szeptális sejtek periodikusságának és tüzelési rátájának csökkentéséért. Ha a közvetett hatást nem veszem figyelembe, akkor a tüzelési ráta csökkenése nem magyarázható (5.4.D. ábra). Mindkét hatást figyelembe véve a szimulációk (5.6. és 5.7. ábrák) a kísérletekhez (2.1. és 2.4. ábrák) hasonló eredményeket adnak. A szimulációk során a szeptális sejtek populációs aktivitásának Fourier spektrumában a theta tartomány csökkenése a zolpidem hatására sokkal jelentősebb, mint az L-838,417 szimulálásakor (5.9).



5.6. ábra.

GABA_A moduláció hatása a modell hálózatban. A hálózat hipokampo-szeptális sejtek nélkül (A) szinkronizált aktivitást mutat. Hasonlóan szinkronizált viselkedést látunk hipokampális innerváció esetén, kontroll állapotban (B). A zolpidem (C) és az L-838,417 (D) szimulált hatása során a sejtek deszinkronizálódnak, és csökken periodicitásuk is. Csak a zolpidem hatására csökken a szeptális sejtek tüzelési rátája (C).

A hatást először a szeptális hálózaton vizsgáltam, majd a hipokampo–szeptális sejtekkel kibővített hálózaton is hasonló eredményt kaptam. Ebben az esetben azonban csökkenteni kellett a hipokampo-szeptális sejtekre adott serkentőáramot (I_{ext}) is. A zolpidem hatására tehát ezeknek



5.7. ábra.

A szeptális egysejtaktivitásból készített autokorrelogrammok kontroll állapotban (fekete, folytonos vonal), zolpidem (szaggatott vonal) és L-838,417 (szürke folytonos vonal) hatására. Mindkét drog hasonlóan csökkentette a sejtek periodicitását.

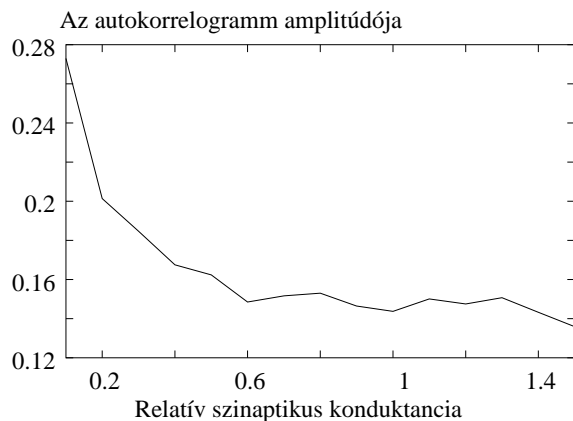
a sejteknek is csökkenteniük kell tüzelési rátájukat.

5.2.2. Az L-838,417 hatása

Hipotézisem az, hogy az L-838,417 szeptális hatását a hippocampo-szeptális projekció közvetíti. Az L-838,417 a piramissejtek periszomatikus régióján lévő α_2 tartalmú GABA_A szinapsziszokat modulálva szól bele a hippocampális hálózat működésébe. A piramissejtek tüzelésében okozott változás a hippocampo-szeptális sejteket is eléri a piramissejtek lokális axonkollaterálisain keresztül (Blasco-Ibanez és Freund, 1995) (részletesebben: 4.1.2 és 4.2.3. fejezetek). A szeptális GABAerg sejtekből álló hálózatot tehát a hippocampo-szeptális sejtek populációjával egészítettem ki.

A szeptális hálózat viselkedése a hippocampális innerváció hatására kontroll állapotban nem változik meg, mert a hippocampo-szeptális sejtek tüzelése ilyenkor periodikus, és frekvenciájuk megegyezik a szeptális hálózat sajátfrekvenciájával (5.6. A, B. ábra). A sejtek populációs aktivitásából készített Fourier spektrum teljesítménye a theta tartományban (4-6 Hz) nem változik, csak csúcsosabb lesz a spektrum.

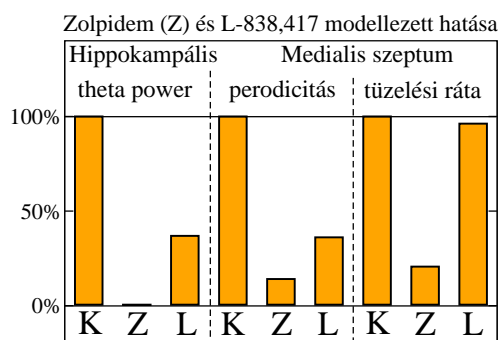
L-838,417 hatására a hippocampo-szeptális sejtek tüzelése a modellben aperiodikus lesz. Ilyenkor a szinaptikus csatolás erejétől függően az aperiodikus tüzelések képesek a szeptális hálózatot deszinkronizálni (5.8. ábra): a szeptális sejtek periodikussága elvész (5.7. ábra), miközben tüzelési frekvenciájuk változatlan marad. A szeptális egysejtaktivitás ilyenkor (5.6. D. ábra) hasonló a kísérlet során mérthez (2.1. C. ábra).



5.8. ábra.

Aperiodikus bemenet hatására a szeptális sejtek periodicitása csökken, amint ez az autokorrelogrammok amplitúdójának csökkenésében is megnyilvánul. Relatív szinaptikus konduktancia: a hippokampális horizontális sejtek és a szeptális GABAerg sejtek közötti szinapszisok (g_{OA}) és az intraszeptális szinapszisok (g_{AA}) konduktanciájának aránya. (g_{OA})-t növelve, a szeptális sejtek átlagos periodicitása gyorsan csökken.

5.9. ábra.



A zolpidem (Z) és az L-838,417 (L) modellezett hatása a szeptális oszcillációra. Látható, hogy a kontroll állapothoz képest (K) mindkét hatás jelentősen csökkenti a modellben a sejtek periodikusságát: csökken a sejtek aktivitásából számolt autokorrelogramm amplitúdója és a populációs aktivitásból számolt Fourier spektrumban a theta frekvenciatartomány teljesítménye. Csak a zolpidem szimulált hatása során csökken jelentősen az egyes sejtek tüzelési rátája is.

A modell eredményei kvantitatíven is hasonlítanak a kísérleti eredményekhez (2.2, és 2.3. ábrák). A két drog között, mind a kísérletben, mind a modellben, jelentős különbség van a szeptális sejtek tüzelési rátájára gyakorolt hatás tekintetében. A szeptális populációs aktivitás és a hippokampális mezőpotenciál közötti párhuzam csak részben helytálló: a hippokampális oszcillációt a szeptum nem önmagában, hanem a hippokampusz egyéb bementével és helyi rezonátor hálózattal együtt alakítja ki. Amikor tehát a szeptális modellben a zolpidem hatására a Fourier spektrumból a theta frekvenciatartomány szinte teljesen eltűnik, az hippokampuszban meglévő egyéb oszcillátoroknak köszönhetően nem szükségszerű, hogy a hippokampális mezőpotenciálban hasonló méretékű változást tapasztaljunk.

Megvitatás

A dolgozatban számítógépes modellek segítségével teszteltem a hipotézist, miszerint egy pacemaker sejtekből álló, meghatározott struktúrájú hálózat a szeptális eredetű theta ritmus fiziológias alapjául szolgálhat. Dolgozatom nem kínál új javaslatot az egyedi sejtekben látható theta oszcilláció kialakulására. A hangsúlyt most az ilyen pacemaker sejtek közötti szinkronizáció kialakulására fektettem. Úgy találtam, hogy a sejtek megfelelő körülmények között nagymértékű szinkronizációra képesek, és az egyes sejtek az *in vivo* mérésekben látottakhoz hasonló viselkedést mutatnak. A populációs ritmus létrejöttének kulcsfontosságú pontjai a sejtek közötti speciális kapcsolatok, valamint a sejtekre jellemző ritmikus tüzelési forma kialakításáért felelős áram (I_{KS}) voltak.

A 6.1. táblázatban összefoglalom a modell azon állításait, melyek kísérletekkel ellenőrizhetők, valamint azokat a kísérleteket, melyek hasonló – vagy éppen ellenkező eredményre vezettek. Ezután szisztematikusan végigveszem a táblázat egyes pontjait, és röviden elhelyezem a modellt a kísérletek fontosabb állításainak terében.

A MODELL	ALÁTÁMASZTJA	CÁFOJA
A mediális szeptum autonóm theta generátor	Garner és mtsai (2005) , Stewart és Fox (1989, 1990); Bland és mtsai (1999)	Wang (2002)
A mediális szeptum GABAerg sejtjei theta-klaszterekben tüzelnek	Borhegyi és mtsai (2004) , Serafin és mtsai (1996); Brazhnik és Fox (1997)	Sotty és mtsai (2002); Garner és mtsai (2005)
A GABAerg sejtek periodicitását egy lassú kálium áram okozza	Serafin és mtsai (1996) , Alonso és mtsai (1996)	Sotty és mtsai (2002)
A sejtek szinkronizációja GABA szinapszisokon keresztül történik	Garner és mtsai (2005)	Brazhnik és Fox (1999)
A hálózatszerkezet fontos a szinkronizációban	Gulyás és mtsai (2004); Henderson és mtsai (2004)	
A GABAerg sejtek fáziseloszlása bimodális	Borhegyi és mtsai (2004)	King és mtsai (1998); Brazhnik és Fox (1997); Dragoi és mtsai (1999)
A sejtek tüzelési rátája különböző (lehet)	Dragoi és mtsai (1999); King és mtsai (1998); Borhegyi és mtsai (2004)	Bland és mtsai (1999)
A zolpidem csökkenti az acetilcolin szintet a szeptumban és a hippokampuszban	Moor és mtsai (1998); Imperato és mtsai (1994)	Gao és mtsai (1995)
A hippokampo–szeptális sejtek theta alatt periodikusan tüzelnek	Klausberger és mtsai (2002); Csicsvári és mtsai (1999); Aradi és Maccaferri (2004)	Czurkó és mtsai (2005)
A hippokampo–szeptális sejtek tüzelése L-838,417 hatására aperiodikusra fordul	Hajós Mihály [2005]	

6.1. táblázat.

A modell összevetése az irodalmi adatokkal. A legfontosabb eredményeket **vastag betűvel** szedtem.

6.1. Szeptális theta-generálás

Nincs egyetértés a tekintetben, hogy a szeptum valóban képes-e önállóan theta oszcillációt generálni (Garner és mtsai, 2005), vagy szerepe az oszcilláció létrehozásában permisszív, esetleg szabályozó szerep (King és mtsai, 1998). Modellem azt sugallja, hogy az oszcilláció a szeptumon belül létrejöhet, így megfelelő körülmények között ritmikus bemeneteitől izolált szeptumban is megjelenik.

A szeptális GABAerg sejtek tüzelési formája

A modell egyik alappillére, hogy a szeptális GABAerg sejtek theta periodikus burstök formájában tüzelnek. Azonban az *in vitro* mérések sokszor ezzel ellentétes aktivitásmintázatról számolnak be (Garner és mtsai, 2005; Sotty és mtsai, 2002). Az *in vivo* tanulmányok a mediális szeptumban főleg periodikusan burstölő sejteket találnak. A különbségért agytörzsből eredő noradrenerg és szerotonerg pályák hiánya lehet felelős. A kérdés tisztázása érdekében vizsgálni kellene, hogy a szeptális sejtek tüzelési tulajdonságai megváltoznak-e *in vitro* ilyen neuromodulátorok hatására.

A szeptális sejtek tüzelési mintázata és transzmittertartalma közti összefüggések felderítését célzó *in vitro* vizsgálatok meglepő módon glutamáterg (VGLUT⁺, vezikuláris glutamát transzporter immunreaktivitást mutató) sejtek spontán klaszter-tüzelő viselkedését írják le (Sotty és mtsai, 2002). Valójában, amikor Serafin és mtsai 1996-ban GABAerg sejtek klaszter-tüzeléséről írtak, a sejteket csupán elektrofiziológiai alapon osztották fel, semmiféle mikroszkópos módszert nem alkalmaztak. Valószínűleg tényleg nem kolinerg sejteket mértek, de a GABA-n kívül egyéb transzmitterre akkor senki se gondolt. Milyen szerepe lehet tehát a glutamáterg sejteknek a mediális szeptum túlnyomóan GABAerg és kolinerg sejtekből álló hálózatában? Izhikevich pusztán matematikai megfontolások alapján azt írja (Izhikevich, 2001), hogy burstaktivitást mutató sejtek gyengén összekapcsolt hálózatában burst-szinkronizáció létrejöhet, függetlenül attól, hogy serkentő vagy gátló sejtekről van szó. Ennek kulcsfeltétele csak az, hogy a burstaktivitásért felelős áramok rendszere úgynevezett „elliptic burster” rendszert alkosson. Elképzelhető tehát, hogy a szeptális theta-generáció egy glutamáterg sejtekből álló maghálózatban zajlik. A glutamáterg maghálózat fáziseloszlása ilyenkor monopoláris, és az itt bemutatotthoz hasonló, de a gyorstüzelő GABAerg sejtekből álló hálózat ennek a lokális glutamáterg hálózatnak a rit-

musát veszi át, és vetíti a hippokampuszba.

A theta oszcilláció alapját képező ionáramok

Szeptális egysejtmodellemben csak a theta frekvenciás burstök generálásához elengedhetetlenül szükséges áramokat építettem be, noha tudom, hogy ezek a sejtek a valóságban ennél sokkal többféle ioncsatornát expresszálnak. Úgy gondolom azonban, hogy további áramok beépítése, bár komplexebb tüzelési mintázatok megjelenését tenné lehetővé, a ritmus kialakulását csak kevésbé befolyásolná, és a jelenségek értelmezését megnehezítené. (Modellem matematikai szempontból így is „túl bonyolult”: felfogható egy 5 dimenziós differenciálegyenlet-rendszerként, ám az ilyen típusú burst-viselkedés leírására 3 dimenzió elegendő volna (Izhikevich, 2001))

A modell szempontjából kívánatos volna az I_{KS} áram meglétét citológiai (PCR, immuncitokémia) valamint további neurofiziológiai adatokkal is alátámasztani. Mivel a szeptális GABAerg sejtek szeletben mutatott aktivitása (Sotty és mtsai, 2002) nagymértékben eltér az *in vivo* theta alatt mért aktivitástól (King és mtsai, 1998), azt gondolom, hogy a sejtek *in vivo* tüzelési mintázataihoz a szeptum kapcsolatainak (agytörzsi felszálló pályák) intaktsága szükséges. Az I_{KS} áram tényleges szerepére így *in vivo* elektrofiziológiai (path-clamp) módszerekkel lehetne következtetni.

Kísérletek utalnak a modellünkben nem szereplő, hiperpolarizáció aktiválta kation áram (I_H áram) szerepére a szeptális theta ritmus generálásában. (Kocsis és Li, 2004; Sotty és mtsai, 2002) Ennek az áramnak azonban aktivációja a szeptumban meglehetősen lassú, és csak nagy negatív membránpotenciálértékeknél következik be. A HCN2 alegységet tartalmazó csatorna aktivációs paraméterei összefüggést mutatnak az intracelluláris cAMP koncentrációval (Robinson és Siegelbaum, 2003). Közvetlen adatok a H-csatornák aktivációs paramétereiről a mediális szeptum sejtjein csak egéren elérhetőek (Morris és mtsai, 2004): aktivációjának időállandója $\tau = 220$ ms, félaktivációja pedig $E_h = -98$ mV-nál következik be. Egér mediális szeptumában azonban nincs jelen a HCN2 alegység, ezért egyik paraméter sem mutat összefüggést az intracelluláris cAMP koncentrációval.

Kocsis Bernát és Shaomin Li kísérleteiben (Kocsis és Li, 2004) az I_H áram blokkolásakor a theta ritmus nem tűnt el, de frekvenciája csökkent. Ellentétes irányú frekvenciaváltozást tapasztaltak adenilát-cikláz stimulálásakor. Úgy tűnik tehát, hogy az I_H áram nem a ritmus létrejöttében,

hanem a frekvencia szabályozásában játszik szerepet. Ezt a hipotézist modellelmen kipróbáltam. A H-áram konduktanciától és félaktivációs értékétől függően befolyásolta a sejtek tüzelési frekvenciáját, ez azonban a serkentőáram nagyságától is jelentős mértékben függött. Az eredményeket dolgozatomban azért nem mutattam be, mert a munka java része és a matematikai részletek tisztázása még hátra van.

GABAerg szinapszisok szerepe a szinkronizációban

Ha a szinkronizáció GABAerg szinapszisokon keresztül zajlik, a szinapszisok blokkolása deszinkronizációhoz vezet. Ezenfelül, minthogy kikapcsolja a hálózat „zajszűrő” mechanizmusait (5.1.1. fejezet), az egyes sejtek is veszíthetnek periodicitásukból. A kísérletek csakugyan ilyen eredményekről számolnak be (Garner és mtsai, 2005). Varga Viktor (szóbeli közlés) szerint bikukullin intraszeptális adminisztrációja során a hippocampális theta eltűnik, és a szeptális sejtek periodicitása csökken. Brazhnik és Fox (1999) mérései során picrotoxin hatására csak a kolinerg sejtek periodicitása vész el, a GABAerg sejteké megmarad.

A szinkronizáció alapja: az anatómiai kapcsolatok

A modell állításai azonban nem feltétlenül kapcsolódnak a lassú kálium áram meglétéhez. Az áram szerepe annyi, hogy az egyedi sejtek theta frekvenciában modulált aktivitást mutassanak. Amennyiben a sejtek ezt mégsem, vagy nem kizárólag az I_{KS} segítségével teszik, úgy megfelelő kapcsolatrendszer mellett a hálózat viselkedése hasonló marad. A modell verifikálásához ezért a szeptum GABAerg sejtjei közötti kapcsolatok feltérképezése elengedhetetlen.

A sejtek extraszeptális kapcsolatainak vizsgálata már folyamatban van (Makó és mtsai, 2004; Gulyás és mtsai, 2004), és ez alapján úgy tűnik, hogy a szeptum sejtjeinek kapcsolatrendszere nem véletlenszerű. Az egyes sejtek különféle hippocampális interneuronokat eltérő mértékben idegeznek be. Az intraszeptális kapcsolatok feltérképezése, mivel az itt található GABAerg sejtek eddigi ismereteink szerint immuncitokémiailag egységesek, csak neurofiziológiai és anatómiai módszerek kombinálásával volna megoldható. Vizsgálni kellene, hogy a hippocampális theta-hoz képest azonos fázisban tüzelő sejtek közti szinaptikus kapcsolatok száma különbözik-e az ellentétes fázisú sejteken létesített szinapszisok számától. Meg kellene vizsgálni azt is, hogy a különböző fázisú sejtek posztszinaptikus kapcsolatai a szeptumon belül is eltérőek-e. Ehhez

altatott patkányok szeptumából kellene egyszerre két vagy több sejtől intracellulárisan elvezetni, meghatározni a sejt hippocampális theta-hoz viszonyított fázisát. Ezután a két sejtet eltérő festékekkel kell megfesteni, és így vizsgálni a szinaptikus kapcsolataikat. Amennyiben a szeptális sejtek kapcsolataik tekintetében nem oszthatók két populációra, úgy a theta oszcilláció alapjául más mechanizmust kell keresni.

Bimodális fáziseloszlás

Borhegyi és mtsai csak a PV immunreaktivitást mutató sejtekről állították, hogy fáziseloszlásuk bimodális. Ezek a sejtek azok, amelyekről biztosan lehet tudni, hogy GABAergek, és a hippocampusba vetítenek (Freund, 1989). Mások másféle jellemzők alapján csoportosították a mediális szeptum theta-csatolt sejtjeit, így Brazhnik és Fox (1999) a „brief spike” (GABA?) és a „long spike” (acetilkolin) sejtek tüzelését találta antifázisosnak. King és mtsai (1998) az összes ritmusos sejtre mond egyenletes fáziseloszlást. A fázis szempontjából döntő, hogy hogyan osztályozzuk a szeptális sejteket.

A kérdés eldöntése érdekében fontos volna több szeptális sejtől szimultán elvezetést alkalmazni. Ilyet pl. Stewart és Fox 1989-ben megjelent cikkében látni. Ők extracellulárisan vezettek el 13 sejt párból, melyek egymáshoz fáziscsatoltan, theta periodikusan tüzeltek. Sajnos ebben a tanulmányban nem esik szó az egyes sejtek hippocampuszhoz viszonyított fázisáról. Érdekes volna olyan sejtekből elvezetni (akár a szeptális theta egy *in vitro* modelljében, mint Garner és mtsai 2005-ben) melyek egymást beidegzik. Így vizsgálni lehetne a sejtek közötti kapcsolatok erősségét, és a sejtek egymáshoz viszonyított fázisát.

Különböző tüzelési ráták

A modellben olyan sejtekkel dolgoztam, melyeknek burst-frekvenciája alig változott a serkentőáram nagyságával, míg a tüzelési ráta erősen függött ettől a paramétertől. Ez a tulajdonság, ami az „elliptic burster” sejtek jellegzetessége (Izhikevich, 2001), teszi lehetővé, hogy egy hálózatban egyszerre legyenek jelen különféle tüzelési frekvenciájú sejtek is, miként azt a kísérleti adatok többségében látjuk.

6.2. Droghatások modellezése

Zolpidem: mit értünk közvetett hatás alatt?

Bizonyított, hogy a benzodiazepinek mediális szeptumba történő lokális adminisztrációja csökkenti az acetilkolin hippokampális felszabadulását (Moor és mtsai, 1998). A kolinerg sejtek membránján azonban csak α_3 alegységet tartalmazó GABA_A receptorok vannak (Gao és mtsai, 1995), így az α_1 -szelektív zolpidem ezeken a sejteken hatástalan. Modellem mégis azt jósolja, hogy a szeptális sejtek csökkent tüzelési rátáját nem magyarázza pusztán a GABAerg sejtek közötti szinapszisok modulálása. Milyen következtetést vonhatok le ebből? Azt hiszem négy-félét: 1, lehetséges, hogy a serkentés csökkenése nem a kolinerg rendszeren keresztül, hanem más neurotranszmittereken keresztül (noradrenalin, szerotonin) valósul meg; 2, a kolinerg sejtek aktivitása a zolpidem hatására közvetett módon csökken; 3, a bezodiazepinek hatását nem lehet csak a konduktancia megnövelésével modellezni: az időállóan bekövetkező változás legalább olyan fontos, mint az amplitúdó megváltozása; 4, el kell vetni, vagy ki kell bővíteni az egysejtmodellt (valószínű ugyanis, hogy az egysejtmodell tulajdonságai felelősek azért, hogy pusztán a szinaptikus áramok nem tudják kellően alacsony tüzelési frekvenciára készíteni). Fontos volna a drog lokális (intra-szeptális) hatását további mérésekkel elkülöníteni a globális neurofiziológiai hatásoktól.

L-838: a hippokampo–szeptális sejtek

A hippokampo–szeptális sejtekről igen kevés adatunk van. Ismert ugyan, hogy a hippokampális piramis sejtektől axonkollaterálisokat kapnak (Blasco-Ibanez és Freund, 1995), ám nem sokat tudunk ennek fiziológiai jelentőségéről. Vajon a sejtek tényleg a piramis sejtek szinkronitását detektálják, ahogy Freund és Buzsáki (1996) írja? Theta alatt periodikusan tüzelnek, mint az OLM sejtek (Klausberger és mtsai, 2002), vagy theta on, de aperiodikus sejtek: olyanok, amilyeneket Czurkó és mtsai (2005) látott a hippokampális stratum oriensben?

A hipotézist, hogy az L-838,417 hatását a szeptumra a hippokampusz közvetíti, lokális (hippokampális) drog beadásos kísérletekkel lehetne ellenőrizni. Modellünk alapján annyit mondhatunk, hogy mennyiben ez a hipotézis igaz, a hippokampo–szeptális sejtek tüzelésében jelentős változás kell, hogy végbemenjen a drog hatására. A hippokampo–szeptális sejtek az α_2 re-

ceptorokat expresszázó piramissejtekkel közvetlen kapcsolatban vannak, így az elvi lehetőség megvan arra, hogy ez a változás valóban megtörténjen.

A szeptumot beidegző neuromodulációs központok közül egyedül a noradrenerg Locus Coeruleus sejtei expresszáznak α_2 alegységet tartalmazó GABA_A receptorokat (Rodriguez-Pallares és mtsai, 2001). Ha valóban megváltoztatja az L-838,417 a noradrenerg rendszer aktivitását, akkor noradrenalin metabotróp receptorokon keresztül módosíthatja a szeptális és a hippokampális sejtaktivitásokat.

6.2.1. Számítógépes neurofarmakológia?

Nagyon szoros kapcsolat van az agykéregi neurotranszmitter-szint (acetilkolin, monoaminok) a talamokortikális oszcillációk valamint a tudatállapotok (ébredés - REM - NREM) között (Bódisz, 2003). Az agytörzsi kolinerg és monoaminerg sejtek befolyásolják a talamikus relésejteket (Sherman, 2001) és az agykéregi piramissejtek (McCormick és Williamson, 1989) tüzelési módját, így átkapcsolhatnak a talamikortikális oszcillátorhálózat „zárt” (belső dinamika által dominált) és „nyitott” (szenzoros információfeldolgozás) állapota között. A két működési mód megfelel az éber és a NREM állapotnak.

A neurotranszmitter-rendszerek egy-egy központi idegrendszeri területre lokalizálódó működészavarai neuropszichológiai megbetegedésekhez vezethetnek. Ismert, hogy fontos szerepet tölt be a dopamin a skizofrénia megbetegedésekben, a monoaminok zavaraihoz pedig a kedélybetegségek kötődnek. A kapcsolat sokszor azon a megfigyelésen alapul, hogy az egyes betegségek során valamelyik neurotranszmitter szintje megváltozik az adott agyterületen, vagy hogy egy agonista-antagonista jó hatással van a páciensekre. A pontos hatásmechanizmusa az egyes vegyületeknek legtöbbször nem ismert. Hasonlóan azonban ahhoz, ahogy ezek a neurotranszmitterek a talamikortikális rendszer működését szabályozzák, lokális hálózatokon is kifejthetnek reguláló hatást. Érdeemes volna ezért részletesen megismerni a neurotranszmitterek egyes sejtekre, kisebb hálózatokra kifejtett elektrofiziológiai hatását.

A szorongáskutatás egyik központi területe a szepto-hippokampális rendszer. A szorongásoldó gyógyszerek mind befolyásolják a szepto-hippokampális rendszer jellemző oszcillációs mintázatát, a theta ritmus szubkortikális kontrollját (McNaughton és Gray, 2000). A különböző gyógyszerek sejt szintű hatásainak felderítése után a számítógépes agykutatás egyik jövőbeli

feladata lehet értelmezni a gyógyszerek lokális sejthálózatokra kifejtet dinamikus hatását (Érdi, 2004).

A továbbiakban azt tervezzük, hogy a modellt kiegészítjük a hippocampális interneuronokból és piramissejtekből álló hálózattal, így segítségével hippocampális rendszer viselkedését is leírhatjuk. Egy korábbi munkájában (Hajós és mtsai, 2004) Orbán Gergő és Kiss Tamás már épített egy hasonló rendszert. A modell különféle hippocampális interneuronokból és piramissejtekből állt, a szerzők itt intra-hippocampális eredetű theta oszcillációval dolgoztak. Az általuk javasolt mechanizmus erősítőként, rezonátorként szolgálhat az extrahippocampális eredetű oszcillációk számára. A kibővített modell magyarázatot nyújthat arra, hogy különféle beavatkozások (drogkezelések, léziók) milyen úton hatnak a szepto–hippocampális rendszerre, valamint segíti további kísérletek tervezését. Továbbá szeretnénk a farmakológiai modulátorok hatását részletesen is figyelembe venni. Ehhez a receptor-ligand kölcsönhatások részletes kinetikai modellezésére van szükség. Ilyen részletes kinetikai modellekkel lehet megmutatni, hogy az ioncsatornák különböző allosztérikus kötőhelyeinek modulációja eltérően hat a hálózat szinkronizációjára (Baker és mtsai, 2002), noha az egyedi IPSPket egyformán módosítja.

Következtetések

A dolgozat legfontosabb tudományos megállapításai a következők:

- A szeptális GABAerg sejtek theta periodikus burstjei megfelelő hálózatban szinkronizálódni képesek. Ez a szinkronizáció kellően robusztus ahhoz, hogy a fiziológiás theta ritmus alapját képezze.
- A modellben megjelenő theta oszcilláció hasonlít a kísérletek során mérthez, mert
 - az egyes sejtek theta periodikus burst-aktivitást mutatnak
 - az egyes sejtek tüzelési rátája a kísérletekben mért értékekhez hasonló
 - a hálózatban egyszerre különböző tüzelési rátájú sejtek is jelen lehetnek
 - a sejtek tüzelési fáziseloszlása bimodális
- A zolpidem közvetett hatását hasonló súllyal kell figyelembe venni a kísérleti eredmények értelmezésekor, mint a közvetlen hatást, ugyanakkor a közvetett hatás pontos neurokémiai okai diszkusszióra szorulnak.
- Az L-838,417 szeptumon látott hatását csak akkor okozhatja a hippocampo-szeptális projekció, ha a szeptumba vetítő sejtek periodicitása a drog hatására erősen lecsökken.

Köszönetnyilvánítás

Köszönettel tartozom:

- Mindenekelőtt témavezetőimnek: dr. Érdi Péternek, Orbán Gergőnek és dr. Kiss Tamásnak türelmükért, segítségükért, humorukért.
- A labornak a csodás légkörért, mellyel sokszor megkönnyítették a munkát.
- A Kalamazoo College-nak, az ott töltött eredményes napokért és felejthetetlen élményekért. Érdi Péternek (és rajta keresztül a Henry Luce foundationnak) a Kalamazoo Collegeban töltött munkáért és emberi támogatásáért.
- A Pfizernek, konkrétan dr. Hajós Mihálynak, hogy együtt dolgozhattam vele.

A kutatócsoport munkáját a Henry Luce Foundation és a Pfizer Corporation támogatta.

Irodalomjegyzék

- Ali AB, Thomson AM. 1998. Facilitating pyramid to horizontal oriens-alveus interneurone inputs: dual intracellular recordings in slices of rat hippocampus. *J Physiol* 15(507):185–99.
- Alonso A, Khateb A, Fort P, Jones BE, Muhlethaler M. 1996. Differential oscillatory properties of cholinergic and noncholinergic nucleus basalis neurons in guinea pig brain slice. *Eur J Neurosci* 8(1):169–82.
- Alonso A, Kohler C. 1982. Evidence for separate projections of hippocampal pyramidal and non-pyramidal neurons to different parts of the septum in the rat brain. *Neurosci Lett* 31:209–14.
- Aradi I, Maccaferri G. 2004. Cell type-specific synaptic dynamics of synchronized bursting in the juvenile CA3 rat hippocampus. *J Neurosci* 24(43):9681–92.
- Baker P, Pennefather P, Orser B, Skinner F. 2002. Disruption of coherent oscillations in inhibitory networks with anesthetics: role of GABA(A) receptor desensitization. *J Neurophysiol* 88(5):2821–33.
- Bland BH, Colom LV. 1993. Extrinsic and intrinsic properties underlying oscillation and synchrony in limbic cortex. *Prog Neurobiol* 41:157–208.
- Bland BH, Oddie SD, Colom LV. 1999. Mechanisms of neural synchrony in the septohippocampal pathways underlying hippocampal theta generation. *J Neurosci* 19(8):3223–37.
- Blasco-Ibanez JM, Freund TF. 1995. Synaptic input of horizontal interneurons in stratum oriens of the hippocampal CA1 subfield: structural basis of feed-back activation. *Eur J Neurosci* 7:2170–80.
- Bódizs R. 2003. Az alvás és jelenségköre. In: Pléh C, Kovács G, Gulyás B (ed.), *Kognitív idegtudomány*, Osiris kiadó, Budapest.

- Bódizs R, Kántor S, Szabó G, Szűcs A, Erőss L, Halász P. 2001. Rhythmic hippocampal slow oscillation characterizes REM sleep in humans. *Hippocampus* 11:747–753.
- Borhegyi Z, Varga V, Szilágyi N, Fabó D, Freund T. 2004. Phase segregation of medial septal GABAergic neurons during hippocampal theta activity. *J of Neuroscience* 24(39):8470–79.
- Borisjuk R, Hoppensteadt F. 1999. Oscillatory models of the hippocampus: a study of spatio-temporal patterns of neural activity. *Biol Cybern* 81(4):359–71.
- Bower J, Beeman D. 1998. *The Book of GENESIS: Exploring Realistic Neural Models with the GEneral NEural SIMulation System*. Springer–Verlag, 2. kiadás.
- Bragin A, Jandó G, Nádasdy Z, Hetke J, Wise K, Buzsáki G. 1995. 40–100 Hz oscillation in the hippocampus of the behaving rat. *J Neurosci* 15:47–60.
- Brauer K, Seeger G, Hartig W, Rossner S, Poethke R, Kacza J, Bruckner RSG, Bigl V. 1998. Electron microscopic evidence for a cholinergic innervation of GABAergic parvalbumin-immunoreactive neurons in the rat medial septum. *J Neurosci Res* 54:248–53.
- Brazhnik E, Fox S. 1997. Intracellular recordings from medial septal neurons during hippocampal theta rhythm. *Exp Brain Res* 114:442–53.
- Brazhnik E, Fox S. 1999. Action potentials and relations to the theta rhythm of medial septal neurons in vivo. *Exp Brain Res* 127:244–58.
- Bullock TH, Buzsáki G, McClune MC. 1990. Coherence of compound field potentials reveals discontinuities in the CA1-subiculum of the hippocampus in freely-moving rats. *Neuroscience* 38:609–19.
- Buzsáki G. 2002. Theta oscillations in the hippocampus. *Neuron* 33:325–340.
- Buzsáki G, Eidelberg E. 1983. Phase relations of hippocampal projection cells and interneurons to theta activity in the anesthetized rat. *Brain Res* 266:334–9.
- Buzsáki G, Horváth Z, Urioste R, Hetke J, Wise K. 1992. High-frequency network oscillation in the hippocampus. *Science* 256:1025–1027.
- Chapman CA, Lacaille JC. 1999. Cholinergic induction of theta-frequency oscillations in hippocampal inhibitory interneurons and pacing of pyramidal cell firing. *J Neurosci* 19:8637–8645.

- Cole A, Nicoll R. 1984. Characterization of a slow cholinergic post-synaptic potential recorded in vitro from rat hippocampal pyramidal cells. *J Physiol* 352:173–88.
- Csicsvári J, Hirase H, Czurkó A, Mamiya A, Buzsáki G. 1999. Oscillatory coupling of hippocampal pyramidal cells and interneurons in the behaving rat. *J Neurosci* 19:274–87.
- Czurkó A, Huxter J, Tóth A, Müller R. 2005. Identification of interneuron types and probable dentate granule cells in extracellular multiunit recordings from the dorsal hippocampus of behaving rats. *Magyar Idegtudományi Szemle Clinical Neuroscience klnszm MITT, Pécs*.
- Dayan P, Abbott L. 2001. *Theoretical Neuroscience: Computational and Mathematical Modeling of Neural Systems*, MIT Press, ch. 1. Neural encoding: Firing rates and spike statistics.
- Degroot A, Treit D. 2003. Septal GABAergic and hippocampal cholinergic systems interact in the modulation of anxiety. *Neuroscience* 117:493–501.
- Degroot A, Treit D. 2004. Anxiety is functionally segregated within the septo-hippocampal system. *Brain Res* 1001:60–71.
- DiPrisco G, Albo Z, Vertes R, Kocsis B. 2002. Discharge properties of neurons of the median raphe nucleus during hippocampal theta rhythm in the rat. *Exp BrainRes* 145:383–94.
- Dragoi G, Carpi D, Recce M, Csicsvári J, Buzsáki G. 1999. Interactions between hippocampus and medial septum during sharp waves and theta oscillation in the behaving rat. *J Neurosci* 19:6191.
- Érdi P. 2004. Towards a computational neuropharmacology. In: *8th Tamagawa Dynamic Brain Forum, DBF*. Ribeirao Preto, Brazil., p. 35.
- Freund T. 2003. Interneuron diversity series: Rhythm and mood in perisomatic inhibition. *Trends Neurosci* 26:489–95.
- Freund TF. 1989. GABAergic septohippocampal neurons contain parvalbumin. *Brain Res* 478:375–81.
- Freund TF, Antal M. 1988. GABA-containing neurons in the septum control inhibitory interneurons in the hippocampus. *Nature* 336:170–173.
- Freund TF, Buzsáki G. 1996. Interneurons of the hippocampus. *Hippocampus* 6:347–470.

- Frotscher M, Leranath C. 1985. Cholinergic innervation of the rat hippocampus as revealed by choline acetyltransferase immunocytochemistry: a combined light and electron microscopic study. *J Comp Neurol* 239:237–46.
- Gao B, Hornung J, Fritschy J. 1995. Identification of distinct GABA-A-receptor subtypes in cholinergic and parvalbumin-positive neurons of the rat and marmoset medial septum-diagonal band complex. *Neuroscience* 65:101–17.
- Garner HL, Whittington MA, Henderson Z. 2005. Induction by kainate of theta frequency rhythmic activity in the rat medial septum-diagonal band complex in vitro. *J Physiol* 564:83–102.
- Gillies MJ, Traub RD, LeBeau FEN, Davies CH, Gloveli T, Buhl EH, Whittington MA. 2002. A model of atropine-resistant theta oscillations in rat hippocampal area CA1. *J Physiol* 543:779–793.
- Gray J, McNaughton N. 2003. *The Neuropsychology of Anxiety*. Oxford University Press.
- Green JD, Arduini A A. 1954. Hippocampal electrical activity in arousal. *J Neurophysiol* 17:533–557.
- Gulyás AI, Makó A, Freund TF. 2004. Individual septo-hippocampal fibers may innervate functionally different hippocampal interneuron types. In: *Society for neuroscience, Abstract*.
- Hajós M, Hoffmann WE, Orbán G, Kiss T, Érdi P. 2004. Modulation of septo-hippocampal theta activity by GABA-A receptors: an experimental and computational approach. *Neuroscience* 126(3):599–610.
- Hajszan T, Alreja M, Leranath C. 2004. Intrinsic vesicular glutamate transporter 2-immunoreactive input to septohippocampal parvalbumin-containing neurons: novel glutamatergic local circuit cells. *Hippocampus* 14:499–509.
- Hasselmo ME. 1999. Neuromodulation: acetylcholine and memory consolidation. *Trends Cogn Sci* 3:351–359.
- Henderson Z, Fiddler G, S. Saha AB, Halasy K. 2004. A parvalbumin-containing, axosomatic synaptic network in the rat medial septum: relevance to rhythmogenesis. *Eur J Neurosci* 19:2753–98.

- Hájos N, Nusser Z, Rancz E, Freund T, Mody I. 2000. Cell type- and synapse-specific variability in synaptic GABA-A receptor occupancy. *Eur J Neurosci* 12:810–18.
- Hodgkin AL, Huxley AF. 1952. A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. *J Physiol* 117:500–544.
- Hounsgaard J. 1978. Presynaptic inhibitory action of acetylcholine in area CA1 of the hippocampus. *Exp Neurol* 62:787–797.
- Imperato A, Dazzi L, Obinu M, Gessa G, Biggio G. 1994. The benzodiazepine receptor antagonist flumazenil increases acetylcholine release in rat hippocampus. *Brain Res* 647:167–71.
- Izhikevich E. 2001. Synchronization of elliptic bursters. *SIAM review* 43:315–44.
- Jonas P, Bischofberger J, Fricker D, Miles R. 2004. Interneuron diversity series: Fast in, fast out—temporal and spatial signal processing in hippocampal interneurons. *Trends Neurosci* 27(1):30–40.
- Jouvet M. 1969. Biogenic amines and the states of sleep. *Science* 163:32–41.
- Juhász-Nagy P. 1983. Beszélgetések az ökológiáról. Mezőgazdasági kiadó.
- Kahana MJ, Seelig D, Madsen JR. 2001. Theta returns. *Curr Opin Neurobiol* 11:739–44.
- Kay L. 2005. Theta oscillations and sensorimotor performance. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102:3863–8.
- King C, Recce M, O'Keefe J. 1998. The rhythmicity of cells of the medial septum/diagonal band of Broca in the awake freely moving rat: relationships with behaviour and hippocampal theta. *European Journal of Neuroscience* 10:464–477.
- Klausberger T, Magill PJ, Márton LF, Roberts JDB, Cobden PM, Buzsáki G, Somogyi P. 2003. Brain-state- and cell-type-specific firing of hippocampal interneurons in vivo. *Nature* 421:844–8.
- Klausberger T, Roberts J, Somogyi P. 2002. Cell type- and input-specific differences in the number and subtypes of synaptic GABA-A receptors in the hippocampus. *J Neurosci* 22:2513–21.
- Kocsis B, Bragin A, Buzsáki G. 1999. Interdependence of multiple theta generators in the hippocampus: a partial coherence analysis. *J Neurosci* 19:6200–212.

- Kocsis B, Li S. 2004. In vivo contribution of h-channels in the septal pacemaker to theta rhythm generation. *Eur J Neurosci* 20(8):2149–58.
- Lacaille JC, Mueller AL, Kunkel DD, Schwartzkroin PA. 1987. Local circuit interactions between oriens/alveus interneurons and CA1 pyramidal cells in hippocampal slices: electrophysiology and morphology. *J Neurosci* 7:1979–93.
- Lacaille JC, Williams S. 1990. Membrane properties of interneurons in stratum oriens-alveus of the CA1 region of rat hippocampus in vitro. *Neuroscience* 36(2):349–59.
- Levey A, Edmunds S, Koliatsos V, Wiley R, Heilman C. 1995. Expression of m1-m4 muscarinic acetylcholine receptor proteins in rat hippocampus and regulation by cholinergic innervation. *J Neurosci* 15:4077–92.
- Low K, Crestani F, Keist R, Benke D, Brunig I, Benson J, Fritschy J, Rulicke T, Bluethmann H, Mohler H, Rudolph U. 2000. Molecular and neuronal substrate for the selective attenuation of anxiety. *Science* 290:131–4.
- Maccaferri G. 2005. Stratum oriens horizontal interneurone diversity and hippocampal network dynamics. *J Physiol* 562:73–80.
- Maccaferri G, McBain CJ. 1996. The hyperpolarization-activated current (I_h) and its contribution to pacemaker activity in rat CA1 hippocampal stratum oriens-alveus interneurons. *J Physiol* 497:119–30.
- Makó A, Gulyás AI, Frund TF. 2004. A szeptohippokampális pálya azonosított axonjainak célelem szelektivitásának vizsgálata. Kari TDK elads .
- McCormick D, Williamson A. 1989. Convergence and divergence of neurotransmitter action in human cerebral cortex. *Proc Natl Acad Sci* 86:8098–102.
- McNaughton N, Gray J. 2000. Anxiolytic action on the behavioural inhibition system implies multiple types of arousal contribute to anxiety. *J Affect Disord* 61:161–76.
- Mitchell SJ, Rawlins JN, Steward O, Olton DS. 1982. Medial septal area lesions disrupt theta rhythm and cholinergic staining in medial entorhinal cortex and produce impaired radial arm maze behavior in rats. *J Neurosci* 2(3):292–302.

- Mitzdorf U. 1985. Current source-density method and application in cat cerebral cortex: investigation of evoked potentials and EEG phenomena. *Physiol Rev* 65(1):37–100.
- Mizumori SJ, Barnes CA, McNaughton BL. 1990. Behavioral correlates of theta-on and theta-off cells recorded from hippocampal formation of mature young and aged rats. *Exp Brain Res* 80:365–73.
- Mody I, DeKoninck Y, Otis T, Soltesz I. 1994. Bridging the cleft at GABA synapses in the brain. *Trends Neurosci* 17:517–25.
- Mohler H, Fritschy J, Rudolph U. 2002. A new benzodiazepine pharmacology. *J Pharmacol Exp Ther* 300:2–8.
- Moor E, DeBoer P, Westerink B. 1998. GABA receptors and benzodiazepine binding sites modulate hippocampal acetylcholine release in vivo. *Eur J Pharmacol* 359:119–26.
- Morris NP, Fyffe RE, Robertson B. 2004. Characterisation of hyperpolarization-activated currents (I_h) in the medial septum/diagonal band complex in the mouse. *Brain Res* 1006(1):74–86.
- Nusser Z, Sieghart W, Benke D, Fritschy J, Somogyi P. 1996. Differential synaptic localization of two major gamma-aminobutyric acid type A receptor alpha subunits on hippocampal pyramidal cells. *PNAS* 93:11939–44.
- Nyíri G, Freund T, Somogyi P. 2001. Input-dependent synaptic targeting of alpha(2)-subunit-containing GABA(A) receptors in synapses of hippocampal pyramidal cells of the rat. *Eur J Neurosci* 13:428–42.
- Perrais D, Ropert N. 1999. Effect of zolpidem on miniature IPSCs and occupancy of postsynaptic GABA-A receptors in central synapses. *J Neurosci* 19:578–88.
- Petsche H, Stumpf C, Gogolak G. 1962. The significance of the rabbit's septum as a relay station between the mid-brain and the hippocampus. I. The control of hippocampal arousal activity by the septum cells. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 14:202–211.
- Robinson R, Siegelbaum S. 2003. Hyperpolarization-activated cation currents: from molecules to physiological function. *Annu Rev Physiol* 65:453–80.

- Robinson TE. 1980. Hippocampal rhythmic slow activity (RSA; theta): a critical analysis of selected studies and discussion of possible species-differences. *Brain Res* 203:69–101.
- Rodriguez-Pallares J, Caruncho H, Lopez-Real A, Wojcik S, Guerra M, Labandeira-Garcia J. 2001. Rat brain cholinergic, dopaminergic, noradrenergic and serotonergic neurons express GABA_A receptors derived from the α_3 subunit. *Receptors Channels* 7:471–8.
- Rudolph U, Mohler H. 2004. Analysis of GABA-A receptor function and dissection of the pharmacology of benzodiazepines and general anesthetics through mouse genetics. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 44:475–98.
- Serafin M, Williams S, Khateb A, Fort P, Muhlethaler M. 1996. Rhythmic firing of medial septum non-cholinergic neurons. *Neuroscience* 75(3):671–5.
- Sherman S. 2001. Tonic and burst firing: dual modes of thalamocortical relay. *Trends Neurosci* 24:122–6.
- Skaggs WE, McNaughton BL, Wilson MA, Barnes CA. 1996. Theta phase precession in hippocampal neuronal populations and the compression of temporal sequences. *Hippocampus* 6:149–72.
- Sotty F, Danik M, Manseau F, R. Quirion S. 2002. Distinct electrophysiological properties of glutamatergic, cholinergic and GABAergic rat septohippocampal neurons: novel implications for hippocampal rhythmicity. *J Physiol* 551:927–943.
- Stewart M, Fox SE. 1989. Two populations of rhythmically bursting neurons in rat medial septum are revealed by atropine. *J Neurophysiol* 61:982–93.
- Stewart M, Fox SE. 1990. Do septal neurons pace the hippocampal theta rhythm? *Trends Neurosci* 13:163–8.
- Tóth K, Borhegyi Z, Freund TF. 1993. Postsynaptic targets of GABAergic hippocampal neurons in the medial septum-diagonal band of Broca complex. *J Neurosci* 13(9):3712–24.
- Tóth K, Freund TF. 1992. Calbindin D28k-containing nonpyramidal cells in the rat hippocampus: their immunoreactivity for GABA and projection to the medial septum. *Neuroscience* 49(4):793–805.

- Vanderwolf CH. 1969. Hippocampal electrical activity and voluntary movement in the rat. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 26:407–418.
- Vértes RP, Kocsis B. 1997. Brainstem-diencephalo-septohippocampal systems controlling the theta rhythm of the hippocampus. *Neuroscience* 81:893–926.
- Világi I. 2003. *Neurokémia*. Dialóg Campus Kiadó, Budapest-Pécs.
- Vinogradova OS. 1995. Expression, control, and probable functional significance of the neuronal theta-rhythm. *Prog Neurobiol* 45(6):523–583.
- Wang XJ. 2002. Pacemaker neurons for the theta rhythm and their synchronization in the septohippocampal reciprocal loop. *J Neurophysiol* 87:889–900.
- Wang XJ, Buzsáki G. 1996. Gamma oscillation by synaptic inhibition in a hippocampal interneuron network model. *J Neurosci* 16:6402–6413.
- White JA, Banks MI, Pearce RA, Kopell NJ. 2000. Networks of interneurons with fast and slow γ -aminobutyric acid type a (GABA_A) kinetics provide substrate for mixed gamma-theta rhythm. *Proc Natl Acad Sci USA* 97:8128–8133.
- Williams JH, Kauer JA. 1997. Properties of carbachol-induced oscillatory activity in rat hippocampus. *J Neurophysiol* 78:2631–2640.
- Yoder RM, Pang KC. 2005. Involvement of GABAergic and cholinergic medial septal neurons in hippocampal theta rhythm. *Hippocampus* 15:381–92.

Melléklet

7.1. A szimulációk főbb scriptjei GENESIS nyelven

7.2.1. A „master” script

Meghívja a sejtmodelleket, kialakítja a hálózatot és lefuttatja a szimulációt, majd elmenti az adatokat.

```
//genesis
include /home/ubi/hippo/theta/Global/global.g
include /home/ubi/hippo/theta/ms_GABA/prot_msggaba.g
include /home/ubi/hippo/theta/Global/synapses.g
include /home/ubi/hippo/theta/Global/output.g
include /home/ubi/hippo/Modell/Model_4Hz/Model_0/sim_olm.g

//Temporarily
float aramoffset=35e-12
float szoras = 35e-12/6
float skala = 0.4 // 0.5-1.5: sum:2-6
float zolp=1

float N_msg=80
float sim_time = 10

sp="Model_K"

//*****
//Generating the neurons from prototypes

create funcgen /zajgen
setfield /zajgen mode 3 amplitude {aramoffset}

copy /prot_msggaba /int_msg[1] -repeat {N_msg}
copy /zajgen /zaj[1] -repeat {N_msg}
disable /prot_msggaba

for (i=1; i<={N_msg}; i=i+1)
  addmsg /zaj[{i}] int_msg[{i}]/soma INJECT output
  setrandfield int_msg[{i}]/soma initVm -gaussian -0.062 0.005
end

float dt3 = 0.005
setclock 2 {dt3}

function update
  for (i=1; i<={N_msg}; i=i+1)
    setrandfield /zaj[{i}] amplitude -gaussian {aramoffset} {szoras}
  end
end

create script_out /noise
setfield /noise command "update"
```

```

useclock /noise 2

//*****
//Creating the network

create table /MS_matr
file2tab kapcs2.dat /MS_matr table

float i,j
float conn_strength
float conn_num

for (i=1; i<=80; i=i+1)
for (j=1; j<=80; j=j+1)

conn_num=((i-1)*80)+j-1

conn_strength = {getfield MS_matr table->table[{conn_num}]}*{zolp}
if ({conn_strength}!=0)
conn_msg2msg {i} {j} {conn_strength}
end

end
end

create table /O2MS_matr
file2tab konn.dat /O2MS_matr table
float i,j
float conn_strength
float conn_num

for (i=1; i<=40; i=i+1)
for (j=41; j<=80; j=j+1)

conn_num=((i-1)*40)+(j-41))

conn_strength = {getfield O2MS_matr table->table[{conn_num}]}*{zolp}*{skala}
if ({conn_strength}!=0)
conn_olm2msg {i} {j} {conn_strength}
end

end
end

//*****
//Data storage
reset
reset

ce /

delete /prot_msgaba

spike_rec_setup {sim_time} 3 msg 80
spike_rec_setup {sim_time} 3 olm 40

reset

step {sim_time} -t
spike_rec_save {sp}

```

7.2.2. Globális paraméterek

```

//genesis

/*****This script sets global parameters
*****/

int      i //generally used for cycles
float    seed //randomizing kernel
seed = {randseed}

```

```

//***** Integration time (at least for interneurons)
float dt = 1e-5
setclock 0 {dt}

//*****Data collection time
float dt2 = 5e-4
setclock 1 {dt2}

//*****Noise time
/*float dt3 = 0.05
setclock 2 {dt3}
*/
str gp, pp, sp

//*****Size of cell populations
int N_olm = 40
int N_msg = 80

gp = "/data/ubi/alfaxxx/simulations/"
pp = "W_septal/Model/Model_4Hz/"

float vres = 79
float vmin = -0.15
float vmax = 0.075

```

7.2.3. A mediális szeptum GABAerg sejtje

```

// Main script for MS-GABAergic Neuron from Wang paper
include /home/ubi/hippo/theta/ms_GABA/kons_msgaba.g

//***** steady state and time functions for slow potassium channel:
function p_inf (v)
    float v
    return { 1.0/(1.0 + {exp {-(v + 0.034)/0.0065}}) }
end

function p_tau (v)
    float v
    return { .006 }
end

function q_inf (v)
    float v
    return { 1.0/(1.0 + {exp {(v + 0.065)/0.0066}}) }
end

function q_tau (v)
    float v
    return { .1*(1.0 + 1.0/(1.0 + ({exp {-(v + 0.050)/0.0068}}))) }
end

//***** alpha and beta functions for slow potassium channel:
function p_alpha(v)
    float v
    return { {p_inf {v}} / {p_tau {v}} }
end

function p_beta(v)
    float v
    return { (1.0 - {p_inf {v}}) / {p_tau {v}} }
end

function q_alpha(v)
    float v

    return { {q_inf {v}} / {q_tau {v}} }
end

function q_beta(v)

```



```

        float v
        return { (1.0 - {q_inf {v}}) / {q_tau {v}} }
    end

    /***** alpha and beta functions for potassium channel
    function n_alpha (v)
        float v
        if(v==-.038)
            return { Phi * .1 }
        end
        return { Phi * (-10e3 * (v+.038)) / ({exp {-1e3*(v+.038)}}-1) }
    end

    function n_beta (v)
        float v
        return { Phi * 125 * ({exp {-(v + 0.048)/0.080}}) }
    end

    /***** alpha and beta functions for sodium channel
    function m_alpha (v)
        float v
        if(v==-.033)
            return 1
        end
        return { (-1e6 * (v+.033)) / ({exp {-1e3*(v+.033)}}-1) }
    end

    function m_beta (v)
        float v
        return { 4e3 * ({exp {-(v + 0.058)/0.018}}) }
    end

    function h_alpha (v)
        float v
        return { Phi * 70 * ({exp {-(v + 0.051)/0.010}}) }
    end

    function h_beta (v)
        float v
        return { Phi * 1e3 / ({exp {-1e3*(v+.021)}}+1) }
    end

    /*****
    ** adapted from Scripts/neurokit/prototypes/newbulbchan.g
    ** ^Non-inactivating Muscarinic K current
    **
    ** Tabulated Slow K Channel
    **
    *****/
    function make_KS_tab
        if ({exists KS_tab})
            return
        end

        int i
        float x, dx, t, b

        create tabchannel KS_tab
        setfield KS_tab Ek {EK_MSGABA} Gbar {120.0*SOMA_A_MSGABA} Ik 0 Gk 0 Xpower 1 \
            Ypower 1 Zpower 0

        call KS_tab TABCREATE X 79 -0.15 0.075
        call KS_tab TABCREATE Y 79 -0.15 0.075
        x = -0.15
        dx = 0.225/79.0

        for (i = 0; i <= 79; i = i + 1)
            setfield KS_tab X_A->table[{i}] {p_alpha {x}}
            setfield KS_tab X_B->table[{i}] {{p_alpha {x}} + {p_beta {x}}}
            setfield KS_tab Y_A->table[{i}] {q_alpha {x}}
            setfield KS_tab Y_B->table[{i}] {{q_alpha {x}} + {q_beta {x}}}
        end
    end

```

```

        x = x + dx
    end

    call KS_tab TABFILL X 3000 0
    call KS_tab TABFILL Y 3000 0
end

/*****
**  adapted from Scripts/neurokit/prototypes/newbulbchan.g
**      ^Non-inactivating Muscarinic K current
**
**      Tabulated K Channel
**
*****/
function make_K_tab
    if ({exists K_tab})
        return
    end

    int i
    float x, dx, t, b

    create tabchannel K_tab
    setfield K_tab Ek {EK_MSGABA} Gbar {80.0*SOMA_A_MSGABA} Ik 0 Gk 0 Xpower 4 \
        Ypower 0 Zpower 0

    call K_tab TABCREATE X 79 -0.15 0.075
    x = -0.15
    dx = 0.225/79.0

    for (i = 0; i <= 79; i = i + 1)
        setfield K_tab X_A->table[{i}] {n_alpha {x}}
        setfield K_tab X_B->table[{i}] {{n_alpha {x}} + {n_beta {x}}}
        x = x + dx
    end

    call K_tab TABFILL X 3000 0
end

/*****
**  adapted from Scripts/neurokit/prototypes/newbulbchan.g
**      ^Non-inactivating Muscarinic K current
**
**      Tabulated Na Channel
**
*****/
function make_Na_t
    if ({exists Na_t})
        return
    end

    create vdep_channel Na_t
    setfield ^ Ek {ENA_MSGABA} gbar {500.0 * SOMA_A_MSGABA}

    ce Na_t

    create table Na_minf
    call ^ TABCREATE 79 -0.15 0.075

    create tabgate Na_h
    call ^ TABCREATE alpha 79 -0.15 0.075
    call ^ TABCREATE beta 79 -0.15 0.075

    int i
    float x, dx, t, b
    x = -0.15
    dx = 0.225/79.0

    for (i = 0; i <= 79; i = i + 1)
        setfield Na_minf table->table[{i}] \
            { {m_alpha {x}} / ({m_alpha {x}} + {m_beta {x}}) }
    end

```

```

        setfield Na_h alpha->table[{i}] {h_alpha {x}}
        setfield Na_h beta->table[{i}] {h_beta {x}}

        x = x + dx
    end

    call Na_minf TABFILL 3000 0
    setfield Na_minf table->calc_mode 0
    call Na_h TABFILL alpha 3000 0
    setfield Na_h alpha->calc_mode 0
    call Na_h TABFILL beta 3000 0
    setfield Na_h beta->calc_mode 0

    addmsg Na_minf . MULTGATE output 3
    addmsg Na_h . MULTGATE m 1

    ce ..
end

//=====
//      Function Definitions
//=====

function makecompartment(path, length, dia, Erest)
    str path
    float length, dia, Erest
    float area = length*PI*dia
    float xarea = PI*dia*dia/4

    create      compartment      {path}
    setfield    {path}           \
        Em      { Erest }       \           // volts
        Rm      { RM_MSGABA / SOMA_A_MSGABA } \           // Ohms
        Cm      { CM_MSGABA * SOMA_A_MSGABA } \           // Farads
        Ra      { RA_MSGABA*length/xarea }           // Ohms
end

function step_tmax
    step {tmax} -time
end

function set_inject(dialog)
    str dialog
    setfield /prot_msgaba/soma inject {getfield {dialog} value}
end

//=====
//      Main Script
//=====

create neutral /prot_msgaba
// create the soma compartment "/prot_msgaba/soma"
makecompartment /prot_msgaba/soma {SOMA_L_MSGABA} {SOMA_D_MSGABA} {ELEAK_MSGABA}
setfield /prot_msgaba/soma initVm {EREST_ACT_MSGABA} // initialize Vm to rest potential

// provide current injection to the soma
//setfield /prot_msgaba/soma inject -1e-11           // injection current

// Create three channels, "/prot_msgaba/soma/Na_hh", "/prot_msgaba/soma/K_hh"
//      and "/prot_msgaba/soma/KS_tab"
pushe /prot_msgaba/soma
make_KS_tab
make_K_tab
make_Na_t
pope

// The soma needs to know the value of the channel conductance
// and equilibrium potential in order to calculate the current
// through the channel. The channel calculates its conductance
// using the current value of the soma membrane potential.

addmsg /prot_msgaba/soma/K_tab /prot_msgaba/soma CHANNEL Gk Ek

```

```

addmsg /prot_msgaba/soma /prot_msgaba/soma/K_tab VOLTAGE Vm
addmsg /prot_msgaba/soma/Na_t /prot_msgaba/soma CHANNEL Gk Ek
addmsg /prot_msgaba/soma /prot_msgaba/soma/Na_t VOLTAGE Vm
addmsg /prot_msgaba/soma/KS_tab /prot_msgaba/soma CHANNEL Gk Ek
addmsg /prot_msgaba/soma /prot_msgaba/soma/KS_tab VOLTAGE Vm
addmsg /prot_msgaba/soma /prot_msgaba/soma/Na_t/Na_minf INPUT Vm
addmsg /prot_msgaba/soma /prot_msgaba/soma/Na_t/Na_h VOLTAGE Vm

check
reset

```

7.2.4. A mediális szeptum sejtjeire jellemző konstansok

```

//genesis

//*****
//... es lon a kornek kerulete
float PI = 3.14159

//*****
//integralasi idok adjusztalasa

//*****
//Az egyszeruseg es elegancia kedveert:
int EXPONENTIAL = 1
int SIGMOID = 2
int LINOID = 3

//*****
//Remelhető, hogy ekkora egy sejt ...
float SOMA_D_MSGABA = 20.0e-6 // m
float SOMA_L_MSGABA = 20.0e-6 // m
float SOMA_A_MSGABA = PI * SOMA_D_MSGABA * SOMA_L_MSGABA // m^2
float SOMA_XA_MSGABA = PI * SOMA_D_MSGABA * SOMA_D_MSGABA / 4 // m^2

//*****
//További szükséges konstansok
//MEMBRANE PARAMETERS
float RM_MSGABA = 1 // ohm*m^2
float RA_MSGABA = 0.3 // ohm-m
float CM_MSGABA = 0.01 // F/m^2
float EREST_ACT_MSGABA = -65e-3 // V
float ELEAK_MSGABA = -.05 // V
float EK_MSGABA = -.085 // V
float ENA_MSGABA = .055 // V

//*****
//A tablazatokhoz
float VRES = 3200
float VMIN = -0.100 // V
float VMAX = 0.110 // V

//*****
//A misztikus PHI parameter
float Phi = 5

//Szinapszis kuszob fesz.
float Theta_m2m = 0
float Theta_GABA = 0
float Theta_o2m = 0

//time variables
float tmax = 1.5

```

7.2.5. A sejtek közötti szinapszisok

```

//genesis

//*****This script provides synapses for connecting the neurons

```

```

*****The following synapses are implemented (as separate functions):

*****conn_msg2msg: establishes a synapse between two ms-gaba cells
*****conn_olm2msg: establishes a synapse between an oriens --
*****lacunosum moleculare interenuron and an MSGABA cell
*****/

if ({exists /prot_olm})
  addfield /prot_olm/soma m2o
  setfield /prot_olm/soma m2o 0
end

if ({exists /prot_msggaba})
  addfield /prot_msggaba/soma m2m
  setfield /prot_msggaba/soma m2m 0
  addfield /prot_msggaba/soma o2m
  setfield /prot_msggaba/soma o2m 0
end

//*****
//GABA_A synapse between ms-gaba neurons

function conn_msg2msg(pre_no, post_no, g_syn)
  int pre_no //# of presynaptic cell
  int post_no //# of postsynaptic cell
  int syn_no
  int i
  float g_syn

  syn_no = {getfield /int_msg[{post_no}]/soma m2m} + 1
  setfield /int_msg[{post_no}]/soma m2m {syn_no}

  if ({!{exists /prot_msggaba/soma/syn_m2m}})
    create vdep_channel /prot_msggaba/soma/syn_m2m
    ce /prot_msggaba/soma/syn_m2m
    create tabgate s_gate
    setfield . Ek -75e-3 gbar {{g_syn} * {SOMA_A_MSGABA}}
    setupgate s_gate alpha 1e3 0 1 {Theta_m2m} -2e-3 -size {VRES} -range {VMIN} {VMAX}
    call s_gate TABCREATE beta {VRES} {VMIN} {VMAX}
    for (i = 0; i <= VRES; i = i + 1)
      setfield s_gate beta->table[{i}] 0.07e3
    end
  end

  end

  copy /prot_msggaba/soma/syn_m2m /int_msg[{post_no}]/soma/syn_m2m[{syn_no}]
  ce /int_msg[{post_no}]/soma/syn_m2m[{syn_no}]

  //ez egy fontos sor, a scriptek nagyrészből hiányzott!
  setfield /int_msg[{post_no}]/soma/syn_m2m[{syn_no}] gbar {{g_syn} * {SOMA_A_MSGABA}}

  addmsg s_gate/ . MULTGATE m 1
  addmsg /int_msg[{post_no}]/soma . VOLTAGE Vm
  addmsg /int_msg[{pre_no}]/soma ./s_gate VOLTAGE Vm
  addmsg . /int_msg[{post_no}]/soma CHANNEL Gk Ek

  ce /
end

//*****
//GABA_A synapse between hippocampal cells and ms-gaba neurons

function conn_olm2msg(pre_no, post_no, g_syn)
  int pre_no //# of presynaptic cell
  int post_no //# of postsynaptic cell
  float g_syn //synaptic conductance
  int syn_no
  int i

  syn_no = {getfield /int_msg[{post_no}]/soma o2m} + 1
  setfield /int_msg[{post_no}]/soma o2m {syn_no}

  if ({!{exists /prot_msggaba/soma/syn_io2im}})
    create vdep_channel /prot_msggaba/soma/syn_io2im

```

```

ce /prot_msggaba/soma/syn_io2im
create tabgate s_gate
setfield . Ek -80e-3 gbar {{g_syn} * {SOMA_A_MSGABA}}
setupgate s_gate alpha 2e3 0 1 {Theta_o2m} -0.5e-3 -size {VRES} \
                                                -range {VMIN} {VMAX}

call s_gate TABCREATE beta {VRES} {VMIN} {VMAX}
for (i = 0; i<= VRES; i = i + 1)
    setfield s_gate beta->table[{i}] 0.05e3
end
end

copy /prot_msggaba/soma/syn_io2im /int_msgg[{post_no}]/soma/syn_io2im[{syn_no}]
ce /int_msgg[{post_no}]/soma/syn_io2im[{syn_no}]

setfield . gbar {{g_syn} * {SOMA_A_MSGABA}}

addmsg s_gate/ . MULTGATE m 1
addmsg /int_msgg[{post_no}]/soma . VOLTAGE Vm
addmsg /int_olm[{pre_no}]/soma ./s_gate VOLTAGE Vm
addmsg . /int_msgg[{post_no}]/soma CHANNEL Gk Ek

ce /
end

```

7.2.6. A hippocampo-szeptális sejteket vezérlő script

```

//genesis

include /home/ubi/hippo/theta/OLM/prot_olm.g

float N_olm=40
float dt = 1
float val =0

//*****
//Generating the neurons from prototypes

setfield /prot_olm/soma initVm -0.069
copy /prot_olm /int_olm[1] -repeat {N_olm}
disable /prot_olm

for (i=1; i<={N_olm}; i=i+1)
    setfield /int_olm[{i}]/soma Cm {gaussian 1.2566e-11 4e-12}
end

//*****
//Generating input to neurons
//neutral, who send the message (cvoltage) to the O_LM cell

create neutral /hipp_table
addfield /hipp_table cvoltage

//table storing Misi's datas

create table /hipp_field
file2tab ./a4.3Hz_hullam.dat /hipp_field table

function update_field
dt={dt+1}
val = {getfield hipp_field table->table[{dt}]}
val = {{val}*9e-14 + 3e-12} //dc_offset 1e-11 amplitude 3e-11
setfield /hipp_table cvoltage {val}
end

create script_out /ido
setfield /ido command update_field
useclock /ido 1

for (i=1; i<={N_olm}; i=i+1)
addmsg /hipp_table /int_olm[{i}]/soma INJECT cvoltage
end

```

```
ce /
reset
```

7.2.7. A hippocampo-szeptális sejt

```
// genesis
include /home/ubi/hippo/theta/OLM/kons_olm.g

/*****This script creates a prototype for the oriens interenuron which projects
*****to the LM moleculare region innervating pyramidal cells in the distal
*****apical dendrites
*****/

create neutral /prot_olm

//*****
//*****Somatic compartment
create compartment /prot_olm/soma
setfield /prot_olm/soma \
  Cm {CM_OLM * SOMA_A_OLM} \ // F
  Ra {RA_OLM * SOMA_L_OLM /SOMA_XA_OLM}\ // ohm (felesleges)
  Em {EREST_ACT_OLM} \ // V
  Rm {RM_OLM/SOMA_A_OLM} \ // ohm
  inject 0.0 \
  initVm -0.065

//*****
//*****Active sodium channel a la Wang & Buzsaki '96 with fast m gate
create vdep_channel /prot_olm/soma/Na_channel
setfield /prot_olm/soma/Na_channel \
  Ek 55e-3 \ // V
  gbar { 350 * {SOMA_A_OLM} } // S

//*****the m gate of the sodium channel
create table /prot_olm/soma/Na_channel/m_gate

ce /prot_olm/soma/Na_channel/m_gate

call . TABCREATE {VRES} {VMIN} {VMAX}
int i
float y
float alpham
float betam
float x
echo Tablazat feltoltese ...
for (i = 0; i<= VRES; i = i + 1)
  x = (i * (VMAX - VMIN) / VRES) + VMIN
  alpham= -0.1e+6 * ( x + 0.035) / ( { exp {-0.1e+3 * ( x + 0.035 ) } } - 1)
  betam= 4e+3 * { exp { -1 * ( x + 0.060 ) / 0.018 } }
  y = alpham / ( alpham + betam )
  if (x == -0.035)
    y = 0.9970947
  end
  setfield . table->table[{i}] {y}
end
setfield . table->calc_mode 0

ce /

//*****the h gate of the sodium channel
create tabgate /prot_olm/soma/Na_channel/h_gate

/*****tobb dolog is megkavarja a nagysagrandeket es elojeleket: atteres mV->V;
*****atteres ms->s; az exponencialis szamlaloban, vagy nevezoben van-e
*****/

setupgate ^ alpha {Phi*70} 0 0 58e-3 20e-3 -size {VRES} -range {VMIN} {VMAX}
setupgate ^ beta {Phi*1e+3} 0 1 28e-3 -10e-3 -size {VRES} -range {VMIN} {VMAX}

//*****Connecting gates to the channel
```

```

ce /prot_olm/soma/Na_channel
addmsg m_gate . MULTGATE output 3
addmsg h_gate . MULTGATE m 1
ce /

//*****
//*****Active potassium channel (deleyed rectifier)

create vdep_channel /prot_olm/soma/K_channel
setfield ^ Ek -90e-3 gbar {90*{SOMA_A_OLM}}

create tabgate /prot_olm/soma/K_channel/nv_gate

setupgate ^ alpha {-0.01e+6*Phi*0.034} {-0.01e+6*Phi} -1 0.034 -10e-3 -size \
                                                    {VRES} -range {VMIN} {VMAX}
setupgate ^ beta {0.125e+3*Phi} 0 0 0.044 0.080 -size {VRES} -range {VMIN} {VMAX}

//*****Connecting gates to the channel
ce /prot_olm/soma/K_channel
addmsg nv_gate . MULTGATE m 4
ce /

//*****
//*****Active hyperpolarization-activated channel (for the I_h current)
create vdep_channel /prot_olm/soma/h_channel
setfield ^ Ek -40e-3 gbar {1.5*{SOMA_A_OLM}}

//*****H gate of the channel
create tabgate /prot_olm/soma/h_channel/H_gate
//create table /prot_olm/soma/h_channel/H_gate

ce /prot_olm/soma/h_channel/H_gate

call . TABCREATE alpha {VRES} {VMIN} {VMAX}
call . TABCREATE beta {VRES} {VMIN} {VMAX}
float alpha, beta
for (i = 0; i <= VRES; i = i + 1)
  x = (i * (VMAX - VMIN) / VRES) + VMIN
  alpha = 1 / (1 + { exp {(x + 80e-3) / 10e-3 } }) / (200e-3 / \
    ({ exp {(x + 70e-3)/20e-3} } + { exp {-(x + 70e-3) / 20e-3} })+0.005)
  beta = (1 - 1 / (1 + { exp {(x + 80e-3) / 10e-3 } }))) / (200e-3 / \
    ({ exp {(x + 70e-3) /20e-3} } + { exp {-(x + 70e-3) / 20e-3} })+0.005)
  setfield . alpha->table[{i}] {alpha}
  setfield . beta->table[{i}] {beta}
end

ce /prot_olm/soma/h_channel
addmsg H_gate . MULTGATE m 1
ce /

//*****
//*****Calcium channel

create vdep_channel /prot_olm/soma/Ca_channel
setfield ^ Ek 120e-3 gbar {10 * {SOMA_A_OLM}}

//*****The m gate of the channel
create table /prot_olm/soma/Ca_channel/m_gate

ce /prot_olm/soma/Ca_channel/m_gate

call . TABCREATE {VRES} {VMIN} {VMAX}
for (i = 0; i<= VRES; i = i + 1)
  x = (i * (VMAX - VMIN) / VRES) + VMIN
  y = 1/(1 + { exp {-(x + 20e-3) / 9e-3} })
  setfield . table->table[{i}] {y}
end
setfield . table->calc_mode 0

ce /prot_olm/soma/Ca_channel
addmsg m_gate . MULTGATE output 2
ce /

```



```

//*****
//*****Hyperpolarization activated Calcium-dependent potassium current

//*****Calcium concentration
create Ca_concen      /prot_olm/soma/Calcium_c
setfield ^            tau 0.08 B 200000 Ca_base 0

create vdep_channel   /prot_olm/soma/K_C_channel
setfield ^            Ek -90e-3 gbar {100 * {SOMA_A_OLM}}
create table          /prot_olm/soma/K_C_channel/psg

ce ^

call . TABCREATE 3200 0 32e-7
for (i = 0; i <= 3200; i = i + 1)
  x = (i * (32e-7 - 0) / 3200) + 0
  y = x / (x + 30e-6)
  setfield . table->table[{i}] {y}
end
setfield . table->calc_mode 0

ce /prot_olm/soma/K_C_channel
addmsg psg . MULTGATE output 1
ce /

//*****
//Copying constituents to a prototype cell

ce /prot_olm/soma

addmsg .                K_channel/nv_gate      VOLTAGE Vm
addmsg K_channel        .                      CHANNEL Gk Ek
addmsg .                K_channel            VOLTAGE Vm

addmsg .                Na_channel/m_gate     INPUT  Vm
addmsg .                Na_channel/h_gate     VOLTAGE Vm
addmsg Na_channel       .                      CHANNEL Gk Ek
addmsg .                Na_channel            VOLTAGE Vm

addmsg .                h_channel/H_gate     VOLTAGE Vm
addmsg h_channel        .                      CHANNEL Gk Ek
addmsg .                h_channel            VOLTAGE Vm

addmsg .                Ca_channel/m_gate     INPUT  Vm
addmsg Ca_channel       .                      CHANNEL Gk Ek
addmsg .                Ca_channel            VOLTAGE Vm

addmsg Ca_channel       Calcium_c             I_Ca   Ik
addmsg Calcium_c        K_C_channel/psg      INPUT  Ca
addmsg K_C_channel      .                      CHANNEL Gk Ek
addmsg .                K_C_channel            VOLTAGE Vm

ce /

```

7.2.8. A hippocampo-szeptális sejtre jellemző konstansok

```

//*****
//Remelhető, hogy ekkora egy sejt ...
float  SOMA_D_OLM      =      20.0e-6          // m
float  SOMA_L_OLM      =      20.0e-6          // m
float  SOMA_A_OLM      =      PI * SOMA_D_OLM * SOMA_L_OLM // m^2
float  SOMA_XA_OLM     =      PI * SOMA_D_OLM * SOMA_D_OLM / 4 // m^2

//*****
//További szükséges konstansok
//MEMBRANE PARAMETERS
float  RM_OLM          =      1                // ohm*m^2
float  RA_OLM          =      0.3              // ohm-m
float  CM_OLM          =      0.01             // F/m^2
float  EREST_ACT_OLM   =      -65e-3          // V

```

```
float Theta_m2o = 0
```

7.2.9. Script, ami elmenti az adatokat

```
//genesis

/*****This script controls the output of the simulations
*****/
*****/Functions implemented followed by parameters:
*****/1, spike_rec_setup $SIM_TIME $OUTPUT_TYPE $NEURON_TYPE $SPIKE_TRAIN_NO
*****/2, spike_rec_save
*****/

str recs="" //string of names of tables containing
//recordings

/*****Table for the spiketrains
create neutral /spktrns

/*****Raster diagram and/or spike train recording tool*****

function spike_rec_setup(time,sr,type,no)
float time //simulation time
int sr //swich of output types: 1, raster;
//2, spike tr; 3 raster + spike tr;
str type //type of neuron: olm
int no //number of spike trains recorded

str cellp //path to the neurons
str compp //path to the compartments
int i,total
int table_no = 0 //total number of allocated data tables
int res

ce /spktrns

/*****Here, elementpaths to specific neuron types can be set
if (type=="olm")
cellp="/int_olm"
compp="soma"
total={N_olm}
elif (type=="msg")
cellp="/int_msg"
compp="soma"
total={N_msg}
elif (type=="hipp")
cellp="/hippocamp"
total=1
else
echo "Misspecified NEURON_TYPE. Select from options int_olm, int_b or \
int_msg int_ax"

return
end

/*****Tables for rasters
if (sr != 2)
if (type=="b")
res=80
elif (type=="msg")
res=40
else
res=20
end
for (i = 1; i<= {total}; i = i + 1)
create table /spktrns/raster_{type}{i}
setfield ^ step_mode 4 stepsize -0.01
call ^ TABCREATE {time * res} 0 {time * res}
addmsg {cellp}[{i}]/{compp} ^ INPUT Vm
recs = {strcat {recs} " "}
recs = {strcat {recs} raster_{type}{i}}
```

```

end
end

//*****Tables for spike trains
if (sr != 1)
  if (type!="hipp")
    i=1
    while(i<={no})
      if (!{exists /spktrns/sptr_{type}{i}})
        create table /spktrns/sptr_{type}{i}
        setfield ^ step_mode 3
        useclock ^ 1
        call ^ TABCREATE {{time}/{dt2}} 0 {time}
        addmsg {cellp}[{i}]/{compp} /spktrns/sptr_{type}{i} INPUT Vm
        recs = {strcat {recs} " "}
        recs = {strcat {recs} sptr_{type}{i}}
        i=i+1
      end
    end
  end
end

  if (type=="hipp")
    if (!{exists /spktrns/sptr_{type}{i}})
      create table /spktrns/sptr_{type}{i}
      setfield ^ step_mode 3
      useclock ^ 1
      call ^ TABCREATE {{time}/{dt2}} 0 {time}
      addmsg {cellp}/ /spktrns/sptr_{type}{i} INPUT output
      recs = {strcat {recs} " "}
      recs = {strcat {recs} sptr_{type}{i}}
      i=i+1
    end
  end
end

ce /

end

//*****An argumentless function for writing data on disk*****
function spike_rec_save (sp)
str sp
int i
str tabname

mkdir {gp}{pp}{sp}

for (i = 1; i <= {getarg {arglist {recs}} -count}; i = i + 1)
  tabname = {getarg {arglist {recs}} -arg {i}}
  tab2file {gp}{pp}{sp}/{tabname}.dat \
    /spktrns/{tabname} \
    table
  delete /spktrns/{tabname}
end
recs = "" //clearing record of records
if ({exists /output/extable[1]})
  tab2file {gp}{pp}{sp}/electrode.dat /output/extable[1] table
end
end
end

```

7.2. Figure captions

Figure 2.1

Effect of GABA_A allosteric modulators zolpidem and L-838,417. Hippocampal CA1 field activity and septal unit activity are shown in control situation (A), after iv. administration of zolpidem (the α_1 subunit selective positive allosteric modulator on the benzodiazepine binding site of the GABA_A receptor) (B) and after iv. administration of L-838,417, the α_2 selective allosteric modulator (C). Note that the administration of both zolpidem and L-838,417 render hippocampal field and septal unit activity aperiodic, while zolpidem but not L-838,417 administration results in decreased firing rate of septal GABAergic cells. Measurements of dr. Hajós Mihály.

Figure 2.2

The effect of zolpidem (Z) and Ro 15-1788 (R, antagonist on the benzodiazepine binding site) on septo-hippocampal theta activity. Zolpidem effectively reduce theta activity both in the septum and in the hippocampus by decreasing the firing rate of the septal cells, turning their firing pattern from periodic to aperiodic, and removing the theta peak from the power spectrum of hippocampal field oscillation. The antagonist can rebuilt the theta oscillation in the septo-hippocampal system. Measurements of dr. Hajós Mihály.

Figure 2.3

The effect of L-838,417 on septo-hippocampal theta activity. L-838,417 effectively reduce theta activity both in the septum and in the hippocampus. However, it has only a moderate effect on the firing rate of septal cells. The antagonist can rebuilt the theta oscillation in the septo-hippocampal system. Measurements of dr. Hajós Mihály.

Figure 2.4

Autocorrelation functions of septal unit activity. Both zolpidem (A, solid, light gray line) and L-838,417 (B, solid, light gray line) abolish temporal correlation of septal unit activity, readily reversible by iv. administration of the benzodiazepine antagonist Ro15-1788 (dashed lines). Decrease of septal unit autocorrelation relative to the control situation indicates loss of periodicity of septal GABAergic cells. Compared with figure 2.1. simultaneous decrease of the periodicity of hippocampal field potential and septal unit firing can be observed. Measurements of dr. Hajós Mihály.

Figure 4.1

The kinetic parameters of the voltage dependent gates of the slow potassium channel (I_{KS}). The steady state value of the gates on the upper, and the time constants can be seen on the lower figure.

Figure 4.2

With constant injected current (I_{ext}) the cell fires in theta rhythmic clusters. The firing rate of the cell increases with the external current from 4 to 40 Hz, whereas the frequency of the clusters is ≈ 5 Hz for most of the I_{ext} range.

Figure 4.3

The scheme of the septal GABAergic network. Based on their firing phase, septal GABAergic cells can be divided into two distinct populations: one fire at the peak, other at the trough of the hippocampal theta oscillation (Borhegyi et al., 2004). We suppose that the connections between the two populations are strong, but they are weak within one population. The conductance of a synapse between two cells is g_{ij} . The probability of the connection between two cells from the same population is p_{AA} , when between two cells from different populations is p_{AB} . On this figure $p_{AA} = 0$ and $p_{AB} = 0.4$.

Figure 5.1

The effect of noisy input on two coupled cells. On the left side the input current is constant (A, B), on the right side the input is noisy (C-E). On the upper row, we show the behavior of single cells. Note that the cell lose its periodicity having noisy input (C). If coupled, the cells show antiphase synchrony in both cases (B, D). (E) One of the cell-pairs shows clear rhythmicity, because clusters are more regular (compare with C).

Figure 5.2

The activity of the septal GABAergic network. (A) The lines show the firing rate of the two populations, and the rasters indicates single cell activities. (B) Autocorrelation function of the population activity shows a periodic oscillation at 5 Hz. (C) Autocorrelation function of the single cell activity.

Figure 5.3

Raster diagram shows the activity of the 80 cells during the first two seconds. (A) The synchronization is much faster, when the lateral connections are neglected. (B) Both the synchronisation and the population oscillation are slower with relative strong lateral connections ($p_{AA} = 0.3$).

Figure 5.4

The oscillatory behavior of the septal network depends on synaptic conductances (horizontal axis) and on the excitatory current (vertical axis). (A) The frequency of the population oscillation mainly depends on the synaptic strength: increase in synaptic conductances cause a decrease in the oscillation frequency. (B) The firing rate of the single cell depends on the excitatory current. (C) The two populations are antiphase in the shaded region as revealed by the correlation between the activity of the two population. (D) 4-fold increase in the synaptic conductance leads only a small decrease in the firing rate of a single cell whereas such a decrease in the excitatory current is much more effective.

Figure 5.5

The effect of decreased connection probability on the oscillatory behavior of the septal network. If the product of the connection probability (horizontal axis) and the synaptic strength (vertical axis) is constant, than the oscillatory behavior remains similar. (A) The correlation between the activity of the two populations. (B) The synchrony of a single population. (C) The frequency of the population oscillation. (D) The average firing rate of the individual cells.

Figure 5.6

Synchronization and theta rhythm generation in a network of septal pacemaker cells. When decoupled from its hippocampal input (A) the population of numerically modelled GABAergic cells exhibits synchronized periodic behaviour as indicated by the population activity of one of the two subpopulations (upper trace; see Methods for a description of population activity) and the unit activity (lower trace) of an arbitrarily chosen cell of the selected subpopulation. When innervation by hippocampal horizontal interneurons (B) in control situation (see Methods) is taken into account septal population and unit activity remain unchanged. Simulated effect of the L-838,417 (C) is a decrease in synchronization of septal GABA neurons, while in case of zolpidem (D) besides decreased synchronization a decrease of firing rate can be observed. (Note that the upper trace in Fig 2.1. shows the hippocampal field potential while upper trace on this figure is the population activity of septal GABA neurons.)

Figure 5.7

Autocorrelation functions of modelled septal unit activity (compare with Fig 2.4.). Both zolpidem (dashed line) and the L-838,417 (solid, light gray line) abolish temporal correlation of septal unit activity.

Figure 5.8

The effect of an aperiodic input on the septal population activity. Depending on the synaptic strength, an aperiodic input can reduce periodicity of septal cells. (Periodicity is measured with the amplitude of the autocorrelogram, see Fig. 2.4.)

Figure 5.9

The simulated effect of the drugs on the modeled septal theta activity. The modeled effects are qualitatively similar to the measurements (compare with Figs. 2.2. and 2.3.). We can directly compare the changes in the amplitude of autocorrelogram and in the firing rate of the septal cells with the measurements on figure 2.2. and 2.3. Changes in Fourier power of septal GABA cell population activity can be compared with changes in power spectrum of hippocampal field potential. (C: Control; L: L-838,417; Z: Zolpidem).

Table 6.1

The predictions of the model compared with various experimental results.

PACEMAKER SEJTEK HÁLÓZATI TOPOLOGIÁJA FELELŐS A THETA SZINKRONIZÁCIÓÉRT A MEDIÁLIS SZEPTUMBAN: KÍSÉRLETI EREDMÉNYEK SZÁMÍTÓGÉPES MODELLEZÉSE

UJFALUSSY BALÁZS

Diplomamunka, 2005

MTA KFKI RMKI, Biofizika Osztály, Budapest

Eötvös Lóránd Tudományegyetem, Természettudományi Kar, Biológus szak

Összefoglalás

A szepto–hippokampális rendszerre jellemző theta oszcilláció generálásában a mediális szeptum pacemaker sejtjeinek kulcsszerepe van. Dolgozatomban a szeptális pacemaker sejtek szinkronizálódásának kérdését vizsgálom részletes matematikai modellek segítségével. A modellben az egyes GABAerg sejtek theta ritmusú burst aktivitást mutatnak, és a szeptumon belül – a hippokampális thetához viszonyított tüzelési fázisuknak megfelelően (Borhegyi és mtsai, 2004) – két populációra oszthatók. Feltételezésünk szerint a kapcsolatok az egyes populációkon belül gyengék, míg a populációk között erősek. Eredményeim szerint egy ilyen topológiájú hálózatban a sejtek burstjei szinkronizálódnak, és a kialakuló oszcilláció a fiziológiás theta ritmus alapjául szolgálhat.

Dolgozatom második részében alegység szelektív GABA_A pozitív allosterikus modulátorok hatását vizsgáltam a modellezett hálózaton. Kollaborátorunk, dr. Hajós Mihály (Pfizer inc.) végzett méréseket altatott patkányokon az α_1 agonista *zolpidem* és az α_2 agonista *L-838,417* elektrofiziológiai hatását vizsgálva. Fontos különbség, hogy míg α_1 alegységet tartalmazó GABA_A receptort a mediális szeptum GABAerg sejtei expresszálnak, addig az α_2 alegység csak a hippokampális piramissejtek periszomatikus régiójában található. A kísérletek eredményei megmutatták, hogy mindkét drog csökkenti a hippokampális theta aktivitást és a szeptális sejtek periodicitását, azonban csak a *zolpidem* okoz csökkenést a szeptális sejtek tüzelési rátájában is.

A modellen végzett szimulációk szerint a *zolpidem* hatására lecsökkent tüzelési rátát nem lehet csupán a szeptális hálózaton belüli GABA_A szinapszisok modulációjával magyarázni: figyelembe kell venni a sejtekre érkező serkentő hatások megváltozását is. Az *L-838,417* szeptális hatását csak akkor okozhatja a hippokampo–szeptális projekció, ha a drog hatására a szeptális sejteket beidegző hippokampo–szeptális sejtek tüzelése periodikusról aperiodikusra változik.

THETA SYNCHRONIZATION IN THE MEDIAL SEPTUM IS DETERMINED BY THE NETWORK TOPOLOGY OF PACEMAKER CELLS: COMPUTER MODELING STUDY BASED ON PHARMACOLOGICAL EXPERIMENTS

UJFALUSSY BALÁZS

Master's thesis in Biology, 2005

KFKI Research Institute for Particle and Nuclear Physics, Department of Biophysics
Eötvös Loránd University, Faculty of Science

Summary

Medial septal pacemaker neurons are thought to play a crucial role in the generation of hippocampal theta oscillation. In the first part of my work I have introduced and analysed a conductance based mathematical models to answer the question: how do the pacemaker cells become synchronized while maintaining specific phase relationships between individual neurons? In our model the individual cells show theta modulated bursting activity. Based on their firing phase, septal GABAergic cells can be divided into two distinct populations: one fire at the peak, other at the trough of the hippocampal theta oscillation (Borhegyi et al., 2004). We propose that the connections among these two populations are strong, but they are weak within one population. An anti-phase synchronized theta bursting activity arises in this network which can be the basis of the physiological theta activity.

In the second part of my work the effect of subunit selective GABA_A positive allosteric modulators was investigated in the septal model. To determine the effect of the α_1 selective *zolpidem* and the α_2 selective *L-838,417*, *in vivo* electrophysiological recordings were performed on anesthetized rats by our collaborator, dr. Mihály Hajós (Pfizer Inc.). While the membrane of the medial septal GABAergic cells contain GABA_A receptors with α_1 subunit, α_2 subunit containing receptors are only expressed in the perisomatic region of the hippocampal pyramidal cells. Pharmacological experiments revealed that both drugs reduce the hippocampal theta activity and the periodicity of the septal cells, but only the zolpidem causes a significant decrease in their firing rate.

Our simulations suggest that the decreased firing rate caused by the administration of zolpidem can not be explained by the modulation of GABA_A receptors alone in the septal GABAergic network. Decreased excitation of these GABAergic neurons also has to be taken into account. The effect of L-838,417 on the medial septum can be caused via the hippocampo – septal projection only if this drug turns the firing pattern of the hippocampo – septal cells from periodic to aperiodic.