

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA BIOLOGIJO

Andrej BLEJEC

ALTERNATIVNA STATISTIČNA METODA
ZA ZASLEDOVANJE SPREMEMB AKTIVNOSTI
SPONTANO AKTIVNIH VOHALNIH CELIC

DOKTORSKA DISERTACIJA

Ljubljana, 2001



UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA BIOLOGIJO

Andrej BLEJEC

ALTERNATIVNA STATISTIČNA METODA
ZA ZASLEDOVANJE SPREMEMB AKTIVNOSTI
SPONTANO AKTIVNIH VOHALNIH CELIC

DOKTORSKA DISERTACIJA

DOKTORSKA DISERTACIJA

ALTERNATIVE STATISTICAL METHOD
FOR DETECTING THE ACTIVITY CHANGES OF
SPONTANEOUSLY ACTIVE OLFACTORY NEURONS

DISSERTATION THESIS

Ljubljana, 2001

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA BIOLOGIJO

Andrej BLEJEC

**ALTERNATIVNA STATISTIČNA METODA
ZA ZASLEDOVANJE SPREMENB AKTIVNOSTI
SPONTANO AKTIVNIH VOHALNIH CELIC**

DOKTORSKA DISERTACIJA

**ALTERNATIVE STATISTICAL METHOD
FOR DETECTING THE ACTIVITY CHANGES OF
SPONTANEOUSLY ACTIVE OLFACTORY NEURONS**

DISSERTATION THESIS

Ljubljana, 2001

I 524592

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTIHOŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA BIOTEHNIJO

II 524592

Andrej BLEJEC

ALTERNATIVNA STATISTIČNA METODA
ZA RAZISKOVANJE SPREMEMB AKTIVNOSTI
SPONTANNO AKTIVNIH VOHALNIH CELIC

DOKTORSKA DISSERTACIJA

ALTERNATIVE STATISTICAL METHOD
FOR DETECTING THE ACTIVITY CHANGES OF
SPONTANEOUSLY ACTIVE OLFACTORY NEURONS

DISSERTATION THESIS



10. 10. 2001

0200106076

Ljubljana, 2001

Doktorsko delo je bilo opravljeno na Katedri za nevrotologijo Oddelka za biologijo Univerze v Ljubljani. Poskusni podatki so bili zbrani in analizirani v laboratorijih prof. dr. P. W. Sorensen-a, University of Minnesota, Saint Paul, prof. dr. J. S. Kauer-ja, Tufts University, Boston in prof. dr. P. Zippel-a, Universität Göttingen, Göttingen.

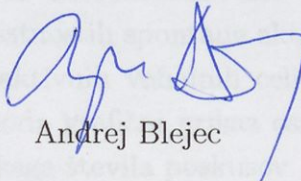
Na temelju sklepa senata Biotehniške fakultete z dne 26.7.2000 je bil za mentorja doktorske disertacije imenovan prof. dr. Tine Valentinčič

Komisija za zagovor:

- Predsednik: prof. dr. Matija Gogala
Prirodoslovni muzej Slovenije
- Član: prof. dr. Vladimir Batagelj
Univerza v Ljubljani, Fakulteta za matematiko in fiziko, Oddelek za matematiko in mehaniko
- Članica: prof. dr. Katarina Košmelj
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo
- Član: prof. dr. Tine Valentinčič (mentor)
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo
- Član: prof. dr. Peter W. Sorensen
University of Minnesota, Department of Fisheries and Wildlife

Datum zagovora: 9. 1. 2001

Naloga je rezultat lastnega raziskovalnega dela


Andrej Blejec

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

- ŠD Dd
- DK UDK 612.014.42:612.86:519.21/22:311.17(043.3)=863
- KG čutilne celice / akcijski potenciali / voh / slučajnostni proces / statistična analiza / sprememba aktivnosti
- AV BLEJEC, Andrej
- SA VALENTINČIČ, Tine (mentor)
- KZ SI-1111 Ljubljana, Večna pot 111
- ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo
- LI 2001
- IN ALTERNATIVNA STATISTIČNA METODA ZA ZASLEDOVANJE SPREMENB AKTIVNOSTI SPONTANO AKTIVNIH VOHALNIH CELIC
- TD doktorska disertacija
- OP VIII, 82 s., 48 sl., 73 ref.
- IJ sl
- JI sl / en
- AI Pri ribah je vohalna informacija kodirana na milijonih spontano aktivnih vohalnih čutilnih celicah, ki v času stimulacije povečajo (ekscitacija) ali zmanjšajo (supresija) aktivnost. Predvidevamo, da aktivnost vohalnih celic vzpodbuja aktivnost mitralnih celic v vohalnem bulbusu. Za razumevanje kvantitativnih lastnosti vohalne kode moramo poznati aktivnost velikega števila vohalnih celic. Razvili smo metodo in računalniški program za analizo naklonov kumulativne porazdelitve (CSA), ki omogoča hitro zaznavanje sprememb aktivnosti vohalnih celic. Metoda temelji na lastnostih obnovitvenih in Poissonovih slučajnostnih procesov. Spremembo aktivnosti vohalne celice zaznamo kot spremembo naklona porazdelitvene funkcije (kumulativne porazdelitve) akcijskih potencialov. V primeru ekscitacije se naklon porazdelitvene funkcije lokalno poveča, v primeru supresije pa lokalno zmanjša. Empirično porazdelitveno funkcijo posamezne vohalne celice aproksimiramo z lokalno linerano regresijo na okolicah, ki vsebujejo izbrano število akcijskih potencialov. Vsakemu akcijskemu potencialu pripišemo oceno lokalne hitrosti proženja akcijskih potencialov kot naklon pripadajoče lokalne regresijske premice. Iz porazdelitve ocen hitrosti proženja pred draženjem s centili določimo območje pričakovanih vrednosti z zgornjo in spodnjo kritično mejo. S tako dobljenim območjem pričakovanih vrednosti za spontano aktivnost lahko na neparametričen način določimo značilna povečanja ali zmanjšanja hitrosti proženja akcijskih potencialov. V primeru odziva določimo tudi začetek in trajanje odziva ter jakost odziva. CSA metodo lahko uporabimo tudi v primeru, ko predpostavbe o slučajnostnih lastnostih spontane aktivnosti ne veljajo. Program za analizo aktivnosti spontano aktivnih vohalnih celic CSA uporablja programsko okolje S-PLUS. Opisu odziva doda grafični prikaz osnovnih podatkov. Program je prirejen za paketno analizo velikega števila poskusov.

KEY WORDS DOCUMENTATION

- ND Dd
- DC 612.014.42:612.86:519.21/22:311.17(043.3)=863
- CX receptor neurons / action potentials / olfaction / stochastic process / statistical analysis / change point
- AU BLEJEC, Andrej
- AA VALENTINČIČ, Tine (supervisor)
- PP SI-1111 Ljubljana, Večna pot 111
- PB University. of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Biology
- PY 2001
- TI ALTERNATIVE STATISTICAL METHOD FOR DETECTING THE ACTIVITY CHANGES OF SPONTANEOUSLY ACTIVE OLFACTORY NEURONS
- DT Dissertation Thesis
- NO VIII, 82 p., 48 fig., 73 ref.
- LA sl
- AL sl / en
- AB Olfactory information in fish and other vertebrates is initially encoded by spontaneously active olfactory receptor neurons which express olfactory receptors on their apical dendrites and synapse onto mitral cells located in glomeruli in the olfactory bulb. Depending on the identities of the olfactory receptors and their associated transduction processes, the spontaneous activity of specific olfactory receptor neurons can either be unaffected, excited, or suppressed by exposure to particular odorants. To understand the quantitative properties of this complex coding scheme one needs to quantify changes in the spontaneous firing rates of the activity of a large number of olfactory receptor neurons. This problem is particularly arduous because neuronal firing rates are naturally extremely variable and changes in them brief. I developed the statistical means of quantifying changes in the spontaneous firing rates of fish olfactory neurons and have written a computer program so that this algorithm can be implemented. My approach employs cumulative slope analysis (CSA) and is partly based on the properties of renewal and Poisson stochastic processes. Changes in olfactory receptor cell activity are detected by calculating the cumulative distribution of activity before, and then during odor exposure. Excitation is seen as increase in the slope of the distribution function and suppression as a decrease in slope. Changes in slope are evaluated by calculating the empirical distribution function of the activity olfactory receptor neurons with time using local linear regression. Using estimates of the firing rate before stimulation I then determine the interval of expected values. This interval of expected values for the spontaneous activity enables detection of changes in firing rate using a non-parametric statistic. The onset, duration, and amplitude of the response are also determined. This novel method does not require one to make assumptions about the stochastic properties of spontaneous activity. My CSA program for analysis of neural activity is implemented in the S-PLUS programming environment and provides both a description of the response and graphical presentation of the data. The program is suitable for batch analysis of many experiments.

Kazalo vsebine

Ključna dokumentacijska informacija (KDI)	III
Key words documentation (KWD)	IV
Kazalo vsebine	V
Kazalo slik	VII
1 Uvod	1
2 Teoretične osnove	8
2.1 Točkovni slučajnostni proces	8
2.1.1 Grafični prikaz slučajnostnega procesa	10
2.2 Spontana aktivnost vohalne celice kot slučajnostni proces	16
2.2.1 Obnovitven proces	17
2.2.2 Poissonov proces	20
3 Metoda za zasledovanje sprememb aktivnosti	25
3.1 Izbira osnovnih lastnosti metode	28
3.1.1 Časovna opredelitev poskusa	28
3.1.2 Opis poskusnih podatkov	29
3.1.3 Izbira načina opisa aktivnosti vohalne celice	29
3.1.4 Aproksimacija obnovitvene funkcije in gostote dogodkov	32
3.1.5 Časovne in dogodkovne okolice	33
3.1.6 Porazdelitev ocen gostote akcijskih potencialov spontano aktivne vohalne celice	37
3.1.7 Kontrolni pas gostote dogodkov	40
3.1.8 Določitev vrste odziva	42
3.1.9 Določitev začetka odziva	42
3.1.10 Trajanje in jakost odziva	44
3.1.11 Približna ocena odziva vohalne celice	45
3.2 Pregledni grafični prikazi	48
3.2.1 Časovni potek odzivov – ES graf	48
3.2.2 Prostor parametrov končnih premic– ab graf	48

4	Računalniški program za analizo aktivnosti vohalnih celic	50
4.1	Opis lastnosti in uporabe programa	50
4.1.1	Predpriprava podatkov	51
4.1.2	Ogled posnetka aktivnosti	51
4.1.3	Določitev vrste, začetka, trajanja in jakosti odziva	52
5	Primeri uporabe	53
5.1	Vohalne čutilne celice ameriškega somiča	53
5.1.1	Opis poskusnih pogojev in podatkov	53
5.2	Mitralne celice zlate ribice	58
5.2.1	Opis poskusnih pogojev in podatkov	58
5.3	Mitralne celice zlate ribice	62
5.3.1	Opis poskusnih pogojev in podatkov	62
5.4	Mitralne celice tigrastega aksolotla	66
5.4.1	Opis poskusnih pogojev in podatkov	66
6	Razprava in sklepi	70
7	Povzetek	74
8	Summary	76
	Zahvala	78
	Literatura	79
	Stvarno kazalo	82
3.1	Klasifikacija: Posnetki odziva celice na dražljaj z različno koncentracijo	27
3.2	Časovna obdobja poskusa	28
3.3	Kumulativna porazdelitev skupnih potencialov, ko se celica odziva z ob- sledi	31
3.4	Kumulativna porazdelitev skupnih potencialov, ko se celica odziva s su- pragu	31
3.5	Obsevnostna funkcija spontano aktivne celice s konstantno hitrostjo sprožanja dogodkov	32
3.7	Odvisnostna funkcija sproževalne občutljivosti funkcije $N(t)$	33
3.8	Različitev optimalnega obdobja na neprekinite časovne razrede z enako širino	34
3.9	Simetrične besedne enote	36
3.10	Statistične dogodkovne celice s stalnim številom dogodkov	36
3.11	Ocena lokalne gostote dogodkov in ujilna porazdelitev	38

Kazalo slik

1.1	Časovni potek akcijskega potenciala.	2
1.2	Aktivnost vohalne celice kot točkovni proces.	3
1.3	Post-stimulus time histogram (PSTH).	4
1.4	Interspike interval histogram (ISIH) in avtokorelacijska funkcija.	5
2.1	Dva načina zapisa slučajnostnega procesa: intervali med dogodki x in časi pojavljanja dogodkov t	9
2.2	Rasterski graf pojavljanja dogodkov.	10
2.3	Kumulativna porazdelitev slučajnostnega procesa.	11
2.4	Odkloni skupnega števila dogodkov F od pričakovanega števila dogodkov.	12
2.5	PSTH za različne vrste procesov.	13
2.6	ISIH za različne vrste procesov.	14
2.7	Razsevni graf časov med dogodki.	15
2.8	Logaritem krivulje preživetja za različne procese.	16
2.9	Porazdelitve n -tih čakalnih (obnovitvenih) časov Poissonovega procesa.	21
3.1	Supresija. Posnetki odziva celice na dražljaj z različno koncentracijo.	26
3.2	Ekscitacija. Posnetki odziva celice na dražljaj z različno koncentracijo.	27
3.3	Časovna obdobja poskusa.	28
3.4	Kumulativna porazdelitev akcijskih potencialov, ko se celica odzove z <i>ekscitacijo</i>	31
3.5	Kumulativna porazdelitev akcijskih potencialov, ko se celica odzove s <i>supresijo</i>	31
3.6	Obnovitvena funkcija spontano aktivne celice s konstantno hitrostjo proženja dogodkov.	32
3.7	Odsekoma linearna aproksimacija obnovitvene funkcije $M(t)$	33
3.8	Razdelitev opazovalnega obdobja na neprekrivne časovne razrede z enako širino.	34
3.9	Simetrične časovne okolice.	35
3.10	Simetrične dogodkovne okolice s stalnim številom dogodkov.	36
3.11	Ocene lokalne gostote dogodkov in njihiva porazdelitev.	38

3.12	Porazdelitve ocen gostote dogodkov $m(t)$ za različno široke simetrične dogodkovne okolice.	39
3.13	Kontrolno območje pričakovanih ocen.	40
3.14	Ocenjevanje ekscitacije.	41
3.15	Ocenjevanje supresije.	42
3.16	Klasifikacija vrst odziva.	43
3.17	Ekscitacija: končna premica leži nad začetno premico.	45
3.18	Supresija: končna premica leži pod začetno premico.	46
3.19	Začetna (b), končna (a) in vmesna premica (c) v primeru supresije, ki ji sledi ekscitacija. Končna hitrost proženja akcijskih potencialov je podobna začetni.	47
3.20	ES graf za časovne poteke skupine celic: supresiji sledi ekscitacija.	49
3.21	Prostor parametrov končnih premic: b in a sta naklon in odrezek regresijske premice $bx + a$. Vsaka točka predstavlja odraz odziva celice na končni premici. Ob točkah so na levi oznake vrste odziva (E: ekscitacija, S: supresija, N: ni odziva; ES, SE: kombiniran odziv) in identifikacijske oznake celic.	49
5.1	S - supresija. Oznaka dražilne snovi in poskusa: c99218a3.	54
5.2	N - ni odziva. Oznaka dražilne snovi in poskusa: c99210fn.	55
5.3	S - supresija. Oznaka dražilne snovi in poskusa: c99223a2.	56
5.4	E - ekscitacija. Oznaka dražilne snovi in poskusa: c99223gn.	57
5.5	E - ekscitacija. Oznaka dražilne snovi in poskusa: 0101ax82.	58
5.6	E - ekscitacija. Oznaka dražilne snovi in poskusa: 1231aw52.	59
5.7	E - ekscitacija. Oznaka dražilne snovi in poskusa: 1231aya1.	60
5.8	SE - supresija in ekscitacija. Oznaka dražilne snovi in poskusa: 1223aya3.	61
5.9	ES odziv in skupki akcijskih potencialov. Oznaka dražilne snovi in poskusa: 1311cv02/2/1.	63
5.10	E - ekscitacija. Oznaka dražilne snovi in poskusa: 1311cv02/2/2.	64
5.11	E - ekscitacija. Oznaka dražilne snovi in poskusa: 131cv02/2/3.	65
5.12	SE - supresija in ekscitacija. Oznaka dražilne snovi in poskusa: 514a3/2.	67
5.13	E - ekscitacija. Oznaka dražilne snovi in poskusa: 4174p5/2.	68
5.14	Velika koncentracija akcijskih potencialov takoj po začetku draženja. Oznaka dražilne snovi in poskusa: 4173a5/0/3.	69

One man's signal is another man's noise

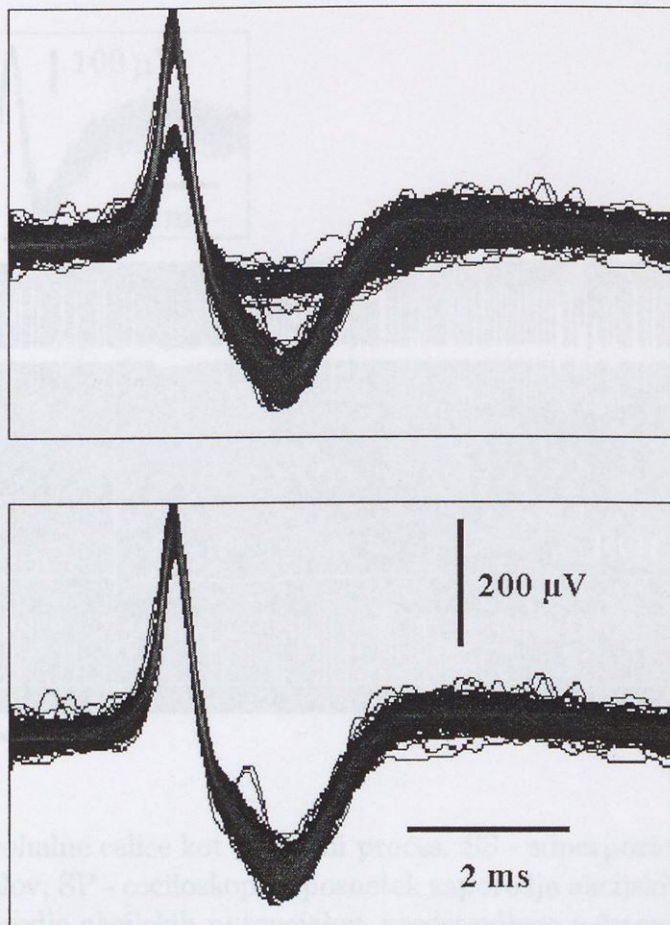
E. M. Glaser, 1976

1 UVOD

Vohalne čutilne celice rib spontano prožijo akcijske potenciale. V krajših časovnih intervalih je spontano proženje akcijskih potencialov slučajnostno, saj so časi med akcijskimi potenciali variabilni. Ker so oblike akcijskih potencialov stalne in tipične za posamezno živčno celico, informacija ni kodirana z obliko (npr. amplitudo ali trajanjem) akcijskih potencialov. Predpostavljamo, da sestavlja vohalno kodo vzorec sočasnih sprememb aktivnosti čutilnih celic. Aktivnost posamezne vohalne čutilne celice je del sporočila samo, če je vključena v celotno aktivnost sloja čutilnih celic. Ker je aktivnost posamezne celice del celotnega sporočila, je izredno pomembno da zasledimo spremembe v njeni aktivnosti – frekvenci proženja akcijskih potencialov, saj sicer ne moremo identificirati delov, ki sestavljajo celoto. Na draženje se vohalne čutilne celice odzovejo s povečanjem ali zmanjšanjem frekvence proženja akcijskih potencialov. Metoda zaznavanja sprememb spontane aktivnosti živčne celice mora torej omogočiti raziskovalcu, da zazna značilna odstopanja frekvence akcijskih potencialov od spontane aktivnosti.

Nastanek akcijskega potenciala v živčni celici je dobro opisan (Kandel s sod., 1991) in pojasnjen s Hodgkin-Huxleyevim modelom (Holden, 1976). Oblika akcijskega potenciala (Slika 1.1; iz Koce, 1999) je posledica električnih lastnosti živčne celice. Akcijski potencial traja nekaj milisekund, zato ga v primeru študija aktivnosti obravnavamo kot trenuten pojav. Največjo vrednost, ki je določljiva in jo akcijski potencial doseže kmalu po začetku, vzamemo za trenutek nastanka akcijskega potenciala.

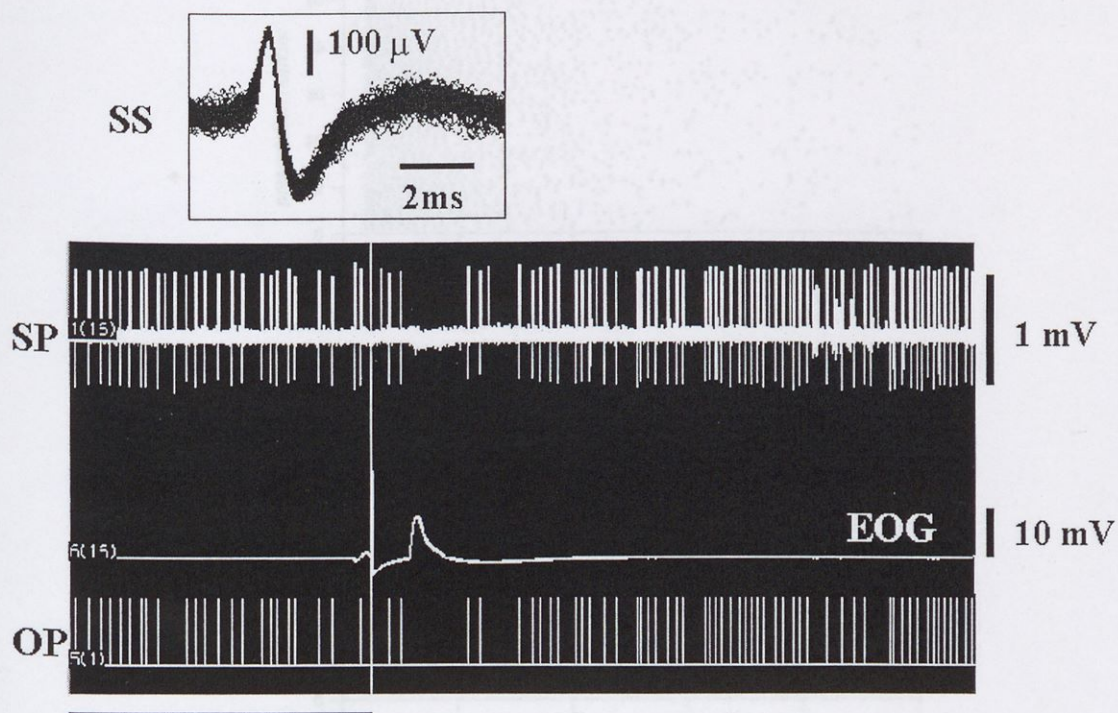
Če obravnavamo akcijske potenciale kot trenutne dogodke v času (Slika 1.2), lahko aktivnost živčne celice opišemo kot točkovni slučajnostni proces. Najenostavnejši je Poissonov proces, na katerem temelji večina analitičnih pristopov analize aktivnosti živčnih celic (Cox in Lewis, 1968; Cox in Miller, 1972; Holden, 1976; Sampath in Srinivasan, 1977). Pri bolj splošni obravnavi se izognemo privzetkom Poissonovega procesa in uporabimo splošnejši obnovitven proces (Cox in Miller, 1972; Glaser in Ruchkin, 1976). Cox in Miller (1972) naštevata vrsto lastnosti, ki nas zanimajo pri vsakem točkovnem procesu: število dogodkov v časovnem intervalu, pričakovano število dogodkov v časovnem intervalu, go-



Slika 1.1: Časovni potek akcijskega potenciala. Skupini akcijskih potencialov dveh celic (zgoraj). Zaradi različnih lastnosti (amplituda, potek) lahko v posnetku izberemo akcijske potenciale ene celice (spodaj) (iz Koce, 1999).

stoto dogodkov, čas od prejšnjega in čas do naslednjega dogodka in čas, ki je potreben da se dogodek nekajkrat pojavi. Vse te lastnosti nas zanimajo tudi pri proučevanju aktivnosti živčnih celic. Za določitev in opis teh lastnosti je opisanih več teoretičnih metod (Cox in Lewis, 1968; Glaser in Ruchkin, 1976; Tuckwell, 1988).

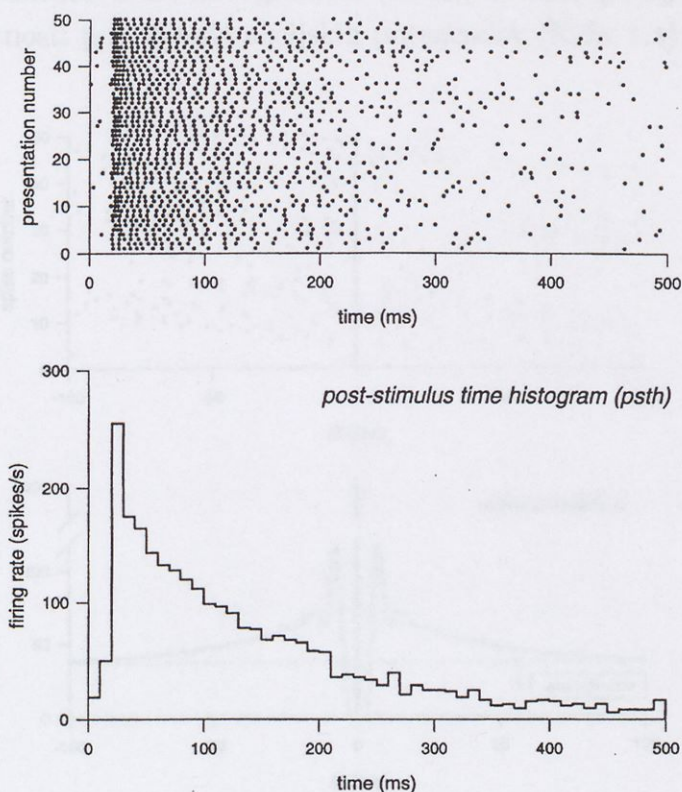
Čeprav teoretične predpostavbe v dejanskih sistemih pogosto ne držijo (Johnson, 1996), uporabljajo raziskovalci vrsto metod, ki temeljijo na teoretičnih metodah in so prilagojene eksperimentalnemu delu. Za analizo odzivnosti vohalnih živčnih celic vplivamo na celico z dražljajem, ki za nekaj časa spremeni okoliščine v katerih proces poteka. S tem pa se, v primeru odziva, spremeni tudi aktivnost celice. Tipičen poskusni posnetek je sestavljen iz vsaj treh delov: posnetkov pred, med in po draženju. V vsakem delu je aktivnost celice lahko drugačna in zaradi časovnih zamikov (npr. latenc draženja in latence odziva vohalne



Slika 1.2: Aktivnost vohalne celice kot točkovni proces. SS - superpozicija časovnih potev akcijskih potencialov; SP - osciloskopski posnetek zaporedja akcijskih potencialov; OP - poenostavljeno zaporedje akcijskih potencialov, predstavljeno s črtami v časih največje amplitude; EOG - elektro-olfaktogram (iz Koce, 1999).

celice po začetku draženja) delno prepletena. Metode skušajo raziskovalcu omogočiti primerjavo aktivnosti živčnih celic v posameznih delih. Večina statističnih metod analizira posnetek kot celoto, posamezni deli so časovno označeni in omogočajo raziskovalcu zaznati korelacijo med dražljajem in odzivom. Metode so opisane v vrsti preglednih del (Gerstein in Kiang, 1960; Moore s sod., 1966; Perkel s sod., 1967a,b; Glaser in Ruchkin, 1976; ?; Yang in Chen, 1978; Tuckwell, 1988; Brillinger, 1992; Theunissen in Miller, 1995; Johnson, 1996; Awiszus, 1997).

V analizi odzivov vohalnih živčnih celic najpogosteje uporabljajo post-stimulus ali peri-stimulus histogram (PSTH), ki je intuitiven in naraven način za povzemanje časovno razpršenega dogajanja (Slika 1.3). Aktivnost, ki jo zapišemo s časi pojavljanja zaporednih akcijskih potencialov t_i , povzamemo s PSTH tako, da razdelimo časovno os na primerno majhne časovne razrede Δt in v obliki histograma prikažemo frekvenco pojavljanja dogodkov f v razredih (Gerstein in Kiang, 1960; ?). Pogosto prikažemo s stolpci gostoto frekvence $f/\Delta t$, ki izraža hitrost proženja dogodkov na časovno enoto v izbranem

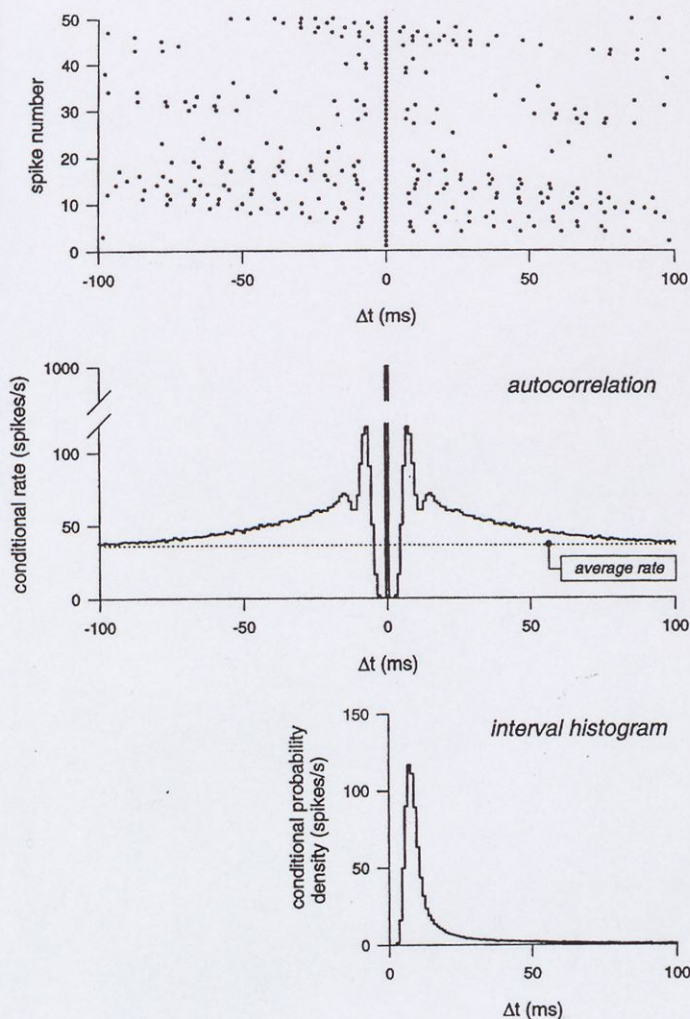


Slika 1.3: Post-stimulus time histogram (PSTH) (spodaj) in s točkami predstavljeni časi pojavljanja akcijskih potencialov glede na začetek draženja v ponovljenih poskusih (zgoraj) (iz Reike s sod., 1999).

intervalu Δt . PSTH je po svoji naravi povprečna mera aktivnosti in je močno odvisen od subjektivne izbire časovnega razreda Δt . Z uporabo PSTH lahko spregledamo pomembno informacijo o zaporedni odvisnosti intervalov med dogodki, podatke o trajanju in zamiku (latenci) odziva in podobno (Moore s sod., 1966; Schild, 1987). Kljub temu so z uporabo PSTH raziskovalci, ki ga (Reike s sod., 1999) uporabljajo od začetnih raziskav pred sedemdesetimi leti (Adrian, 1926), dognali mnoge funkcionalne odvisnosti porazdelitve odzivov od frekvenca, jakosti in trajanja dražljajev in podobno (Moore s sod., 1966). Analiza s pomočjo PSTH največkrat le vizualno primerja porazdelitev po draženju s porazdelitvijo pred draženjem in ne zahteva posebnih predpostav o spontani aktivnosti.

Drug sklop metod obravnava aktivnost živčnih celic s pomočjo časovnih intervalov med dogodki, in je primeren za analizo stacionarnih (časovno nespremenljivih) procesov (Moore s sod., 1966; Yang in Chen, 1978; Johnson, 1996). Osnova teh analiz je razdalja med zaporednimi dogodki $x_i = t_{i+1} - t_i$ (ISI - interspike interval), lahko pa tudi razdalja k -tega reda, t.j. razdalja do poljubnega k -tega naslednjega dogodka $x_i^{(k)} = t_{i+k} - t_i$.

Množico razdalj povzamemo z ISI histogramom (ISIH), iz katerega lahko razberemo nekatere sumarične lastnosti pojavljanja akcijskih potencialov (Slika 1.4). ISIH podaja ver-



Slika 1.4: Interspike interval histogram (ISIH, spodaj) in avtokorelacijska funkcija (sredina). Za pripravo teh diagramov poravnamo vse dogodke enega poskusa glede na posamezne dogodke (zgoraj) (iz Reike s sod., 1999).

jetnost, da se bo naslednji dogodek pojavil nekaj časa za poljubnim opaženim dogodkom. Pri običajnih predpostavkah obnovitvenega procesa daje porazdelitev razdalj prvega reda popoln opis procesa (Perkel s sod., 1967a; Glaser in Ruchkin, 1976), saj je ISIH ocena gostote porazdelitve obnovitvenega časa (Cox in Lewis, 1968; Cox in Miller, 1972). Za posebne vrste obnovitvenih procesov (najpogosteje Poissonovih), ima ISIH pričakovano obliko (eksponentno). Odstopanja od pričakovanih lastnosti – npr. koeficienta variacije (Cox in Miller, 1972; Johnson, 1996; Feng in Brown, 1999, 2000) – pripišemo odstopanjem

opazovanega pojava od stacionarnega procesa: odzivu živčne celice na draženje, pojavljanju skupkov akcijskih potencialov (bursts), zaporedni odvisnosti dogodkov, periodičnosti proženja dogodkov in podobno (Dayhoff in Gerstein, 1983; Kaneoke in Vitek, 1996). V primeru predpostavljenih lastnosti slučajnostnega procesa lahko opišemo njegove lastnosti z ocenami parametrov porazdelitve obnovitvenega časa (Fienberg, 1974; Iyengar in Liao, 1997; Suzuki s sod., 2000). Awiszus (1988) predlaga opis s pomočjo funkcije intervalov med dogodki IIF (interspike interval function).

Različne posebnosti zaporedij dogodkov učinkovito prikaže sklopljena porazdelitev intervalov med dogodki (joint interval distribution, JID), ki jo grafično prikažemo kot JIS (joint interval scattergram) ali pa kot JIH (joint interval histogram) (Rodieck s sod., 1962). JID prikaže odvisnost dolžin zaporednih intervalov med dogodki. Pri različnih oblikah zaporedne odvisnosti pojavljanja (skupki, periodičnost) opazimo v grafih vzorce, ki jih pri neodvisnosti dogodkov ni (Siebler s sod., 1992; Kaluzny in Tarnecki, 1993; Rhoades s sod., 1996; Longtin in Racicot, 1997; Tam, 1998, 1999; Fitzurka in Tam, 1999).

Statistično tendenco periodičnega proženja akcijskih potencialov učinkovito razkrijemo z avtokorelogramom (Gerstein in Kiang, 1960; Perkel s sod., 1967a). Avtokorelacijski histogram je v primeru točkovnih procesov vsota ISI histogramov poljubnega reda (Slika 1.4). Avtokorelacijska funkcija izraža hitrost proženja v času $t + \Delta t$, pri pogoju, da se je nek dogodek pojavil v času t (Reike s sod., 1999). Limitna vrednost avtokorelacijske funkcije je enaka povprečni hitrosti proženja dogodkov, vrhovi pa kažejo periodičnost zaporedja dogodkov t.j. pogost interval med dogodki ali skupinami dogodkov (Perkel s sod., 1967a). Periodičnost proženja dogodkov proučujejo tudi s spektralno in Fourierjevo analizo (Glaser in Ruchkin, 1976; Lange in Hartline, 1979; Tsau in Chen, 1989).

Sočasnost proženja akcijskih potencialov dveh ali več živčnih celic in odzivov celice na zaporedno draženje opisujemo z navzkrižno korelacijo (cross-correlation). Metoda je podobna avtokorelacijski, le da v tem primeru izražamo hitrost proženja drugega pojava (odziv) v času $t + \Delta t$, če se je v prvem pojavu (draženje) dogodek pojavil v času t (Perkel s sod., 1967b; Glaser in Ruchkin, 1976; glej tudi Shao in Chen, 1987; Osborn in Poppele, 1988, 1989; Tsau in Chen, 1989; Amjad s sod., 1989; Balis s sod., 1994). Na probleme pri interpretaciji navzkrižnih korelogramov opozarja Brody (1999a,b). Koreliranost odzivov opisujejo tudi z JPSTH (joint post stimulus histogram) (Palm s sod., 1988; Ito in Tsuji, 1997), ki združuje časovne poteke dveh primerjanih pojavov.

Awiszus v svojem pregledu (Awiszus, 1997) komentira uporabnost kumulativne vsote PSTH (CUSUM) (Ellaway, 1978; Davey s sod., 1986). CUSUM je kumulativna vsota PST histograma, ki jo primerjamo z neko vnaprej pričakovano kumulativno vsoto. Navadno uporabljamo vsoto enakomerne porazdelitve, ki ima gostoto enako povprečni fre-

kvenci spontanega proženja dogodkov. CUSUM diagram omogoča, da iz odklonov od pričakovane vrednosti sklepamo na spremembo hitrosti proženja akcijskih potencialov v vnaprej izbranih časovnih razredih PST histograma. IISP (interspike superposition plot; Awiszus, 1988, 1989) primerja porazdelitev aktivnosti med draženjem s pričakovano porazdelitvijo določeno iz spontane aktivnosti pred draženjem (Awiszus, 1993a,b). CUSUM uporabijo tudi za določanje skupkov (Lindsey s sod., 1994; Xu s sod., 1999).

Aktivnost posamezne živčne celice lahko ocenimo na podlagi enega poskusa. Povprečne hitrosti proženja v majhni časovni okolici ocenimo tako, da z uporabo primernih uteži (konvolucija točkovnega procesa s pravokotnim, Gaussovimi ali trikotnim jedrom) preštejemo dogodke (Sziucs, 1998; Nawrot s sod., 1999). Sorodna metoda RIPP (rate of inhomogenous Poisson process) uporablja časovno spremenljive okolice z vnaprej določenim številom dogodkov (Awiszus, 1992).

Za ugotavljanje sprememb spontane aktivnosti vohalnih živčnih celic imajo zgornje metode omejeno uporabnost. Zaradi lastnosti pojava imamo navadno opravka z eno ponovitvijo poskusa na isti celici. Skupno število akcijskih potencialov je navadno premajhno za uporabo PSTH s primerno majhnim časovnim razredom. Ker ne poznamo začetka odziva, se pri postavljanju mej razredov lahko zgodi, da se v razredu, ki vsebuje trenutek začetka odziva, združijo akcijski potenciali spontane aktivnosti in odziva. S tem se zabrišeta tako trenutek začetka odziva kot tudi jakost odziva, ki je vsaj deloma kodirana s frekvenco proženja. To onemogoči uporabo metod, ki temeljijo na PSTH, npr. CUSUM, v njihovi izvorni obliki.

Naš cilj je bil sestaviti enostavno metodo, ki bo omogočala določiti bistvene lastnosti odziva vohalne živčne celice: vrsto odziva (ekscitacija/supresija), zamik (latenco) odziva ter jakost in trajanje odziva. Metoda temelji na analizi naklona kumulativne porazdelitvene funkcije. Iz okolic z izbranim številom akcijskih potencialov določamo krivuljo trenutne hitrosti proženja v času posameznega akcijskega potenciala. Na podlagi porazdelitve ocenjenih hitrosti proženja pred draženjem določimo pričakovan interval hitrosti proženja. Za vsak akcijski potencial po začetku draženja lahko preverimo, ali je ocenjena hitrost proženja nepričakovano velika ali majhna – iz odstopanja od pričakovanih vrednosti tudi določimo vrsto odziva in njegove parametre. Grafično podprta analiza povezuje analitične rezultate z osnovnimi podatki. Predlagamo tudi nekaj grafičnih prikazov, s katerimi lahko grafično povzamemo odzive večjega števila vohalnih celic na dražljaje.

Matematiki so kot Francozi: karkoli jim poveš, prevedejo v svoj jezik in potem to pomeni nekaj čisto drugega

J. W. von Göthe, 1749-1832

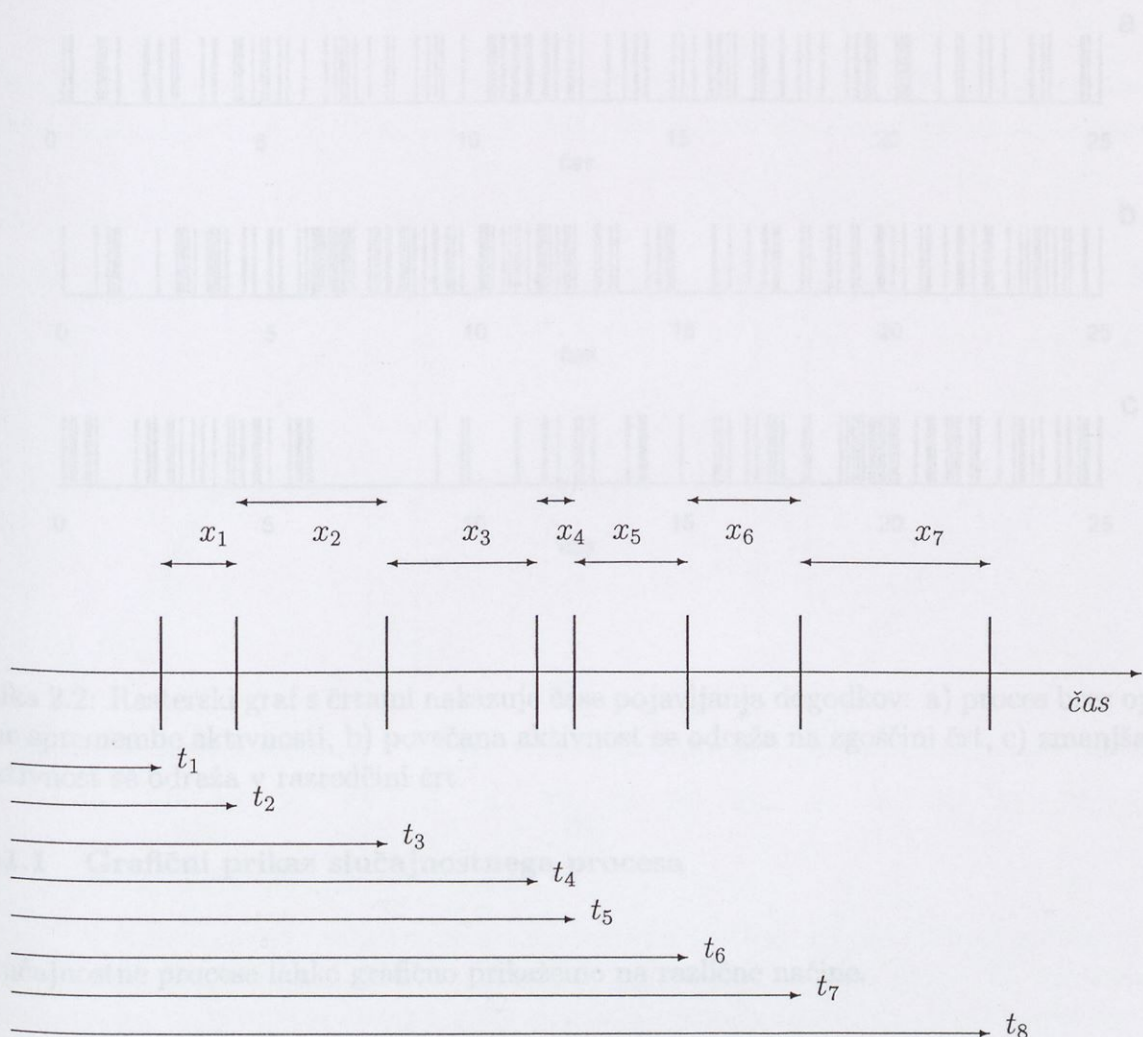
2 TEORETIČNE OSNOVE

V odzivu čutilnih celic na kemične dražljaje je najpomembnejša informacija skrita v časovnem pojavljanju akcijskih potencialov. Dogodki – akcijski potenciali – se med spontano aktivnostjo čutilnih celic pojavljajo v času slučajno, zato lahko delovanje takih celic opišemo kot točkovni slučajnostni proces. Najenostavnejši točkovni slučajnostni proces, ki predpostavlja neodvisnost in enakomernost pojavljanja dogodkov, je Poissonov proces. Med draženjem se spremeni pogostost pojavljanja dogodkov, predpostavimo pa lahko, da so tudi ti dogodki med seboj časovno neodvisni. Take sisteme lahko opišemo z regularnimi obnovitvenimi procesi - slučajnostnimi procesi, ki imajo lahko časovno spremenljivo pogostost pojavljanja dogodkov.

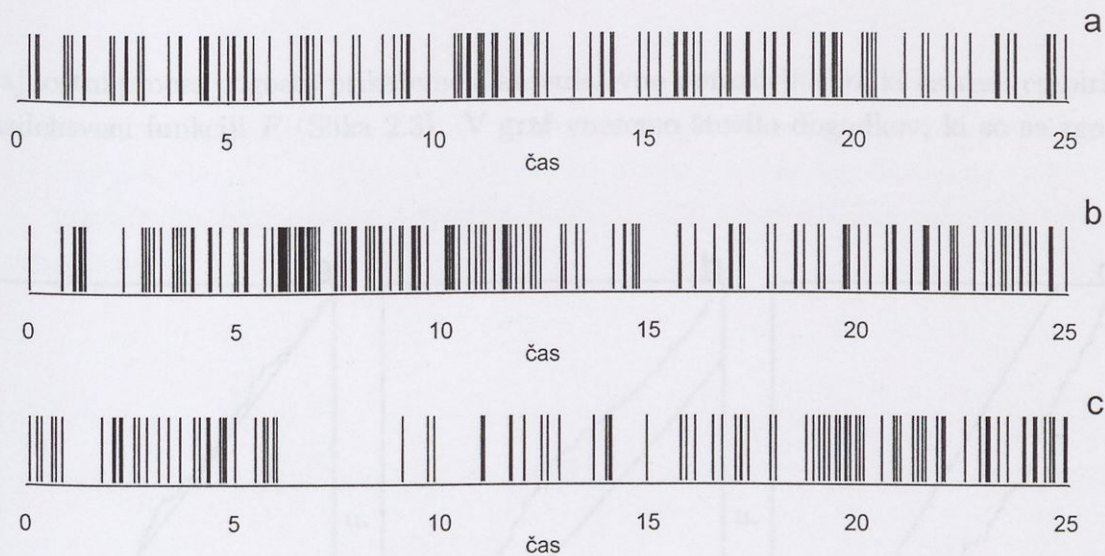
2.1 TOČKOVNI SLUČAJNOSTNI PROCES

Točkovni slučajnostni procesi obravnavajo pojavljanje slučajnih dogodkov v prostoru in času v primeru, ko dogodke lahko ločimo med seboj glede na prostorsko ali časovno koordinato pojavljanja dogodka. V našem primeru imamo opravka s časovnim točkovnim slučajnostnim procesom. Ne zanima nas časovni potek napetostnih sprememb v posameznem akcijskem potencialu, ampak le trenutek, v katerem se akcijski potencial pojavi (Slika 1.2). Kot trenutek pojavljanja vzamemo največjo vrednost akcijskega potenciala. Časovni slučajnostni proces opišemo lahko na dva enakovredna načina (Slika 2.1):

1. kot zaporedje časov pojavljanja dogodkov $t_1 < t_2 < \dots < t_N$,
2. kot zaporedje časovnih intervalov med zaporednimi dogodki x_1, x_2, \dots, x_{N-1} , pri čemer je $x_i = t_{i+1} - t_i$ za $i = 1, 2, \dots, N - 1$.



Slika 2.1: Dva načina zapisa slučajnostnega procesa: intervali med dogodki x in časi pojavljanja dogodkov t .



Slika 2.2: Rasterski graf s črtami nakazuje čase pojavljanja dogodkov: a) proces brez opazne spremembe aktivnosti, b) povečana aktivnost se odraža na zgoščini črt, c) zmanjšana aktivnost se odraža v razredčeni črt.

2.1.1 Grafični prikaz slučajnostnega procesa

Slučajnostne procese lahko grafično prikažemo na različne načine.

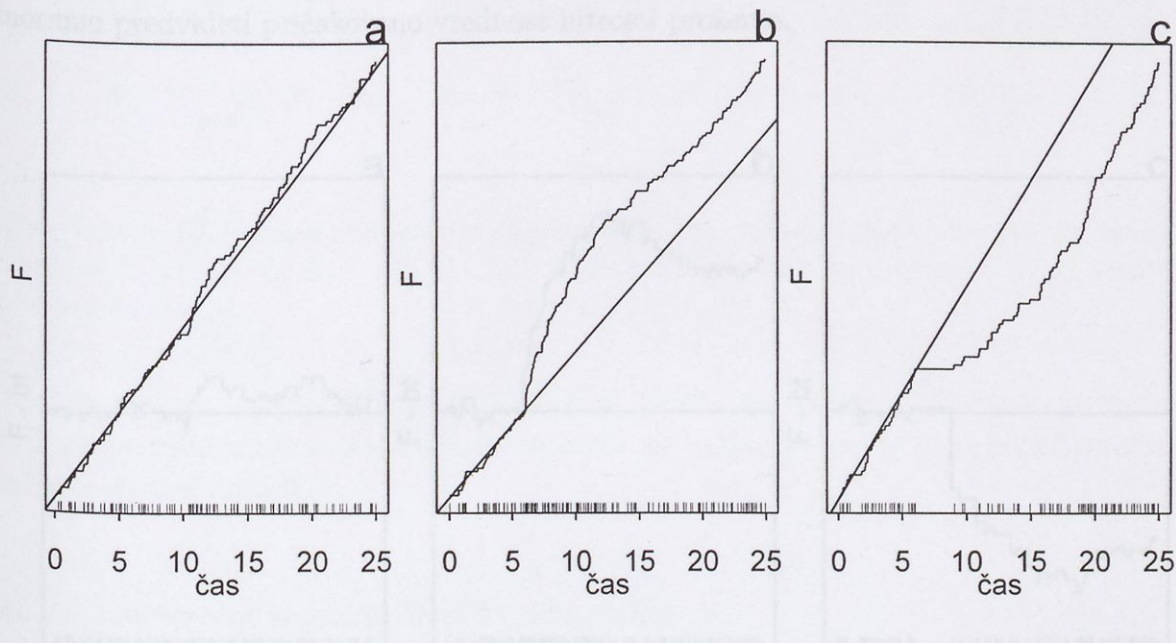
2.1.1.1 Prikaz časovnega poteka

Najenostavnejši je osnovni prikaz s sliko časovnega pojavljanja dogodkov ali rasterski graf, ki je enak poenostavljenemu digitaliziranemu zapisu akcijskih potencialov na celici (Slika 2.2, OP). Gostota črt, ki prikazujejo čase pojavljanja dogodkov, je neposredno povezana s hitrostjo proženja dogodkov, ki jo lahko za poljubno obdobje opazovanja t ocenimo kot razmerje števila dogodkov N v opazovanem časovnem intervalu in trajanjem opazovanja t .

Na sliki 2.2 so z rasterskim grafom prikazane tri vrste procesov, ki se pojavljajo v analizi odzivov vohalnih celic: pojav s časovno ne preveč različno aktivnostjo (a), pojav s povečano aktivnostjo v času 5 - 10 (b) in pojav z zmanjšano aktivnostjo v času 5 - 10 (c). Rasterski graf pogosto dodamo drugim vrstam grafov, saj neposredno prikazuje dogajanje.

2.1.1.2 Kumulativna porazdelitev ali empirična porazdelitvena funkcija

Slučajnostni proces pogosto prikažemo s kumulativno porazdelitvijo, ki ustreza empirični porazdelitveni funkciji F (Slika 2.3). V graf vnesemo število dogodkov, ki so se zgodili

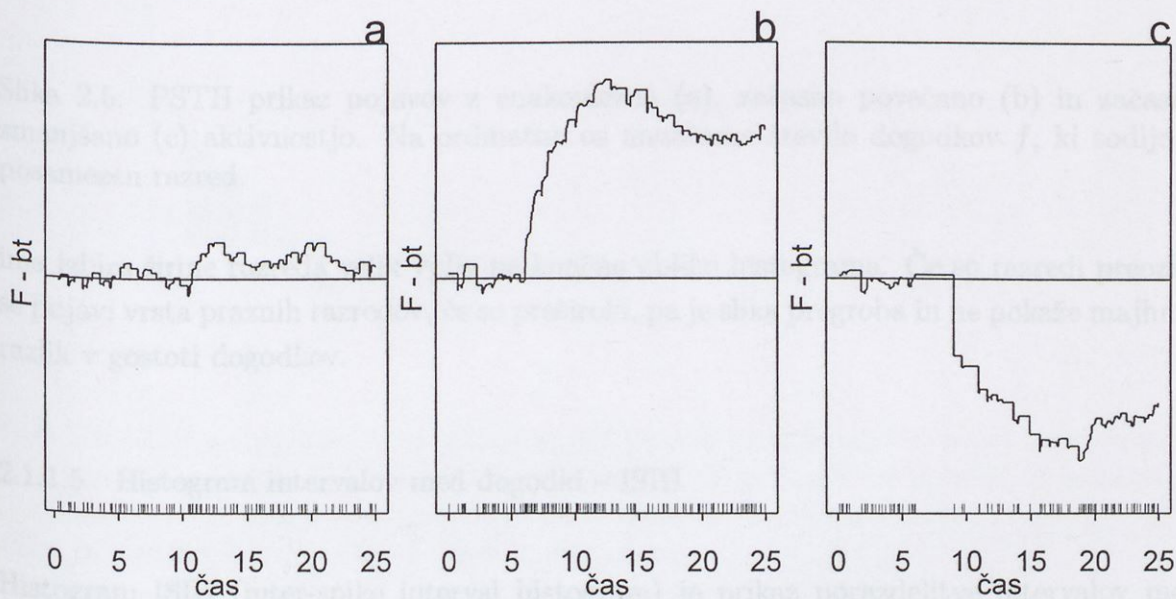


Slika 2.3: Kumulativna porazdelitev slučajnostnega procesa. a) proces brez opazne spremembe aktivnosti. Povečana aktivnost se odraža v večji strmini grafa (b), zmanjšana aktivnost pa v zmanjšani strmini grafa porazdelitvene funkcije (c). F - skupno število dogodkov do časa t .

pred določenim časom t . Na ordinato rišemo rang ali zaporedno številko i , ki ustreza dogodku v času t_i . Na ta način dobimo stopničasto funkcijo, ki se ob vsakem dogodku dvigne za 1. Če je porazdelitev dogodkov enakomerna, je porazdelitvena funkcija linearna. Razdalje med dogodki so približno enake, ob vsakem dogodku pa se pomaknemo v grafu za 1 više. Smerni koeficient porazdelitvene funkcije je enak hitrosti proženja dogodkov in ga lahko ocenimo z $b = N/t$, pri čemer je N število dogodkov v časovnem intervalu t . Spremembo hitrosti proženja opazimo kot odmik krivulje empirične porazdelitvene funkcije od pričakovane linearne porazdelitvene funkcije. Krivulja je v primeru povečane hitrosti proženja odmaknjena navzgor, v primeru zmanjšane hitrosti proženja pa je odmaknjena navzdol. Sprememba strmine grafa pokaže tudi majhne spremembe hitrosti proženja dogodkov v času opazovanja. Približno linearni odseki krivulje kažejo na konstantno hitrost proženja. Naklon premice, ki povezuje dve sosednji točki, je povprečno število dogodkov v enoti časa za to obdobje (Cox in Lewis, 1968).

2.1.1.3 Odkloni kumulativne porazdelitve

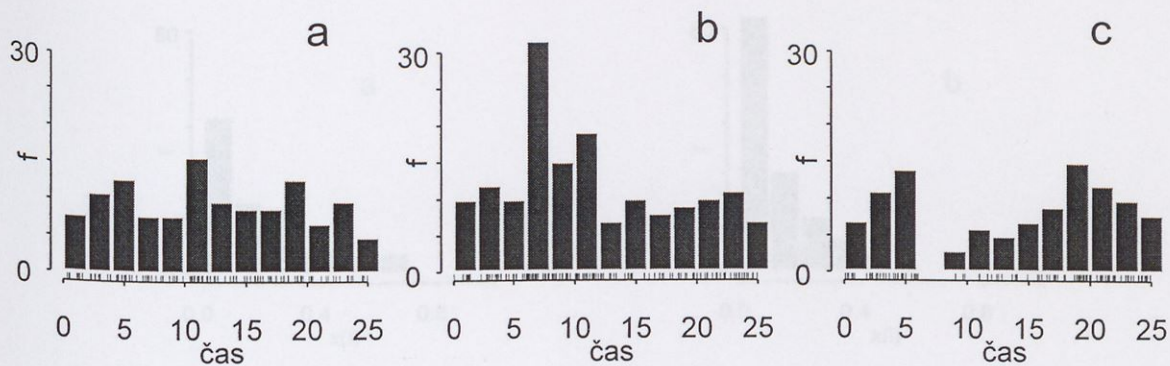
Grafični prikaz, ki je enakovreden prikazu empirične porazdelitvene funkcije, prikazuje razliko empirične kumulativne porazdelitve in pričakovane linearne porazdelitve z naklo-
 nom b (Slika 2.4, str. 12). Spremembo hitrosti proženja opazimo kot odklik od vodoravne
 črte, ki predstavlja pričakovano hitrost proženja b . Za konstrukcijo grafičnega prikaza
 moramo predvideti pričakovano vrednost hitrosti proženja.



Slika 2.4: Odkloni skupnega števila dogodkov F od pričakovanega števila dogodkov. (a) proces brez opazne spremembe aktivnosti. Povečana aktivnost se odraža na dvigu grafa (b), zmanjšana aktivnost pa na spustu grafa (c) glede na pričakovano aktivnost (vodoravna črta).

2.1.1.4 Post stimulus histogram – PSTH

Gostoto dogodkov lahko prikažemo s PSTH (post stimulus histogram), ki prikazuje število dogodkov v časovno določenih razredih (Slika 2.5, str. 13). Z njim skušamo povzeti dogajanje in iz podrobne slike posameznih dogodkov izluščiti splošnejši vzorec. Kljub vrsti pomanjkljivosti so PSTH enostavno razumljivi in v neurobiologiji splošno uporabljeni. PSTH združi vse dogodke v časovnih razredih in s tem zabiše nekatere lastnosti podatkov. Ker je število dogodkov, ki padejo v posamezen razred odvisno od izbrane širine razreda,



Slika 2.5: PSTH prikaz pojavov z enakomerno (a), začasno povečano (b) in začasno zmanjšano (c) aktivnostjo. Na ordinatno os nanašamo število dogodkov f , ki sodijo v posamezen razred.

ima izbira širine razreda velik vpliv na končno obliko histograma. Če so razredi preozki, se pojavi vrsta praznih razredov, če so preširoki, pa je slika pregroba in ne pokaže majhnih razlik v gostoti dogodkov.

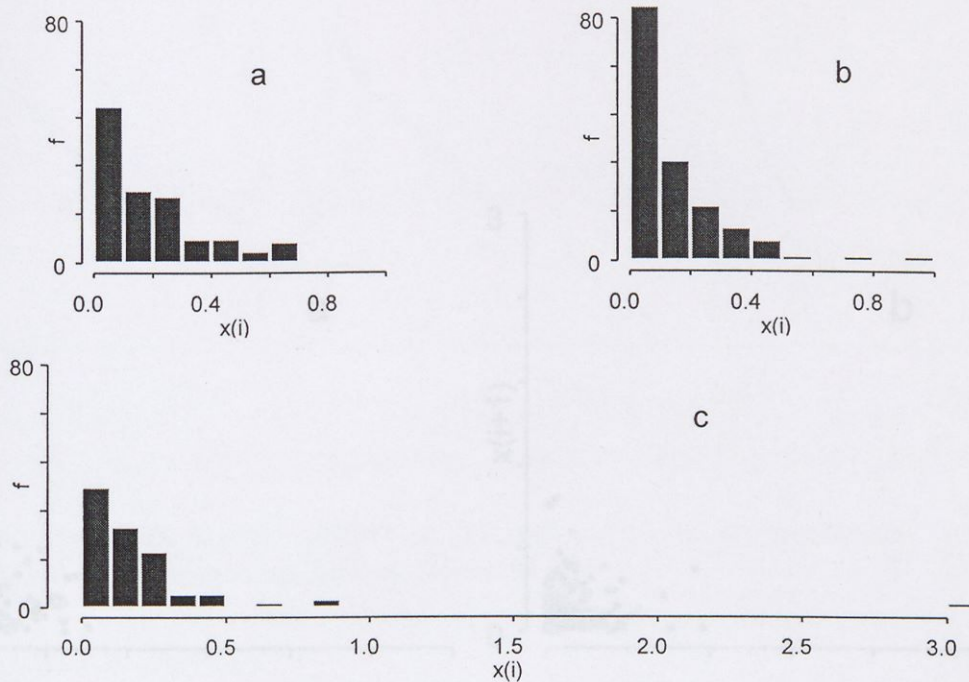
2.1.1.5 Histogram intervalov med dogodki – ISIH

Histogram ISIH (inter-spike interval histogram) je prikaz porazdelitve intervalov med zaporednimi dogodki (Slika 2.6, str. 14).

Histogram primerjamo s pričakovanim histogramom, ki je odvisen od naših predpostavk. Najpogosteje privzamemo, da je proces Poissonov, pri čemer je pričakovana porazdelitev intervalov med dogodki eksponentna. Odvisnost pričakovane oblike histograma od privzetih vrednosti otežuje interpretacijo oblike opazovanega ISI histograma. Pri zelo velikih povečanjih hitrosti proženja dogodkov opazimo presenetljivo veliko kratkih intervalov (Slika 2.6b). V primeru zmanjšane hitrosti proženja dogodkov opazimo nekaj presenetljivo dolgih intervalov (Slika 2.6c).

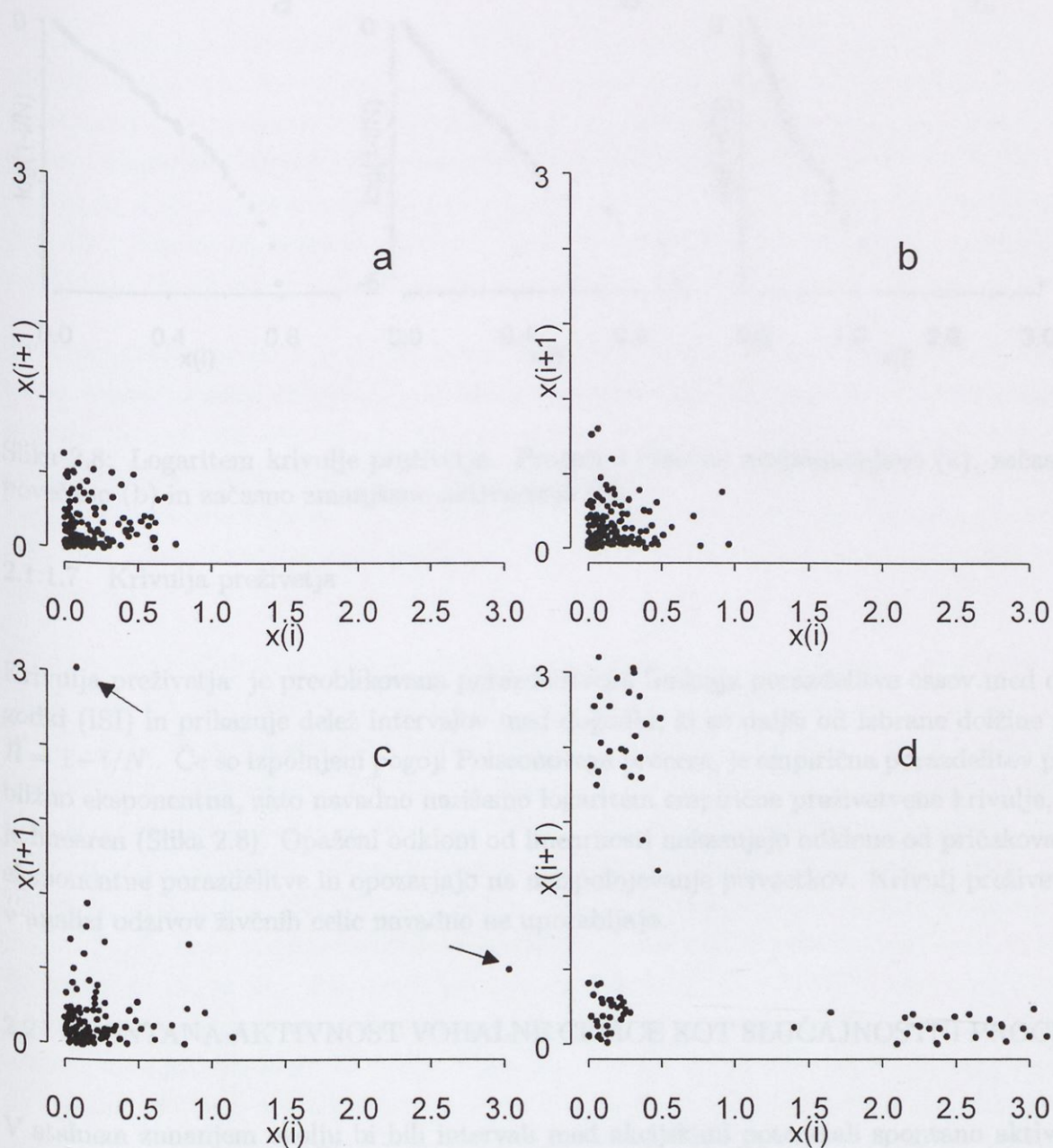
2.1.1.6 Prikaz parov zaporednih intervalov med dogodki

Pogosto nas zanima, ali sta čas od prejšnjega dogodka in čas do naslednjega dogodka neodvisna. V takem primeru narišemo razsevni grafikon, pri čemer za dogodek v času t_i rišemo čas do naslednjega dogodka $x_{i+1} = t_{i+1} - t_i$ glede na čas do prejšnjega dogodka

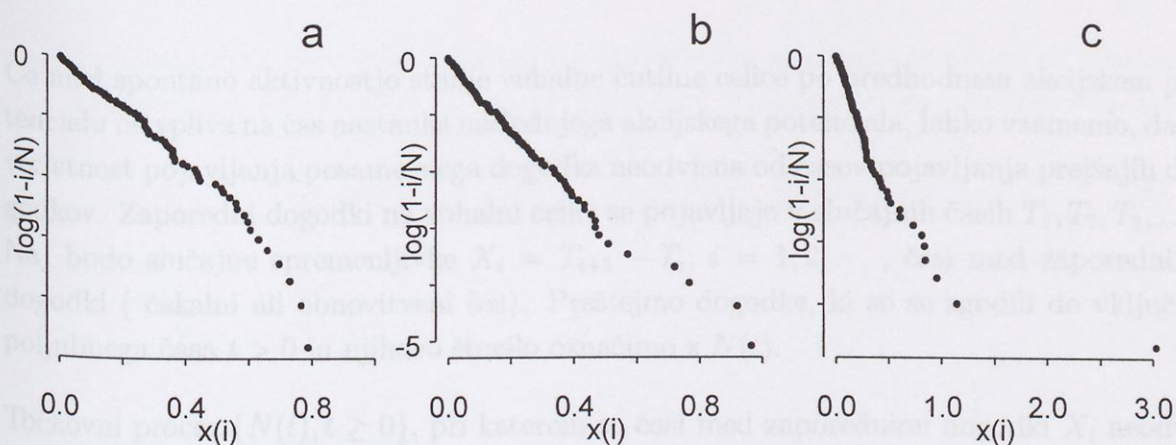


Slika 2.6: ISIH za različne vrste procesov, pri katerih se aktivnost s časom ne spreminja (a), se začasno poveča (b) in začasno zmanjša (c). V primeru (c) je eden od intervalov bistveno daljši od drugih, v primeru (b) pa je razred z majhnimi intervali številnejši. $x(i)$ - čas do naslednjega dogodka; f - število dogodkov.

$x_i = t_i - t_{i-1}$ (Slika 2.7, str. 15). V takem grafu ne vidimo posameznih dogodkov na časovni osi. V primeru velike koreliranosti se točke zgostijo na glavni diagonali, sicer pa so raztresene po prvem kvadrantu z robnima porazdelitvama, ki sta enakovredni ISI histogramu. V primeru povečane aktivnosti se točke gostijo ob koordinatnem izhodišču (primerjaj primera a in b v Sliki 2.7). V primeru zmanjšane hitrosti proženja dogodkov opazimo oddaljene točke (Slika 2.7c), ki ustrezajo dogodkom z dolgim časom do naslednjega dogodka. Časa takih dogodkov ne moremo neposredno odčitati iz grafa. V analizi odzivov živčnih celic je na tej osnovi zgrajen grafični prikaz znan kot JISI (joint interspike interval).



Slika 2.7: Razsevni graf časa do prejšnjega dogodka – $x(i)$ in časa do naslednjega dogodka – $x(i+1)$. Procesi s časovno nespremenjeno (a), začasno povečano (b) in začasno zmanjšano aktivnostjo (c) – s puščicama sta označeni točki, ki ustrezata dolgemu intervalu v času zmanjšanja aktivnosti. d) proces s skupki dogodkov.



Slika 2.8: Logaritem krivulje preživetja. Proces s časovno nespremenjeno (a), začasno povečano (b) in začasno zmanjšano aktivnostjo (c).

2.1.1.7 Krivulja preživetja

Krivulja preživetja je preoblikovana porazdelitvena funkcija porazdelitve časov med dogodki (ISI) in prikazuje delež intervalov med dogodki, ki so daljši od izbrane dolžine x_i : $R = 1 - i/N$. Če so izpolnjeni pogoji Poissonovega procesa, je empirična porazdelitev približno eksponentna, zato navadno narišemo logaritem empirične preživetvene krivulje, ki je linearen (Slika 2.8). Opaženi odkloni od linearnosti nakazujejo odklone od pričakovane eksponentne porazdelitve in opozarjajo na neizpolnjevanje privzetkov. Krivulj preživetja v analizi odzivov živčnih celic navadno ne uporabljajo.

2.2 SPONTANA AKTIVNOST VOHALNE CELICE KOT SLUČAJNOSTNI PROCES

V stalnem zunanem okolju bi bili intervali med akcijskimi potenciali spontano aktivne vohalne celice enaki; lahko govorimo o "spontani frekvenci stalnega okolja". Ker se tudi brez draženja zunanje okolje vohalne celice neprestano in slučajno spreminja, so akcijski potenciali razporejeni statistično okoli "spontane frekvence stalnega okolja". Smatramo lahko, da so časi med akcijskimi potenciali spontano aktivne vohalne celice slučajni (glej Tuckwell, 1988, str. 112). Aktivnost vohalne celice, ki je zaporedje akcijskih potencialov, je v splošnem kompleksna. Zaradi refraktarne periode živčne celice ne morejo sprožiti dveh akcijskih potencialov hkrati. Z nekaterimi privzetimi poenostavitvami pa jo lahko obravnavamo z uveljavljenimi modeli za obravnavo slučajnostnih procesov.

2.2.1 Obnovitven proces

Če med spontano aktivnostjo stanje vohalne čutilne celice po predhodnem akcijskem potencialu ne vpliva na čas nastanka naslednjega akcijskega potenciala, lahko vzamemo, da je verjetnost pojavljanja posameznega dogodka neodvisna od časov pojavljanja prejšnjih dogodkov. Zaporedni dogodki na vohalni celici se pojavljajo v slučajnih časih T_1, T_2, T_3, \dots . Naj bodo slučajne spremenljivke $X_i = T_{i+1} - T_i$, $i = 1, 2, \dots$, časi med zaporednimi dogodki (čakalni ali obnovitveni čas). Preštejmo dogodke, ki so se zgodili do vključno poljubnega časa $t > 0$ in njihovo število označimo z $N(t)$.

Točkovni proces $\{N(t), t \geq 0\}$, pri katerem so časi med zaporednimi dogodki X_i neodvisni in enako porazdeljeni (*iid*), imenujemo *obnovitven proces*. Dogodkom obnovitvenega procesa rečemo tudi obnovitve, čakalnim časom pa obnovitveni časi. Če se značilnosti slučajnostnega procesa ohranjajo v enako dolgih časovnih intervalih, ne glede na njihovo lego, je proces *stacionaren*. Pri stacionarnih procesih lahko poljubno izberemo časovno izhodišče. Zaradi enostavnosti postavimo časovno izhodišče v čas prvega dogodka, tako da je $t_1 = 0$.

V omenjenih slučajnih spremenljivkah lahko prepoznamo X_i kot čase med akcijskimi potenciali ali ISI (interspike intervale). Čase pojavljanja akcijskih potencialov prepoznamo kot T_i , $N(t)$ pa je kumulativno število akcijskih potencialov do časa t in ga imenujemo kumulativna porazdelitev. Zaradi privzete neodvisnosti in enake porazdeljenosti časov med zaporednimi dogodki X_i so verjetnostne lastnosti z obnovitvenim procesom opisane zaporedja akcijskih potencialov povsem določene s porazdelitveno funkcijo časov med zaporednimi dogodki (ISI) $F(t) = F_X(t) = P\{X_1 \leq t\}$ za $t > 0$ ali z gostoto porazdelitve $f(t) = f_X(t)$, ki jo ocenimo z ISIH. Porazdelitev intervalov X je lahko poljubna. Zaradi enostavnosti imajo posebno mesto gama porazdelitve $f(t) = \lambda(\lambda t)^{r-1} \exp(-\lambda t) / \Gamma(r)$ s povprečno hitrostjo proženja dogodkov λ in obliko r . Pri $r = 1$ je $f(t) = \lambda \exp(-\lambda t)$, t.j. eksponentna porazdelitev. Če je $r > 1$ ima porazdelitev gama ničlo pri $t = 0$, kar pomeni, da čakalni čas med dogodkoma ne more biti enak 0. Ker je med dvema akcijskima potencialoma vedno minimalen čas, najmanj refraktarna perioda, se zdi gama porazdelitev zelo primerna za opis časov med akcijskimi potenciali (Glaser in Ruchkin, 1976).

2.2.1.1 Lastnosti obnovitvenih procesov

1. Kot vse točkovne procese, lahko tudi obnovitven proces opišemo z enim od zaporedij spremenljivk $\{T_i\}$ in $\{X_i\}$ ali pa s funkcijo $N(t)$. Med opisi obstajajo preproste zveze

$$N(t) < k \iff T_k > t, \quad k = 1, 2, \dots \quad (2.1)$$

in

$$T_k = X_1 + X_2 + \dots + X_k, \quad k = 1, 2, \dots$$

2. Zaradi (2.1) lahko izrazimo

$$P\{N(t) < k\} = P\{T_k > t\} = 1 - F_k(t).$$

Ker po (2.1) velja

$$N(t) = k \iff T_k \leq t < T_{k+1} \quad (2.7)$$

je

$$\begin{aligned} P\{N(t) = k\} &= P\{T_k \leq t\} - P\{T_{k+1} < t\} \\ &= F_k(t) - F_{k+1}(t), \end{aligned} \quad (2.2)$$

pri čemer je $F_k(t)$ porazdelitvena funkcija spremenljivke T_k in $F_0(t) = 1$.

3. *Obnovitvena gostota* dogodkov je definirana kot gostota verjetnosti obnovitve v intervalu $(t, t + \Delta t]$

$$m(t) = \lim_{\Delta t \rightarrow 0} \frac{P\{\text{dogodek v } (t, t + \Delta t]\}}{\Delta t}, \quad (2.3)$$

tako da je verjetnost, da se nek dogodek zgodi v intervalu $(t, t + \Delta t]$ enaka $m(t)\Delta t$.

4. Definirajmo *obnovitveno funkcijo* $M(t)$ kot povprečno število dogodkov na intervalu $(0, t]$

$$M(t) = E[N(t)]. \quad (2.4)$$

Obnovitvena gostota izraža hitrosti proženja v času t

$$m(t) = dM(t)/dt. \quad (2.5)$$

Ker je verjetnost, da se k -ta obnovitev zgodi v intervalu $(t, t + \Delta t]$ za dovolj majhne Δt enaka $f_k(t)\Delta t$, $m(t)$ pa verjetnost za obnovitev v tem intervalu ne glede na zaporednost obnovitve, lahko obnovitveno gostoto izrazimo tudi kot

$$m(t) = \sum_{k=1}^{\infty} f_k(t), \quad (2.6)$$

kjer je $f_k(t)$ gostota verjetnosti T_k . Obnovitveno gostoto $m(t)$ v tej obliki imenujemo *avtokorelacijska funkcija* (Gerstein in Kiang, 1960). Za majhne čase t je oblika $m(t)$ je odvisna od gostote verjetnosti $f(t)$. Če je $f(t)$ eksponentna, $f(t) = \lambda \exp^{-\lambda t}$, je obnovitvena gostota konstantna $m(t) = \lambda$ (glej Poissonov proces, str. 20). Če je $f(t)$ skoncentrirana okoli povprečne vrednosti $E[X] = \mu$, ima $m(t)$ vrhove blizu $\mu, 2\mu, 3\mu, \dots$. Višina vrhov pada z rastočim t proti limitni vrednosti $1/E[X]$: $\lim_{t \rightarrow \infty} m(t) = 1/\mu$ (Cox in Miller, 1972).

5. Med porazdelitvenimi funkcijami časov obnovitve T_k velja rekurzivna zveza

$$F_k(t) = \int_0^{\infty} F_{k-1}(t-x)f(x)dx, \quad F_0(t) = 1, \quad k = 1, 2, \dots \quad (2.7)$$

Obnovitveno funkcijo $M(t)$ lahko zapišemo kot vsoto porazdelitvenih funkcij T_k :

$$M(t) = \sum_{k=1}^{\infty} F_k(t), \quad (2.8)$$

$$\begin{aligned} &= F(t) + \sum_{k=1}^{\infty} F_{k+1}(t), \\ &= F(t) + \int_0^{\infty} M(t-x)f(x)dx. \end{aligned} \quad (2.9)$$

pri čemer je $F(t) = F_X(t) = F_1(t)$. Zadnjo obliko (2.8) imenujemo *osnovna obnovitvena enačba* (Trivedi, 1982).

6. Zaradi (2.5) velja tako imenovana *obnovitvena enačba* tudi za obnovitveno gostoto

$$\begin{aligned} m(t) &= f(t) + \sum_{k=1}^{\infty} f_{k+1}(t), \\ &= f(t) + \int_0^{\infty} m(t-x)f(x)dx. \end{aligned} \quad (2.10)$$

7. Če je pričakovana vrednost čakalnega časa $E[X] = \mu$ in njegova varianca $Var[X] = \sigma^2$, je $N(t)$ z rastočim t asimptotično normalno porazdeljena, pri čemer je $Var[N(t)]/E[N(t)] = \sigma^2/\mu^2$.

2.2.2 Poissonov proces

Proces, v katerem je verjetnost pojavljanja posameznega dogodka v majhnem časovnem intervalu Δt sorazmerna dolžini tega intervala in je neodvisna od časov pojavljanja prejšnjih dogodkov imenujemo Poissonov proces. Vzemimo zaporedje točkovnih dogodkov, ki se godijo v času. Naj bo $N(t, t + \Delta t)$ število dogodkov v intervalu $(t, t + \Delta t]$. Predpostavimo, da je za neko pozitivno konstanto λ in za $\Delta t \rightarrow 0$

$$P\{N(t, t + \Delta t) = 1\} = \lambda\Delta t + o(\Delta t), \quad (2.11)$$

$$P\{N(t, t + \Delta t) = 0\} = 1 - \lambda\Delta t + o(\Delta t), \quad (2.12)$$

tako da je

$$P\{N(t, t + \Delta t) > 1\} = o(\Delta t), \quad (2.13)$$

pri čemer je število dogodkov $N(t, t + \Delta t)$ povsem neodvisno od pojavljanja dogodkov v $(0, t]$, $o(\Delta t)$ pa gre proti 0 hitreje kot Δt t.j. $\lim_{\Delta t \rightarrow 0} o(\Delta t)/\Delta t = 0$. Tako slučajnostno zaporedje dogodkov je *Poissonov proces s hitrostjo proženja dogodkov* λ . V pogojih zapišana neodvisnost določa posebno vrsto slučajnosti procesa. Enačbi (2.11)–(2.12) opisujeta sorazmernost verjetnosti pojavljanja dogodka od dolžine intervala, enačba (2.13) pa predvideva, da se dogodki ne pojavljajo hkrati. Hitrost proženja dogodkov λ ustreza "spontani frekvenci stalnega okolja" vohalne celice.

2.2.2.1 Lastnosti Poissonovih procesov

Naštejmo nekaj osnovnih lastnosti Poissonovega procesa (Cox in Lewis, 1968; Cox in Miller, 1972):

1. *Porazdelitev časov med zaporednimi dogodki je eksponentna s parametrom* λ .

Vzemimo, da se je dogodek zgodil v nekem času t_0 , naslednji dogodek pa naj se pojavi v času $t_0 + X$. Slučajna spremenljivka X , ki določa čas do prvega naslednjega dogodka (čakalni ali obnovitveni čas), je po predpostavi neodvisna od pojavljanja dogodkov pred in v času t_0 . Naj bo $P(x) = P\{X > x\}$. Ker se po (2.13) dva dogodka ne zgodita hkrati, je $P(0) = P\{X > 0\} = 1$. Zaradi (2.11)–(2.13) je $P(x) = \exp(-\lambda x)$. Porazdelitvena funkcija slučajne spremenljivke X je

$$F(x) = F_X(x) = P\{X \leq x\} = 1 - \exp(-\lambda x), \quad (2.14)$$

gostota verjetnosti pa

$$f(x) = f_X(x) = \lambda e^{-\lambda x} \quad (x > 0). \quad (2.15)$$

2. Razdalja X med zaporednimi dogodki ima pričakovano vrednost $1/\lambda$ in varianco $1/\lambda^2$

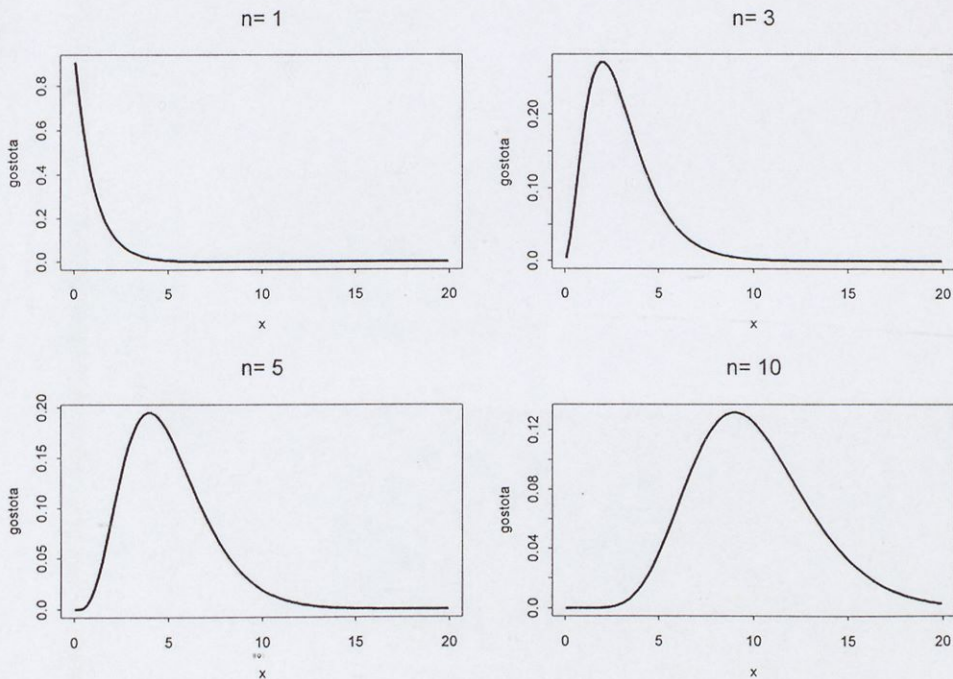
$$E[X] = 1/\lambda, \quad Var[X] = 1/\lambda^2,$$

zato je koeficient variacije $KV(X) = 1$.

3. Slučajna spremenljivka $X^{(n)} = T_{i+n} - T_i = \sum_{j=1}^n X_{i+j}$, ki določa čas med nekim dogodkom in n -tim naslednjim dogodkom (n -ti čakalni čas), je gama porazdeljena z gostoto verjetnosti

$$f^{(n)}(x) = \frac{\lambda(\lambda x)^{n-1} e^{-\lambda x}}{(n-1)!} \quad (x \geq 0), \quad (2.16)$$

ki se za $n = 1$ poenostavi v (2.15). Na sliki 2.9 so narisane gostote verjetnosti gama porazdelitve za različne vrednosti n .



Slika 2.9: Porazdelitve n -tih čakalnih (obnovitvenih) časov Poissonovega procesa. Gostote porazdelitve $f^{(n)}(x)$ za $\lambda = 1$ in različne vrednosti $n = 1, 3, 5$ in 10 .

4. Ker so zaporedni intervali med dogodki neodvisni ima $X^{(n)}$ povprečje n/λ in varianco n/λ^2

$$E[X^{(n)}] = n/\lambda, \quad \text{Var}[X^{(n)}] = n/\lambda^2. \quad (2.17)$$

Zaradi (2.16) je $2\lambda X^{(n)}$ porazdeljen po χ^2 porazdelitvi z $2n$ stopinjami prostosti

$$2\lambda X^{(n)} \sim \chi_{2n}^2 \quad (2.18)$$

Za velike vrednosti n , je $X^{(n)}$ asimptotično normalno porazdeljen, tako da je $(\lambda X^{(n)} - n)/\sqrt{n}$ porazdeljen standardizirano normalno (Cox in Lewis, 1968).

5. Število dogodkov v opazovanih intervalih je porazdeljeno po Poissonovi porazdelitvi: naj bo $N(t)$ število dogodkov v intervalu z dolžino t npr. $(0, t]$. Število dogodkov v neprekritih intervalih je zaradi definicijskih lastnosti Poissonovega procesa neodvisno. Naj bo $p_k(t) = P\{N(t) = k\}$, to je verjetnost, da je v intervalu z dolžino t natanko k dogodkov. Potem je

$$p_k(t) = e^{-\lambda t} \frac{(\lambda t)^k}{k!} \quad (k = 0, 1, 2, \dots). \quad (2.19)$$

Pri Poissonovi porazdelitvi (2.19) sta povprečje in varianca enaka λt , koeficient variacije je $1/\sqrt{\lambda t}$,

$$E[N(t)] = \lambda t, \quad \text{Var}[N(t)] = \lambda t \quad (2.20)$$

Porazdelitev gre z rastočim $\lambda t \rightarrow \infty$ proti normalni porazdelitvi.

6. Obnovitvena funkcija je linearna

$$M(t) = \lambda t. \quad (2.21)$$

7. Gostota dogodkov je konstantna

$$m(t) = \lambda. \quad (2.22)$$

8. Časi pojavljanja dogodkov Poissonovega procesa so neodvisno in enakomerno porazdeljeni v opazovanem intervalu $(0, t]$ (Cox in Lewis, 1968, str. 28).

9. Poissonov proces je *stacionaren*, saj je število dogodkov med časoma t_1 in t_2 ($0 \leq t_1 \leq t_2$) odvisno le od širine intervala $t_2 - t_1$ ne pa od časa začetka opazovanja (Tuckwell, 1988, str. 124)

$$P\{N(t_2) - N(t_1) = k\} = e^{-\lambda(t_2-t_1)} \frac{[\lambda(t_2 - t_1)]^k}{k!}.$$

10. Poissonov proces s konstantno hitrostjo proženja dogodkov λ lahko posplošimo v *časovno odvisen (nehomogen) Poissonov proces* tako, da je hitrost proženja dogodkov funkcija časa $\lambda(t)$. Število dogodkov v intervalu $(t, t + \Delta t]$ je povsem neodvisno od pojavljanja dogodkov v $(0, t]$. Enačbe (2.11) – (2.13) ostanejo nespremenjene, le $\lambda(t)$ zamenja λ . Število dogodkov $N(t)$ ima Poissonovo porazdelitev s povprečjem $\int_0^t \lambda(u) du$. V primeru odziva živčne celice na draženje opazimo spremembo hitrosti proženja akcijskih potencialov, zato lahko odziv obravnavamo kot časovno odvisen slučajnostni proces, ki je, razen v času draženja, stacionaren.

2.2.2.2 Ocenjevanje hitrosti proženja dogodkov

Za ocenjevanje hitrosti proženja dogodkov lahko uporabimo navedene lastnosti Poissonovega procesa. Ker je zaradi (2.20) $E[N(t)] = \lambda t$, lahko ocenimo hitrost proženja dogodkov kot razmerje števila opaženih dogodkov N in časa opazovanja T

$$\hat{\lambda} = N/T, \quad (2.23)$$

ki je zadostna in nepristranska cenilka hitrosti proženja dogodkov λ (Cox in Lewis, 1968). Taka ocena je uporabna za homogene Poissonove procese. Pri časovno odvisnih ali nehomogenih Poissonovih procesih opišemo časovno spremenljivost hitrosti proženja $\lambda(t)$ tako, da razdelimo celoten čas opazovanja na manjše neprekrivne časovne intervale s širino $2h = \Delta t$. Predpostavimo, da je hitrost proženja v posameznem intervalu konstantna. Če delimo število dogodkov (n_t) v intervalu $(t - h, t + h]$ z njegovo širino, dobimo oceno hitrosti proženja v sredini izbranega intervala:

$$\hat{\lambda}(t) = n_t/\Delta t. \quad (2.24)$$

Ker izraža razmerje $n_t/\Delta t$ gostoto dogodkov v časovnem intervalu smo s tem dobili oceno za gostoto dogodkov $m(t)$. Ta način ocenjevanja hitrosti proženja dogodkov uporabljamo za prikaze slučajnostnega procesa s histogrami. Gladko krivuljo gostote dogodkov dobimo, če število dogodkov v razredih zgladimo z uporabo jeder (Szűcs, 1998; Nawrot s sod., 1999).

Pri ocenjevanju hitrosti proženja dogodkov lahko uporabimo pričakovano dolžino n -tega čakalnega časa, ki je zaradi (2.17) $E[X^{(n)}] = n/\lambda$. Izberimo n zaporednih dogodkov z opaženimi časi pojavljanja t_{i+1}, \dots, t_{i+n} , ki neposredno sledijo dogodku v času t_i ! Hitrost proženja $\lambda(t)$ ali gostoto dogodkov $m(t)$ lahko ocenimo kot

$$\hat{\lambda}(t) = n/(t_{i+n} - t_i). \quad (2.25)$$

Ocenjeno vrednost navadno pripišemo sredini intervala $(t_i, t_{i+n}]$. Tako ocenjeno hitrost proženja uporabljajo pri oceni RIPP (rate of inhomogenous point process) (Parzen, 1962; Awiszus, 1992).

Ker je po (2.18) $2\lambda X^{(n)}$ porazdeljen kot χ_{2n}^2 , lahko to lastnost uporabimo za določanje intervalne ocene hitrosti proženja dogodkov Poissonovega procesa procesa. Meji zaupanja (s stopnjo zaupanja $1 - \alpha$) za parameter λ sta

$$\frac{1}{2}\chi_{2n, 1-\alpha/2}^2/(t_{i+n} - t_i) \leq \lambda \leq \frac{1}{2}\chi_{2n, \alpha/2}^2/(t_{i+n} - t_i),$$

kjer je $\chi_{\nu, \alpha}^2$ α -kvantilna vrednost χ^2 z ν stopinjami prostosti.

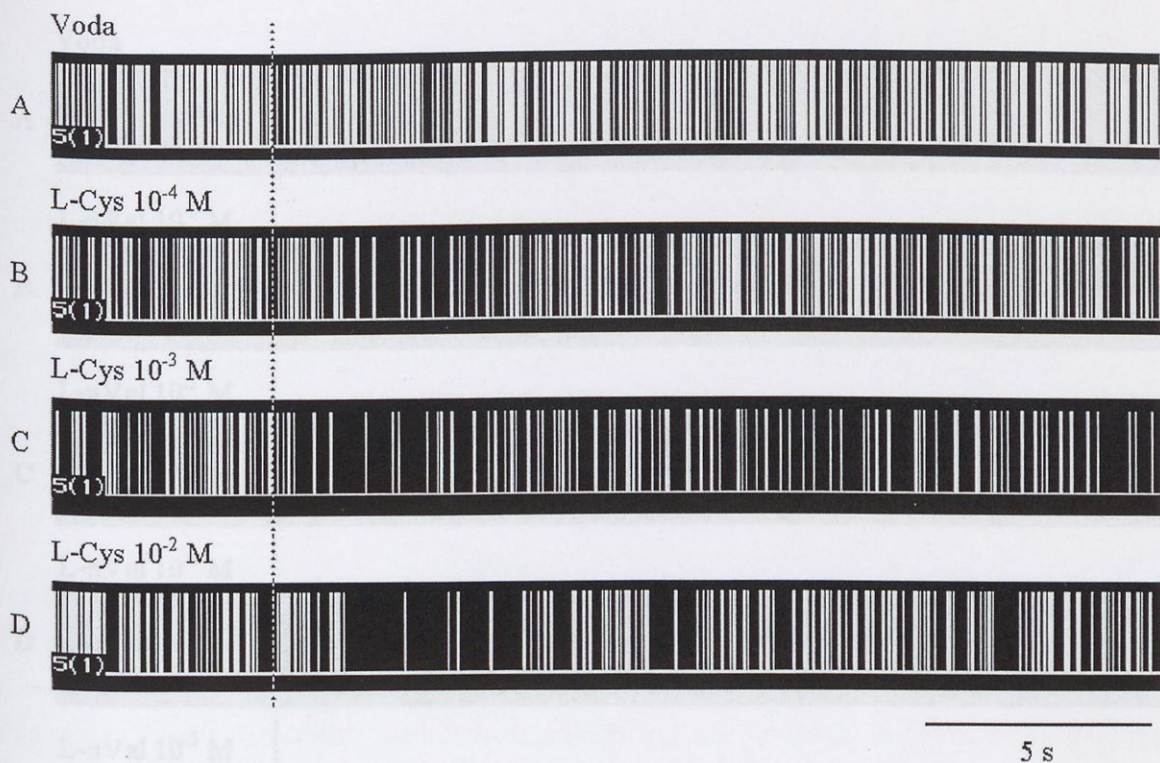
All models are wrong but some are useful

G. E. P. Box, 1979

3 METODA ZA ZASLEDOVANJE SPREMEMB AKTIVNOSTI

Prvi sloj vohalne živčne mreže rib sestavljajo vohalne celice (pri različnih vrstah rib od nekaj sto tisoč do nekaj milijonov), ki so spontano aktivne in se odzivajo na vohalne dražljaje s supresijo (začasnim zmanjšanjem frekvence, slika 3.1) ali z ekscitacijo (začasnim povečanjem frekvence akcijskih potencialov, slika 3.2) spontane aktivnosti. Predpostavljamo, da je vzorec aktivnosti vseh celic v tem sloju (Aleksander in Morton, 1993) vohalna koda za posamezne snovi, ki ga celice prevajajo v vohalne glomerule v vohalnem bulbusu. Čeprav je stopnja konvergence med vohalnimi čutilnimi celicami in mitralnimi celicami v vohalnem bulbusu zelo velika (več kot 100 : 1, Duchamp-Viret s sod. (1989)), je vzorec aktivnosti, ki se med draženjem spreminja, odvisen od aktivnosti posameznih vohalnih celic. Kakšen je vhod vohalne informacije v vohalni bulbus lahko predvidimo le, če analiziramo spremembe aktivnosti na dovolj velikem vzorcu posameznih vohalnih celic. Z optičnimi metodami je možno zasledovati aktivnost glomerulov in s tem dobiti predstavo o vohalni kodi v drugem sloju vohalne mreže, v vohalnem bulbusu. Vendar s tem ni pojasnjeno, kako ta koda nastane, poznati moramo tudi vhod vzbujenja v drugi sloj vohalne mreže. To lahko ugotovimo le, če med kemijskim draženjem zasledujemo spremembe aktivnosti zadostnega števila posameznih vohalnih celic. S tem lahko dobimo kvantitativen vpogled v senzorično informacijo, vohalno kodo v prvem sloju vohalne mreže. Zato moramo razpolagati z elektrofiziološkimi metodami, ki omogočajo hitro vzorčenje aktivnosti posameznih vohalnih celic in s statističnimi metodami, ki omogočajo zasledovanje značilnih sprememb aktivnosti teh celic.

Za kvantitativno predstavitev vohalne kode moramo vzorčiti aktivnost nekaj tisoč celic. Ker iz ponovitev poskusa na eni celici spoznamo samo odzivnost te celice na eno snov, ni smiselno ponavljati poskusa na posamezni celici. Za analizo aktivnosti vohalnih celic je potrebna metoda, ki lahko iz posnetka posameznega poskusa določi odziv vohalne celice. Razvili bomo metodo, ki iz posameznega posnetka aktivnosti vohalne celice s primerjavo spontane aktivnosti pred draženjem in aktivnosti po začetku draženja omogoča določiti vrsto, začetek in trajanje ter jakost odziva posamezne vohalne celice. Pri tem ohranimo vpogled v časovni potek aktivnosti, s tem pa omogočimo primerjavo rezultatov analize in



Slika 3.1: Supresija. Posnetki odziva celice na dražljaj z različno koncentracijo. Celica se v primerih B - D na dražljaj (navpična črtkana črta) odzove z *zmanjšanjem* frekvence akcijskih potencialov v primerjavi s frekvenco pri spontani aktivnosti pred draženjem. A - spontana aktivnost se nadaljuje tudi med "draženjem" z vodo (iz Koce, 1999).

dejanske aktivnosti vohalne celice. Ker je za razumevanje vzorca aktivnosti potrebno pregle dati odzive velikega števila celic, predlagamo nekaj grafičnih načinov prikaza sprememb aktivnosti večjega števila celic.

3.1 IZBIRA OSNOVNIH LASTNOSTI METODE



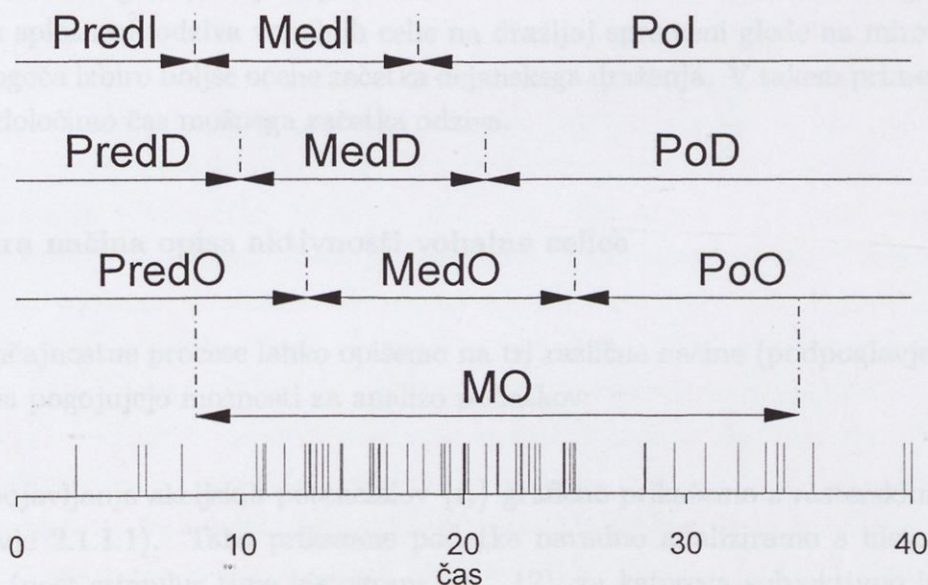
Slika 3.2: Ekscitacija. Posnetki odziva celice na dražljaj z različno koncentracijo. Celica se na dražljaj (navpična črtkana črta) odzove s *povečanjem* frekvence akcijskih potencialov v primerjavi s frekvenco pri spontani aktivnosti pred draženjem (iz Koce, 1999).

3.1 IZBIRA OSNOVNIH LASTNOSTI METODE

Metoda za analizo posameznega posnetka aktivnosti vohalne celice (Sliki 3.2 in 3.1) izvira iz nekaterih lastnosti obnovitvenih procesov. Z nekaj poenostavitvami lahko privzamemo, da spontana aktivnost zadošča pogojem Poissonovega procesa. Celoten poskus lahko obravnavamo kot nehomogen (časovno spremenljiv) Poissonov process, saj se zaradi draženja lahko spremeni hitrost proženja akcijskih potencialov. Ker so privzetki Poissonovega procesa o spontani aktivnosti pogosto preveč omejujoči, opišemo aktivnost vohalne celice kot obnovitven proces s časovno spremenljivo obnovitveno gostoto dogodkov.

3.1.1 Časovna opredelitev poskusa

V tipičnem poskusu spontano aktivni celici nekaj časa dovajamo dražečo snov, s katero želimo vzbuditi odziv. Osnovno razdelitev časovnega poteka poskusa opremo na začetek in konec dovajanja dražilne raztopine in dobimo (1) obdobje pred začetkom dovajanja raztopine (PredI), (2) obdobje med dovajanjem raztopine (MedI) in (3) obdobje po koncu dovajanja raztopine (PoI) (Slika 3.3). Postopek se na nivoju vohalne celice časovno razdeli



Slika 3.3: Različna časovna obdobja poskusa, sestavljenega iz dovajanja dražilne snovi (I), draženja (D) in odziva (O). MO - obdobje pričakanega odziva.

v delno zamaknjena obdobja glede na prisotnost dražljaja v okolici celice. Snov zaradi postavitve poskusa in nedoločljivih pogojev v preparatu prispe do vohalne celice šele nekaj časa po začetku dovajanja dražljaja. Tako dobimo obdobje pred draženjem (PredD), med draženjem (MedD) in obdobje po draženju (PoD), ki se zaradi počasnega izpiranja preparata lahko konča po koncu dovajanja dražljaja. Celica se ne more odzvati na dražljaj pred začetkom draženja, lahko pa se odzove z zamudo. Odziv se lahko nadaljuje tudi po koncu draženja, tako da je območje, v katerem je možen odziv (MO) širše od območja draženja, ki se lahko začne šele ob začetku draženja. Spontana aktivnost vohalne celice pred odzivom (PredO) preide v spremenjeno aktivnost v območju odziva (MedO) in se zaključi s spontano aktivnostjo v obdobju po odzivu (PoO). Ker časov začetka in konca dejanskega draženja ne poznamo, se izraz "med draženjem" navadno nanaša na časovno obdobje dovajanja dražilne raztopine (MedI). Če dejanskega začetka draženja ne poznamo, vzamemo kot začetek območja možnega odziva začetek dovajanja dražilne raztopine.

3.1.2 Opis poskusnih podatkov

Posnetek sestavljajo časi pojavljanja akcijskih potencialov $\{t_i\}$ oziroma časi med zaporednimi dogodki $\{x_i\}$. Obe vrsti podatkov sta za opis časovnega dogajanja enakovredni. Razen tega imamo podatka o času začetka in trajanju draženja. Ta dva podatka zadoščata za časovno opredelitev poskusnih obdobj. Pogosto imamo na razpolago tudi EOG (electro-olfactogram), ki je zapis sumarične aktivnosti vohalnih celic. Signal EOG se v primeru splošnega odziva vohalnih celic na dražljaj spremeni glede na mirovno vrednost in omogoča izbiro boljše ocene začetka dejanskega draženja. V takem primeru lahko zanesljiveje določimo čas možnega začetka odziva.

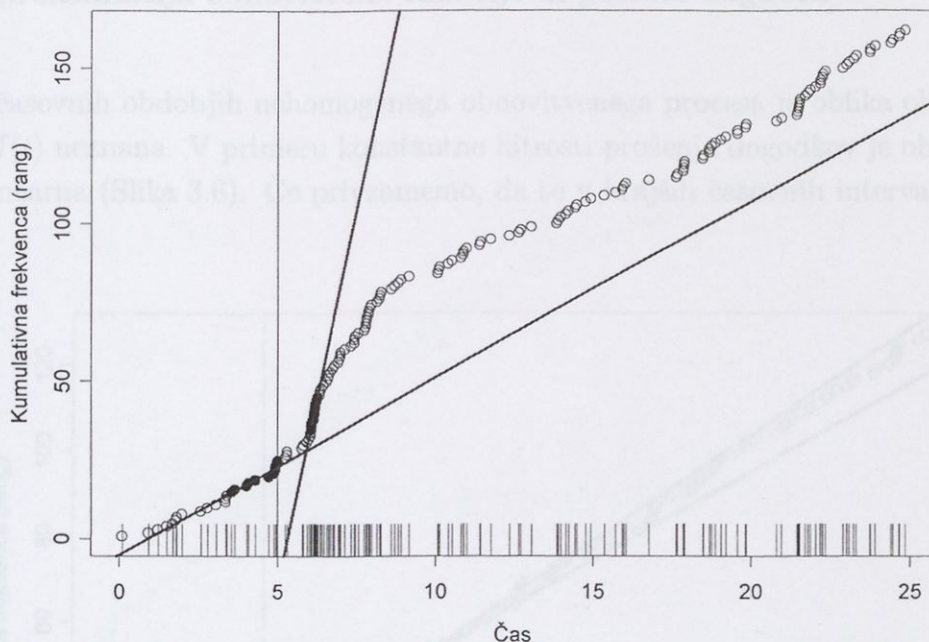
3.1.3 Izbira načina opisa aktivnosti vohalne celice

Točkovne slučajnostne procese lahko opišemo na tri različne načine (podpoglavje 2.2.1.1, str. 18), ti pa pogojujejo možnosti za analizo podatkov:

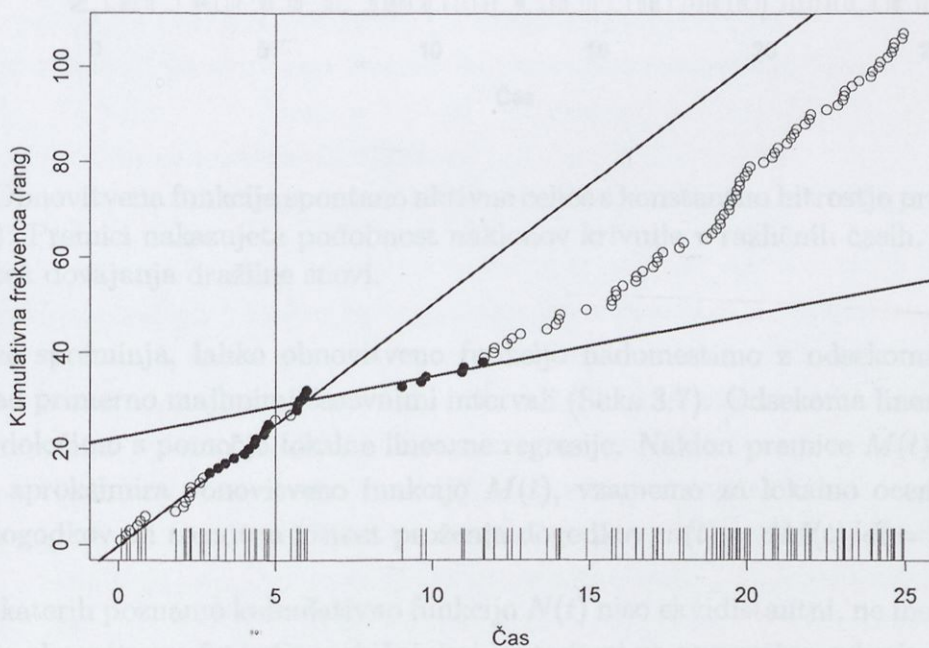
1. Čase pojavljanja akcijskih potencialov $\{t_i\}$ grafično prikažemo z rasterskim grafom (poglavje 2.1.1.1). Tako prikazane podatke navadno analiziramo s histogramom PSTH (post stimulus time histogram, str. 12), za katerega subjektivno izberemo širino razreda. Odločitev o širini razredov predefinira časovno ločljivost metode. Pri preširokih razredih izgubimo možnost zaznave kratkotrajnih sprememb, zgrešimo pa tudi začetek teh sprememb. Pri ozkih razredih je uporabnost PSTH za analizo posameznega odziva celice vprašljiva, ker je frekvenca akcijskih potencialov v

posameznem razredu zelo majhna. Pri nehomogenih procesih se srečamo tudi s problemom določitve mej razredov. Če začetka odziva ne poznamo, se lahko zgodi, da začetek odziva ne leži na meji razreda. Tako so v razredu, ki vsebuje začetek odziva, združeni akcijski potenciali spontane aktivnosti in odziva na kemijsko draženje, kar onemogoča razlikovanje ene aktivnosti od druge. Z našo metodo se želimo izogniti problemom, ki so povezani z uporabo PSTH.

2. Analiza porazdelitve čakalnih časov $\{x_i\}$ je metoda, ki jo pogosto uporabljajo pri analizi slučajnostnih procesov, v nevrofiziologiji je to metoda ISIH (interspike interval histogram, str. 13). Čakalne čase razdelimo v primerno široke časovne razrede in jih prikažemo z ISI histogramom. Tudi v tem primeru se srečamo s problemom subjektivne izbire širine razredov. Iz eksponentne oblike ISI histograma lahko za Poissonov proces iz (2.15) določimo hitrost proženja dogodkov. Vohalna celica ima v različnih obdobjih različno hitrost proženja dogodkov, zato bi morali obravnavati posebej vsak del poskusa, in sicer spontano aktivnost, draženje in aktivnost po koncu draženja. To zaradi majhnega števila akcijskih potencialov v enem posnetku ni izvedljivo. Ko obravnavamo celoten posnetek kot nehomogen Poissonov ali splošen obnovitven proces, ne poznamo pričakovanih lastnosti porazdelitve čakalnih časov. Zato ne moremo razlikovati ekscitacije in supresije od spontane aktivnosti živčnih celic. Čakalnih časov v ISIH ne prikažemo na dejanski časovni osi, zato v rezultatu analize potek poskusa ni viden.
3. Točkovni proces lahko opišemo s kumulativnim številom dogodkov $N(t)$, ki so se zgodili pred časom t (razdelek 2.1.1.2, str. 11). Ta prikaz omogoča enotno obravnavo vseh treh poskusnih obdobj. $N(t)$ je stopničasta funkcija, ki se vije okrog obnovitvene funkcije, ki je po (2.4), $M(t) = E[N(t)]$. Kadar so izpolnjeni pogoji Poissonovega procesa o porazdelitvi čakalnih časov, zaradi (2.21) opazimo na grafih $N(t)$ linearne odseke (glej Sliko 2.3, str. 11). Ker je po (2.5) gostota dogodkov $m(t) = dM(t)/dt$ (hitrost proženja dogodkov) enaka odvodu obnovitvene funkcije, se hitrost proženja dogodkov odraža na naklonu krivulje $N(t)$. Pri večji hitrosti proženja dogodkov (ekscitacija) je krivulja bolj strma (Slika ??), pri manjši (supresija) pa bolj položna (Slika ??). Za našo metodo zasledovanja sprememb aktivnosti spontano aktivnih vohalnih celic smo uporabili analizo naklonov kumulativnega števila dogodkov, ki omogoča enotno obravnavanje vseh treh obdobj. Graf kumulativne funkcije $N(t)$ lahko podpremo z rastrskim grafom, zato je možna neposredna primerjava rezultatov analize s časovnim zapisom dogajanja. Aktivnosti med draženjem in po njem lahko primerjamo s spontano aktivnostjo.



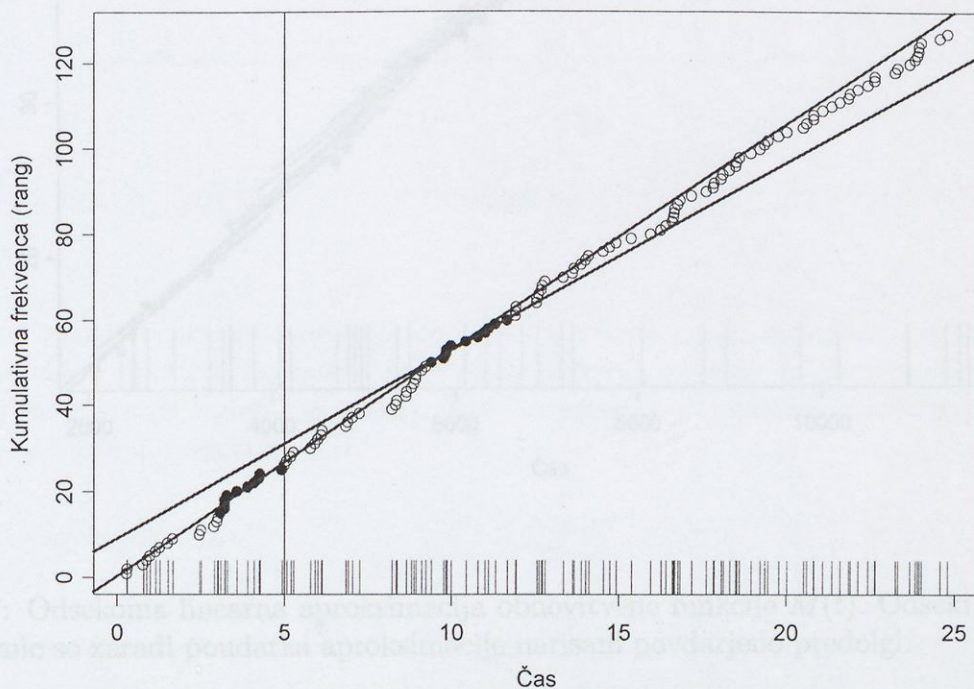
Slika 3.4: Kumulativna porazdelitev akcijskih potencialov, ko se celica odzove z *ekscitacijo*. Premici nakazujeta različna naklona krivulje pred draženjem in ob začetku odziva. Navpična črta: začetek dovajanja dražilne snovi.



Slika 3.5: Kumulativna porazdelitev akcijskih potencialov, ko se celica odzove s *supresijo*. Premici nakazujeta različna naklona krivulje pred draženjem in na začetku odziva. Navpična črta: začetek dovajanja dražilne snovi.

3.1.4 Aproximacija obnovitvene funkcije in gostote dogodkov

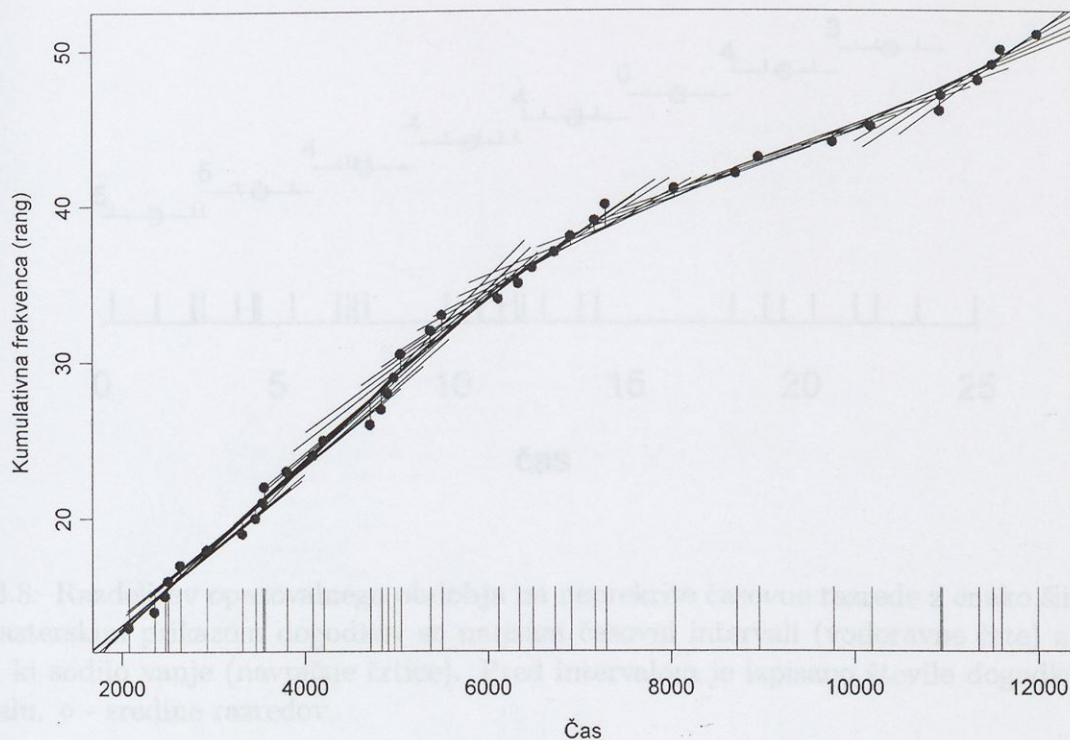
V daljših časovnih obdobjih nehomogenega obnovitvenega procesa je oblika obnovitvene funkcije $M(t)$ neznana. V primeru konstantne hitrosti proženja dogodkov je obnovitvena funkcija linearna (Slika 3.6). Če privzamemo, da se v krajših časovnih intervalih hitrost



Slika 3.6: Obnovitvena funkcija spontano aktivne celice s konstantno hitrostjo proženja dogodkov (o). Premici nakazujeta podobnost naklonov krivulje v različnih časih. Navpična črta: začetek dovajanja dražilne snovi.

proženja ne spreminja, lahko obnovitveno funkcijo nadomestimo z odsekoma linearno funkcijo nad primerno majhnimi časovnimi intervali (Slika 3.7). Odsekoma linearno funkcijo lahko določimo s pomočjo lokalne linearne regresije. Naklon premice $\hat{M}(t) = a + bt$, ki lokalno aproksimira obnovitveno funkcijo $M(t)$, vzamemo za lokalno oceno hitrosti proženja dogodkov ali trenutno hitrost proženja dogodkov $m(t) = dM(t)/dt = b$.

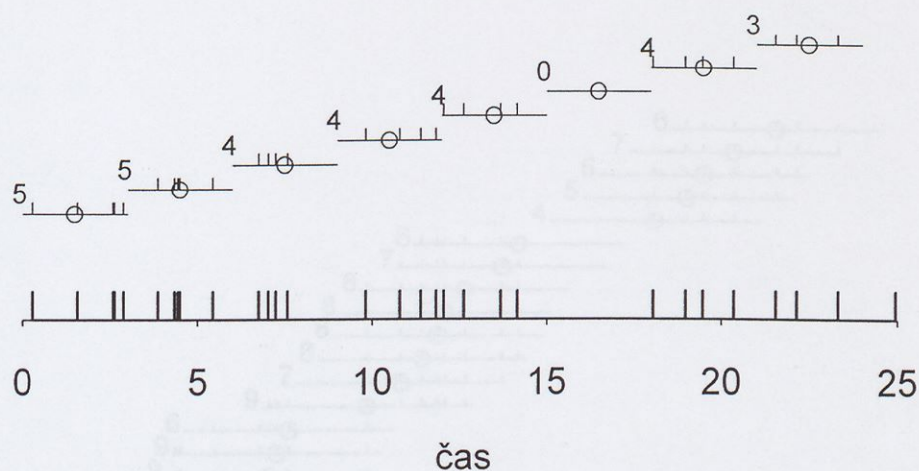
Ker časi v katerih poznamo kumulativno funkcijo $N(t)$ niso ekvidistantni, ne moremo oceniti odvoda obnovitvene funkcije z običajnimi metodami za numerično odvajanje (Abramowitz in Stegun, 1974, str. 883). Za približek odvoda obnovitvene funkcije uporabimo naklon regresijske premice, ki je v primeru ekvidistantnih podatkov identičen ocenam numeričnega odvajanja.



Slika 3.7: Odsekoma linearna aproksimacija obnovitvene funkcije $M(t)$. Odseki regresijskih premic so zaradi poudarka aproksimacije narisani povdarjeno predolgi.

3.1.5 Časovne in dogodkovne okolice

Časovne intervale za določanje odsekoma linearne regresijske aproksimacije lahko izberemo na različne načine. Razdelitev celotnega časa opazovanja na primerno majhne časovne intervale (razrede) je neprimerna za določanje lokalne regresijske aproksimacije, ker je lahko število dogodkov v intervalih zelo različno, pri majhni aktivnosti pa so nekateri razredi celo prazni (Slika 3.8). Z naklonom regresijske premice ocenimo lokalno gostoto dogodkov v sredini razreda, ki v večini primerov ne ustreza času kakega dogodka - akcijskega potenciala. Ker izhajamo iz empirične porazdelitvene funkcije $N(t)$, ki se spreminja v trenutkih pojavljanja akcijskih potencialov t_1, t_2, \dots , je smiselno ocenjevati obnovitveno gostoto $m(t)$ kot naklon lokalne regresijske premice v časih dogodkov tako, da določimo regresijsko premico v okolih t_1, t_2, \dots .



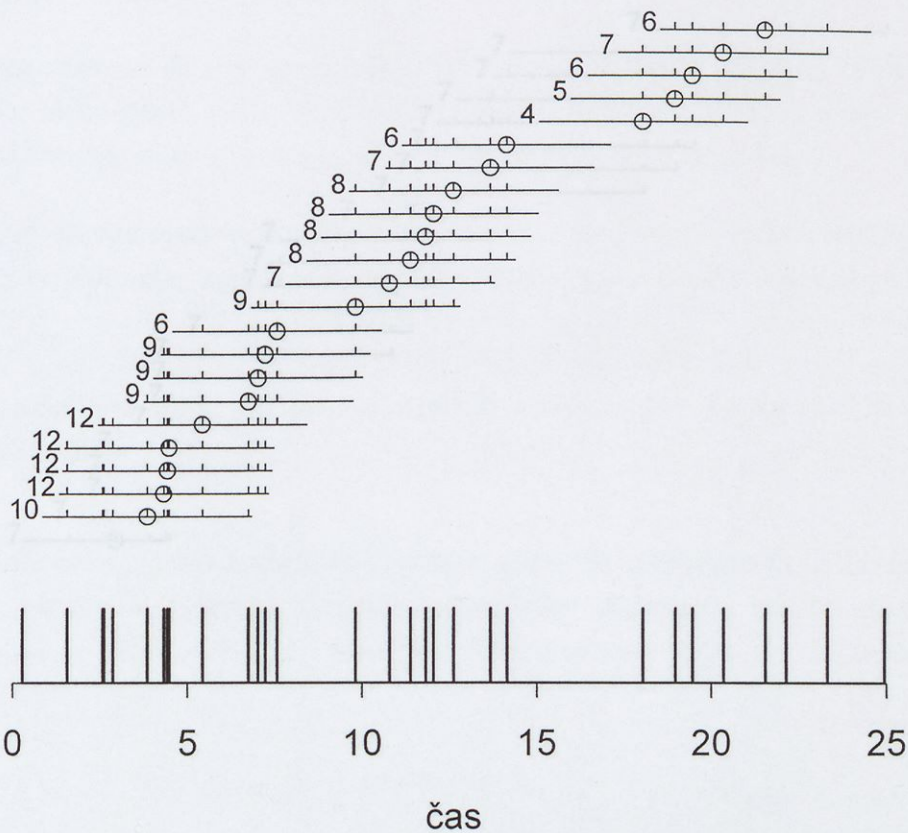
Slika 3.8: Razdelitev opazovalnega obdobja na neprekrivne časovne razrede z enako širino. Nad rasterskim prikazom dogodkov so narisani časovni intervali (vodoravne črte) z dogodki, ki sodijo vanje (navpične črtice). Pred intervalom je izpisano število dogodkov v intervalu. \circ - sredine razredov.

3.1.5.1 Časovna okolica

Za okolico dogodka v času t_i ($i = 1, 2, \dots$) vzamemo interval s širino $\Delta t = 2h$ in sredino t_i t.j. $(t_i - h, t_i + h]$ (Slika 3.9). Tako okolico bomo imenovali *časovna okolica*. Dobimo vrsto enako širokih in delno prekritih časovnih okolic, v katerih je različno število dogodkov. V teh okolicih lahko ocenimo gostoto dogodkov s pomočjo (2.24). Uporabili bi lahko tudi ocenjevanje gostote s pomočjo jeder (kernel estimation, Szücs, 1998; Nawrot s sod., 1999). Tako izbrane okolice so ugodne, ker se sredine intervalov ujemajo s časi dogodkov. Pri majhnih okolicih in majhni gostoti dogodkov vsebujejo nekatere okolice, razen srednjega dogodka, majhno število drugih dogodkov, to pa onemogoča uporabo linearne regresije za določevanje naklona obnovitvene funkcije.

3.1.5.2 Dogodkovna okolica

Dogodkovno okolico nekega časa t_i izberemo tako, da vsebuje določeno število dogodkov (Slika 3.10). Izberemo lahko *simetrično okolico*, v kateri je razen izbranega dogodka v času t_i še j dogodkov pred in j dogodkov za izbranim dogodkom. V taki okolici je vnaprej



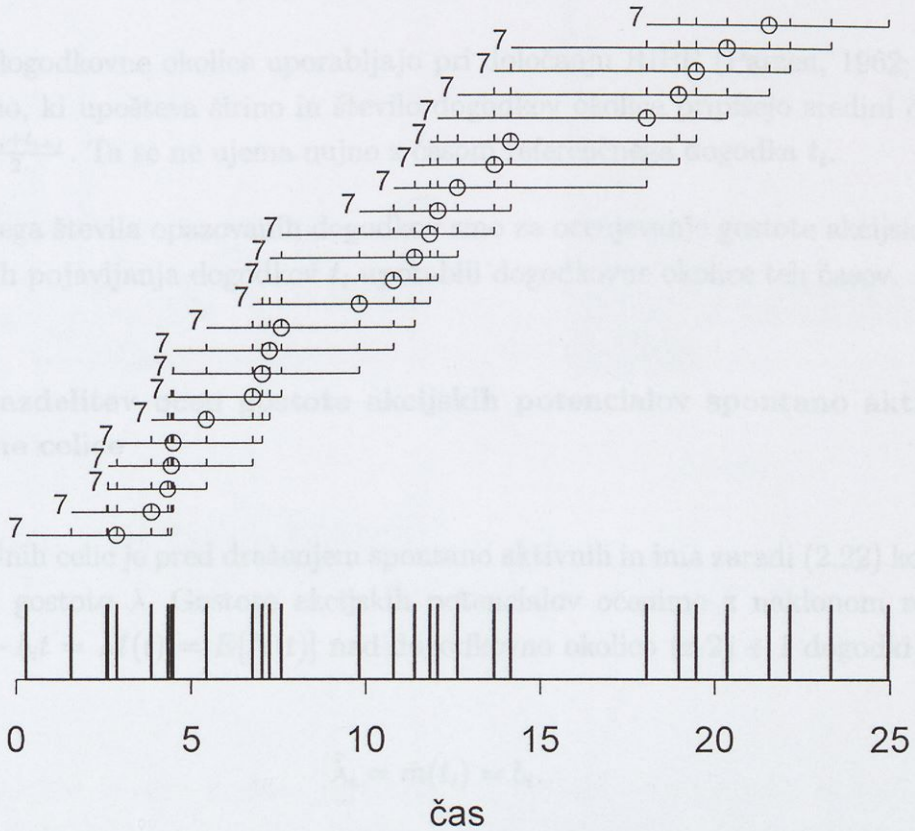
Slika 3.9: Simetrične časovne okolice s stalno širino $2h = 3$ oklepajo dogodke (\circ). Ob intervalu z označenimi dogodki (navpične črtice) je zapisano število dogodkov.

določeno število zaporednih dogodkov v časih

$$t_{i-j}, t_{i-j+1}, \dots, t_i, \dots, t_{i+j-1}, t_{i+j}.$$

Te okolice pokrivajo različno široke intervale $(t_{i-j-1}, t_{i+j}]$ in vsebujejo enako število $2j + 1$ dogodkov. Pri določanju povečane aktivnosti smo uporabili tudi v desno asimetrične dogodkovne okolice (ali *desne okolice*) v katerih je razen izbranega dogodka v času t_i še $2j$ naslednjih zaporednih dogodkov v časih

$$t_i, t_{i+1}, \dots, t_{i+2j}.$$



Slika 3.10: Simetrične dogodkovne okolice s stalnim številom dogodkov. Navpične črtice nad intervali označujejo dogodke, število dogodkov ($7 = 2j + 1$) je napisano pred intervalom, o označuje referenčni dogodek.

Tudi take okolice pokrivajo različno široke intervale $(t_{i-1}, t_{i+2j}]$ in vsebujejo enako število $2j+1$ dogodkov. Na podoben način lahko določimo tudi *levo okolico* $(t_{i-2j-1}, t_i]$, ki vsebuje $2j$ zaporednih dogodkov tik pred dogodkom t_i . Času t_i rečemo referenčni čas, dogodku v času t_i pa referenčni dogodek. Okolice lahko na kratko označimo s parom vrednosti (l, k) , kjer je l število vključenih dogodkov pred, k pa število vključenih dogodkov za referenčnim dogodkom. Simetrične okolice so tako označene kot (j, j) , ustrezne desne pa kot $(0, 2j)$.

V dogodkovni okolici časa t_i v katerem določamo naklon obnovitvene krivulje $M(t_i)$ je enako število dogodkov. To omogoča uporabo naklona regresijske premice $M(t) = a_i + b_i t$ za določanje gostote dogodkov $m(t_i)$. Naklon regresijske premice b_i predstavlja oceno

gostote dogodkov v izbranem času t_i , ki je v primeru simetrične okolice nekje v intervalu $(t_{i-j-1}, t_{i+j}]$, v primeru desne okolice pa prvi dogodek v intervalu $(t_{i-1}, t_{i+2j}]$. Simetričnih okolic ne moremo določiti za prvih in zadnjih j dogodkov. Tem lahko določimo desne $(0, 2j)$ oziroma leve okolice $(2j, 0)$.

Simetrične dogodkovne okolice uporabljajo pri določanju RIPP (Parzen, 1962; Awiszus, 1992). Oceno, ki upošteva širino in število dogodkov okolice pripišejo sredini časovnega intervala $\frac{t_{i-j}+t_{i+j}}{2}$. Ta se ne ujema nujno s časom referenčnega dogodka t_i .

Zaradi stalnega števila opazovanih dogodkov smo za ocenjevanje gostote akcijskih potencialov v časih pojavljanja dogodkov t_i uporabili dogodkovne okolice teh časov.

3.1.6 Porazdelitev ocen gostote akcijskih potencialov spontano aktivne vohalne celice

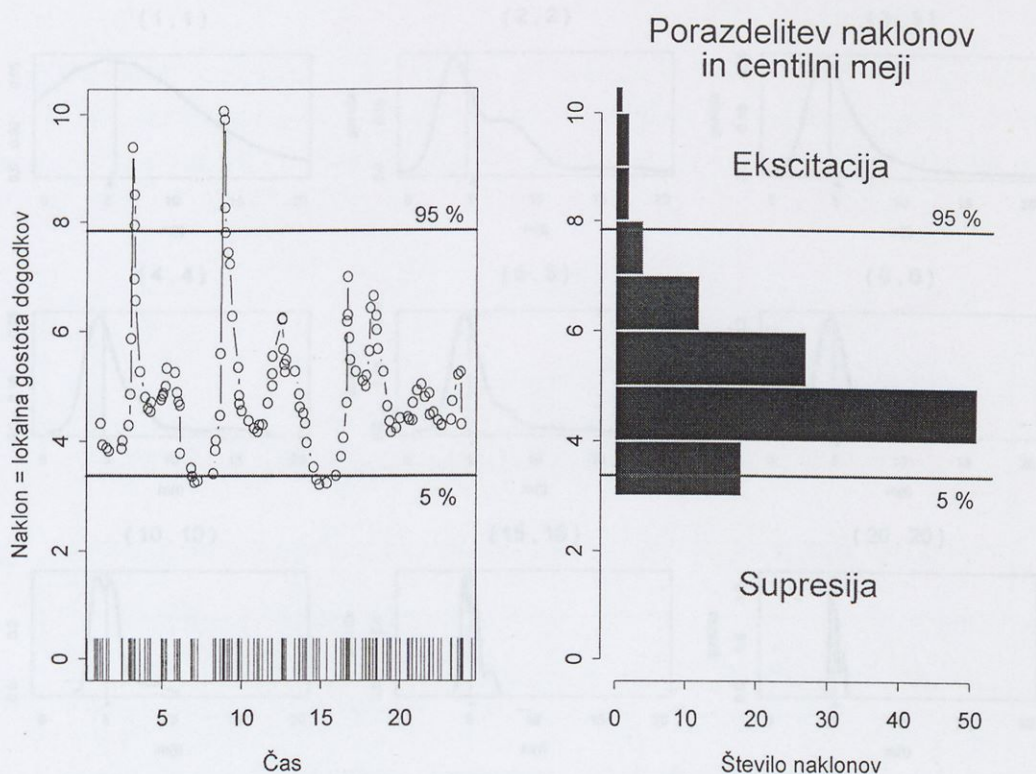
Večina vohalnih celic je pred draženjem spontano aktivnih in ima zaradi (2.22) konstantno obnovitveno gostoto λ . Gostoto akcijskih potencialov ocenimo z naklonom regresijske premice $a_i + b_i t = \hat{M}(t) = E[N(t)]$ nad dogodkovno okolico (z $2j + 1$ dogodki) vsakega časa t_i :

$$\hat{\lambda}_i = \hat{m}(t_i) = b_i. \quad (3.1)$$

Časovni potek lokalne gostote dogodkov lahko prikažemo s krivuljo ocen gostote $\hat{m}(t_i)$. Iz ocen gostote (3.1) dobimo, za vse razpoložljive okolice akcijskih potencialov, množico ocen $\hat{\lambda}_i = b_i$, iz katerih sestavimo vzorčno porazdelitev obnovitvene gostote λ . Ker empirična kumulativna porazdelitev $N(t)$ narašča v časih t_i , so vse ocene pozitivne $\hat{\lambda}_i > 0$. Razdalja med zaporednimi akcijskimi potenciali je lahko zelo majhna (omejena je z refraktarno periodo), zato je $N(t)$ lahko odsekoma zelo strma – ima velik naklon b_i . Ker je porazdelitev ocen $\hat{\lambda}_i$ navzdol omejena, pričakujemo da je pozitivno asimetrična. Porazdelitev ocen $\hat{\lambda}_i$ za simuliran Poissonov proces z gostoto dogodkov $\lambda = 4.6$ je prikazana na sliki 3.11.

Oblika porazdelitve je odvisna od širine dogodkovnih okolic, saj širša dogodkovna okolica zajame večje število dogodkov (Slika 3.12). Ocene so pri širših okolicah manj variabilne, zaradi (2.21) in stacionarnosti pa je cenilka $\hat{\lambda}$ nepristranska $E[\hat{\lambda}] = \lambda$.

Spontana aktivnost nekaterih vohalnih celic je lahko zelo posebna. Pri teh celicah opazimo skupke – vlake akcijskih potencialov. V splošnem ne vemo, ali spontana aktivnost posamezne celice zadošča pogojem Poissonovega procesa. Za opis lastnosti ocen gostote dogodkov spontane aktivnosti smo uporabili kvantilne lastnosti empirične vzorčne poraz-



Slika 3.11: Ocene lokalne gostote (krivulja v zgornjem delu na levi) dogodkov, ki so prikazani z rasterskim grafom levo spodaj. Desno: porazdelitev ocen gostote dogodkov. Vodoravni črti (5%) in (95%) predstavljata 5 in 95 centil.

delitve. Za pričakovano vrednost ocen gostote uporabimo mediano

$$E[\lambda_i] = Me_\lambda. \quad (3.2)$$

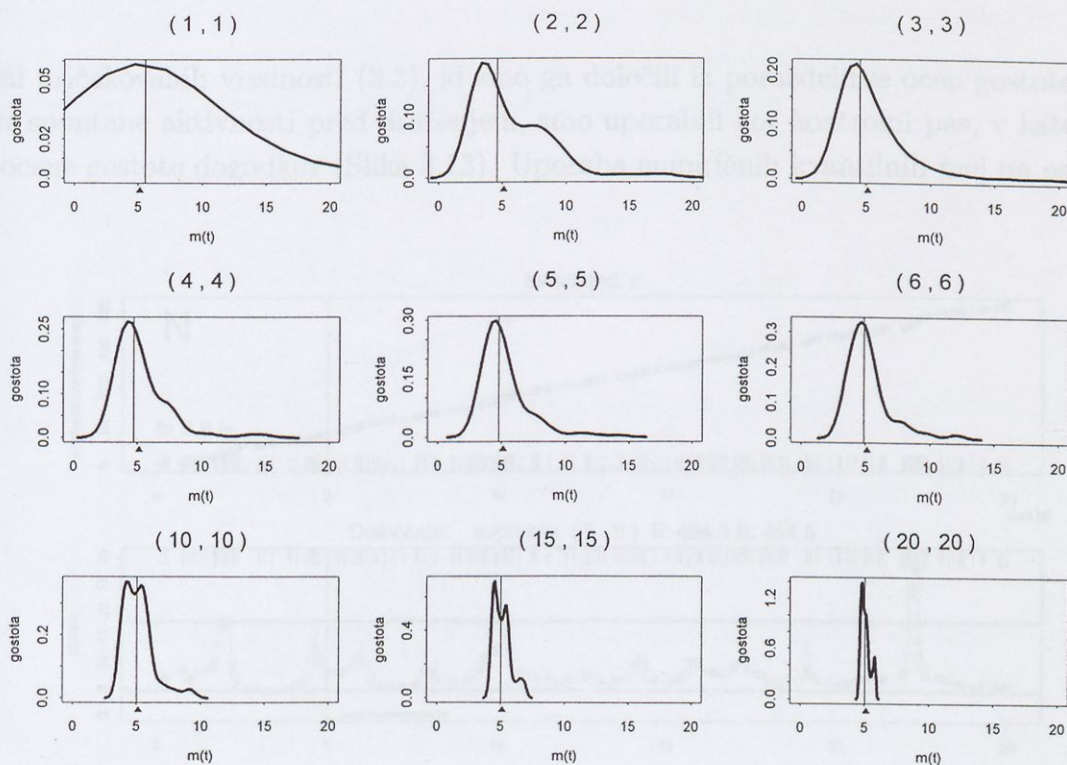
Območje pričakovanih vrednosti ocen λ z zaupanjem $(1 - 2\alpha)$ smo določili kot

$$Q_\alpha \leq \lambda \leq Q_{1-\alpha} \quad (3.3)$$

kjer sta kritični meji Q_p kvantila s kvantilnim rangom $p = \alpha$ oziroma $p = 1 - \alpha$:

$$P(\lambda \leq Q_p) = p.$$

Območje pričakovanih vrednosti (3.3) določimo na osnovi ocen λ v času pred draženjem (PredD). Če bi se spontana aktivnost (s posebnostmi kot so npr. skupki) nadaljevala tudi po začetku draženja pričakujemo, z zaupanjem $(1 - 2\alpha)$, da bi ležale ocene gostote



Slika 3.12: Porazdelitve ocen gostote dogodkov $m(t)$ za različno široke simetrične dogodkovne okolice. V oklepajih nad sliko je navedeno število dogodkov pred oziroma za referenčnim dogodkom uporabljene okolice. Navpična črta nakazuje lego mediane ocen, \blacktriangle – prava vrednost gostote dogodkov λ .

dogodkov v območju pričakovanih vrednosti. Kritične meje območja pričakovanih vrednosti omogočajo neparametrično testiranje hipotez o spremembi hitrosti proženja akcijskih potencialov:

$$H_0 : \lambda_{PO} = \lambda_{PRED} \Rightarrow \text{ni odziva}$$

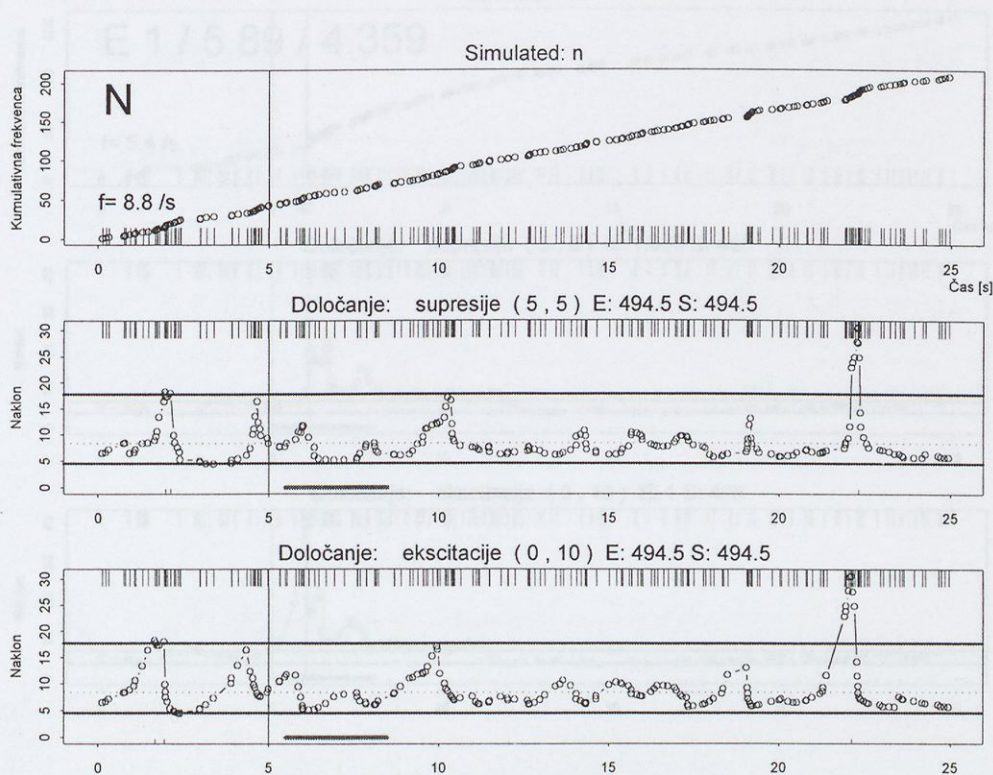
$$H_1 : \lambda_{PO} > \lambda_{PRED} \Rightarrow \text{ekscitacija}$$

$$H_1 : \lambda_{PO} < \lambda_{PRED} \Rightarrow \text{supresija,}$$

pri čemer sta λ_{PO} in λ_{PRED} hitrosti proženja akcijskih potencialov po in pred draženjem. Območje pričakovanih vrednosti določimo iz vzorčne porazdelitve ocen. Ocene gostot, ki so zunaj območja pričakovanih vrednosti, pomenijo značilno spremenjeno hitrost proženja akcijskih potencialov (z enostransko stopnjo tveganja α).

3.1.7 Kontrolni pas gostote dogodkov

Interval pričakovanih vrednosti (3.3), ki smo ga določili iz porazdelitve ocen gostote dogodkov spontane aktivnosti pred draženjem, smo uporabili kot kontrolni pas, v katerem ležijo ocene gostote dogodkov (Slika 3.13). Uporaba empiričnih kvantilnih mej na osnovi

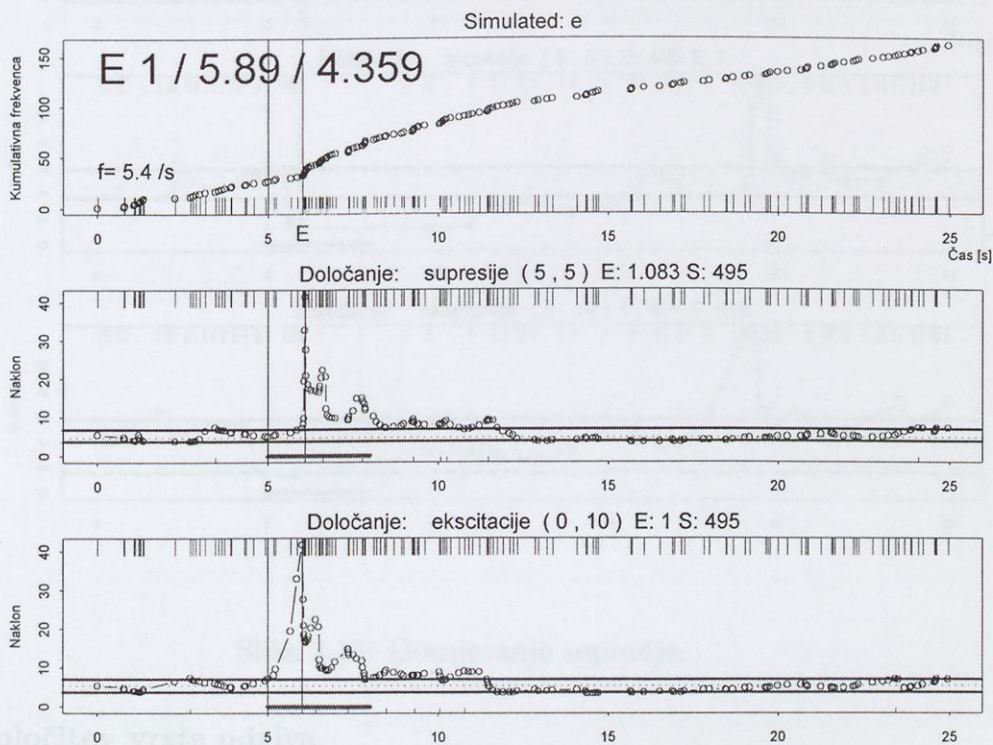


Slika 3.13: Kontrolno območje pričakovanih ocen. Na srednji in spodnji sliki je kontrolno območje predstavljeno z vodoravnima črtama - spodnjo in zgornjo mejo. Zgornja slika: kumulativna porazdelitev. Srednja slika: ocene gostot dogodkov (nakloni regresijskih premic) iz simetričnih okolici; vodoravni črti: kritični meji. Spodnja slika: ocene iz desnih okolici; vodoravni črti: kritični meji. Navpična črta: začetek draženja; krivulja s točkami: ocene gostote dogodkov; črta nad časovno osjo: območje pričakovanega odziva.

opažene spontane aktivnosti prilagodi kriterij ocenjevanja posebnostim proučevane celice. Za celice, ki lokalno zelo spreminjajo hitrost proženja akcijskih potencialov (npr. proženje skupkov akcijskih potencialov), je kontrolni pas širši, za celice z zelo pravilno aktivnostjo pa ožji.

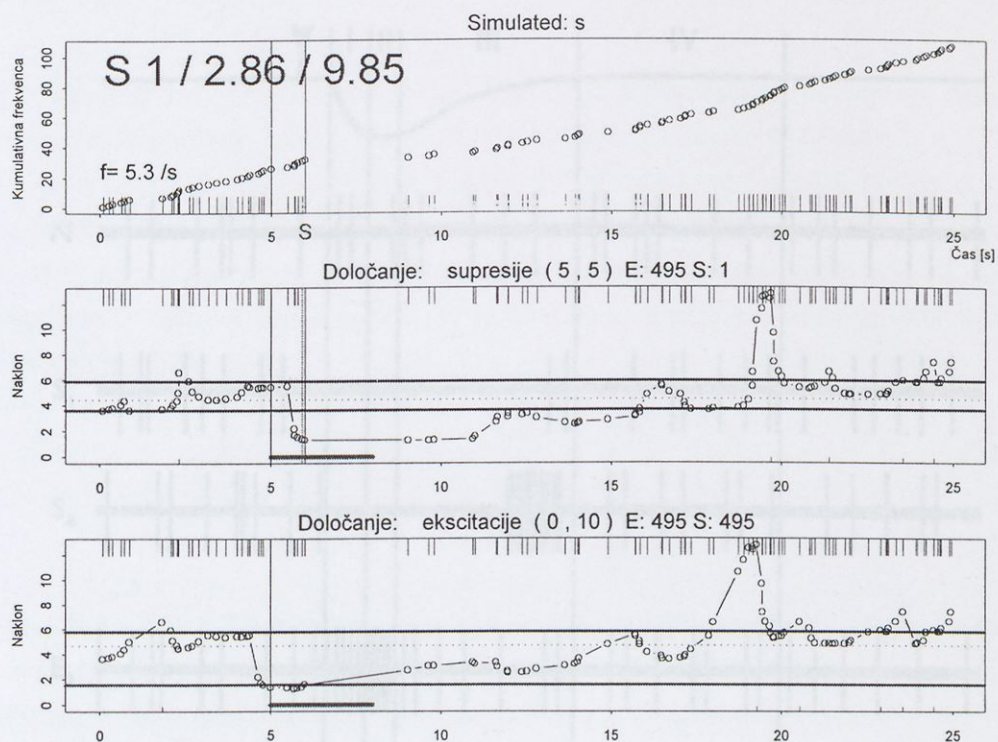
Če se celica na dražljaj odzove z *ekscitacijo*, se hitrost proženja akcijskih potencialov poveča. Zaradi večje gostote akcijskih potencialov se v okolici akcijskih potencialov poveča naklon kumulativne porazdelitve. Naklon lokalne regresijske premice, ki je v nekaj

zaporednih okolicah večji od zgornje kritične meje $Q_{1-\alpha}$, omogoča prepoznavo ekscitacije. Med ekscitacijo krivulja ocen gostote dogodkov za nekaj časa močno preseže zgornjo kritično mejo kontrolnega pasu (Slika 3.14). Čez nekaj časa se krivulja ocen gostote vrne v kontrolni pas, kar pomeni, da je celica spet spontano aktivna.



Slika 3.14: Ocenjevanje ekscitacije.

Če se celica odzove z začasnim zmanjšanjem hitrosti proženja akcijskih potencialov – *supresijo* – se po začetku odziva gostota dogodkov zmanjša. Opazimo enega ali več ne- navadno dolgih intervalov med zaporednimi akcijskimi potenciali. Na takem mestu je krivulja kumulativne porazdelitve dogodkov zelo položna. Naklon lokalne regresijske pre- mice, ki je v nekaj zaporednih okolicah manjši od spodnje kritične meje Q_{α} omogoča prepoznavo supresije celice. Po začetku draženja je krivulja ocen gostote dogodkov za nekaj časa manjša od spodnje kritične meje kontrolnega pasu (Slika 3.15), kar kaže na zmanjšano aktivnost celice – supresijo. Ko se celica vrne v spontano aktivnost, je krivulja ocen gostote dogodkov spet v kontrolnem pasu.



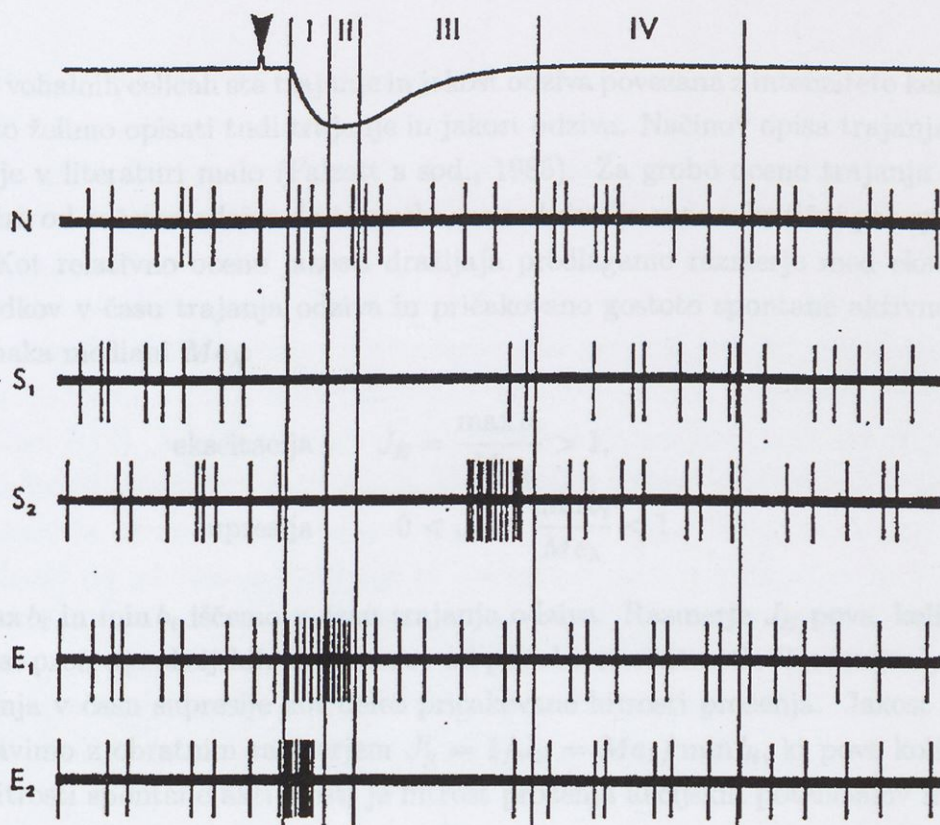
Slika 3.15: Ocenjevanje supresije.

3.1.8 Določitev vrste odziva

Zaradi lastnosti krivulje ocen gostote dogodkov lahko, v območju možnega odziva (MO), zaznamo povečanja (E - ekscitacija) in zmanjšanja (S - supresija) gostote dogodkov. Če značilnih sprememb aktivnosti ne zasledimo, se celica ni odzvala (N). Celice se lahko odzovejo tudi na sestavljen način: ekscitaciji lahko sledi supresija (ES), supresiji lahko sledi ekscitacija (SE). Vrste odzivov, ki jih določamo z opisano metodo se ujemajo z ustaljenimi opisi vrst odzivov (Slika 3.16, iz Kauer, 1974). Vsak od delnih odzivov E ali S ima dodatne lastnosti (čas začetka odziva, trajanje odziva, jakost odziva) (Sliki 3.14 in 3.15).

3.1.9 Določitev začetka odziva

Razen vrste odziva (ekscitacija/supresija) je pomembno ugotoviti, kdaj se odziv začne. Čas začetka odziva izrazimo glede na čas enega od pomembnih trenutkov v poskusu: začetek draženja ali začetek sprememb EOG. Tak trenutek lahko uporabimo za izhodišče merjenja časov.



Slika 3.16: Vrste odzivov. Klasifikacija vrst odziva iz literature in CSA se ujemata: $N=N$, $S_1=S$, $S_2=SE$, $E_1=E$, $E_2=ES$; I-IV: faze EOG (slika povzeta iz Kauer, 1974).

Na začetku odziva se naklon kumulativne porazdelitve zelo spremeni. V primeru ekscitacije (gostote so nad pričakovanimi) je naklon regresijske premice v desni okolici časa začetka ekscitacije t_E veliko večji od naklonov pred odzivom. Krivulja ocen gostote dogodkov je ocenjena iz delno prekritih okolic, zato je nekoliko zglajena. Ker je povečano število akcijskih potencialov vključenih tudi v okolice pred okolico t_E , je v teh okolicah gostota dogodkov nekoliko precenjena. Opisane lastnosti ne vplivajo na lego vrha ocenjene gostote dogodkov. V primeru ekscitacije vzamemo za začetek odziva čas t_E , v katerem ocenimo največjo gostoto dogodkov.

Za določanje začetka supresije (gostote dogodkov so pod pričakovanimi), pri kateri je med dogodki nekaj velikih intervalov, uporabljamo simetrične dogodkovne okolice. Na ta način dobimo ocene, ki dobro pokažejo zmanjšanje naklona obnovitvene krivulje v okolici razredčine dogodkov. V primeru supresije vzamemo za začetek odziva čas t_S , ki ustreza akcijskemu potencialu tik pred časom, v katerem krivulja ocen prvič doseže najmanjšo vrednost. Strogo vzeto je t_S lahko premajhen (za pričakovano vrednost čakalnega časa), saj pričakujemo naslednji akcijski potencial v času $t_S + E[X]$.

3.1.10 Trajanje in jakost odziva

Pri nekaterih vohalnih celicah sta trajanje in jakost odziva povezana z intenziteto kemičnega dražljaja, zato želimo opisati tudi trajanje in jakost odziva. Načinov opisa trajanja in jakosti odziva je v literaturi malo (Falzett s sod., 1985). Za grobo oceno trajanja odziva predlagamo čas od začetka odziva do trenutka, ko se krivulja vrne v kritični pas spontane aktivnosti. Kot relativno oceno jakosti dražljaja predlagamo razmerje med ekstremno gostoto dogodkov v času trajanja odziva in pričakovano gostoto spontane aktivnosti, ki je po (3.2) enaka mediani Me_λ :

$$\text{ekscitacija} \quad J_E = \frac{\max b_i}{Me_\lambda} > 1,$$

$$\text{supresija} \quad 0 < J_S = \frac{\min b_i}{Me_\lambda} < 1.$$

Ekstrema $\max b_i$ in $\min b_i$ iščemo v času trajanja odziva. Razmerje J_E pove, kolikokrat *večja* je hitrost proženja akcijskih potencialov od pričakovane hitrosti. Razmerje J_S izraža hitrost proženja v času supresije kot delež pričakovane hitrosti proženja. Jakost odziva lahko predstavimo z obratnim razmerjem $J'_S = 1/J_S = Me_\lambda / \min b_i$, ki pove kolikokrat *manjša* od hitrosti spontane aktivnosti je hitrost proženja akcijskih potencialov med supresijo.

Razpon ocen hitrosti proženja dogodkov je odvisen od števila dogodkov v okolici (Slika 3.12), zato sta razmerji J_E in J_S odvisni od širine uporabljenih okolic. Vpliv velikosti okolic na oceno relativne jakosti odziva zmanjšamo, če primerjamo ekstremno hitrost proženja dogodkov med odzivom z največjo oziroma najmanjšo pričakovano hitrostjo proženja dogodkov spontane aktivnosti:

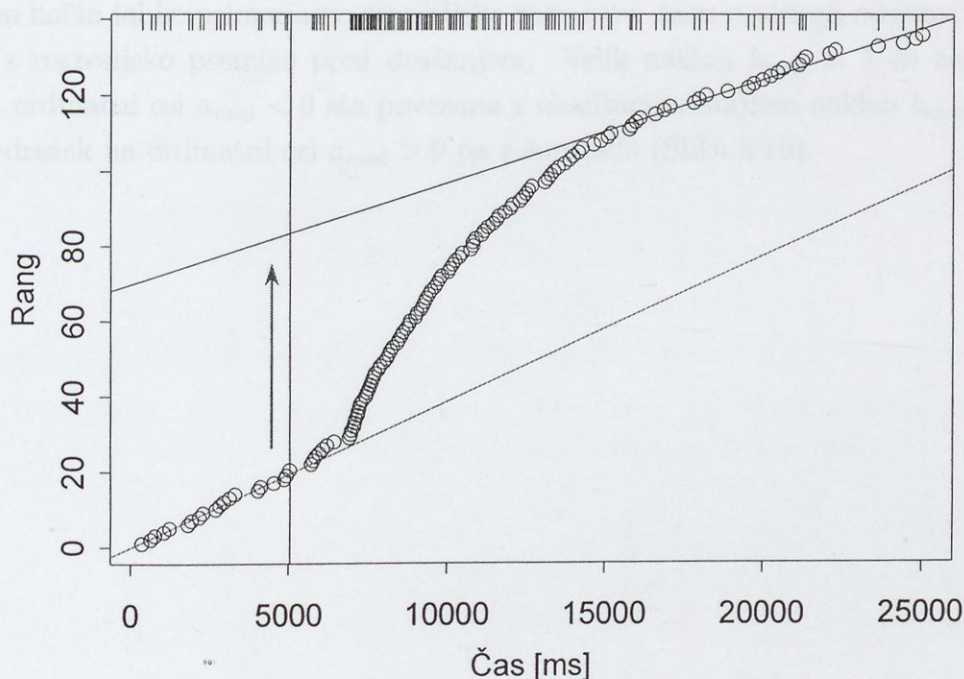
$$\text{ekscitacija} \quad I_E = \frac{\max b_i}{Q_{1-\alpha}} > 1, \quad (3.4)$$

$$\text{supresija} \quad I_S = \frac{Q_\alpha}{\min b_i} > 1. \quad (3.5)$$

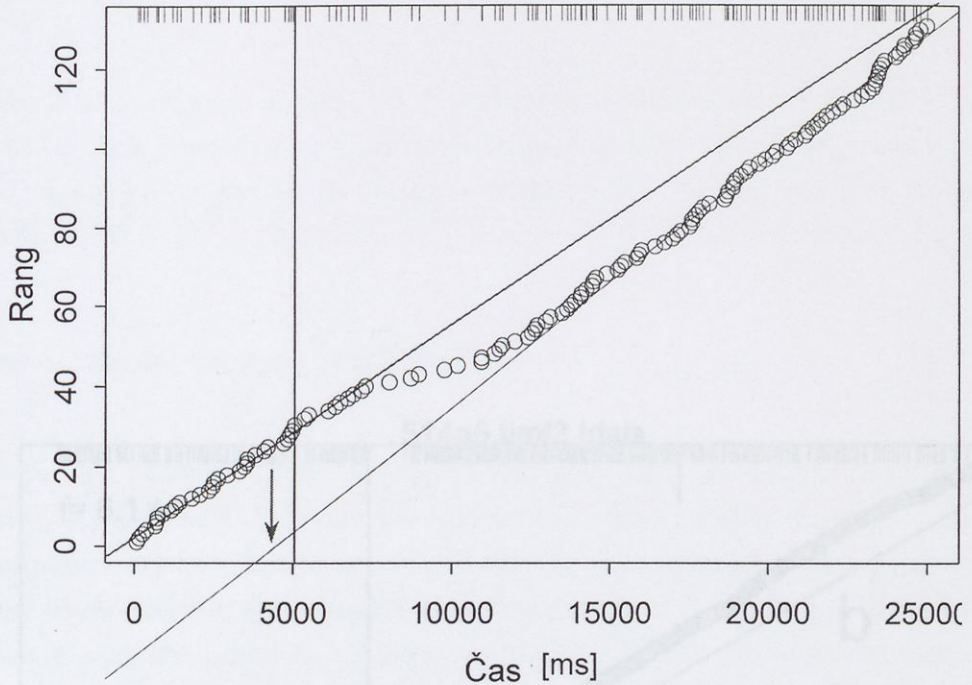
Pri tem sta $Q_{1-\alpha}$ in Q_α po (3.3) zgornja oziroma spodnja meja kontrolnega pasu t.j. kvantila s kvantilnim rangom $1 - \alpha$ oziroma α za porazdelitev ocen hitrosti proženja dogodkov med spontano aktivnostjo. Razmerje I_E pove, kolikokrat *večja* je hitrost proženja akcijskih potencialov med odzivom glede na največjo opaženo hitrost proženja akcijskih potencialov med spontano aktivnostjo. Razmerje I_S pa pove, kolikokrat *manjša* je hitrost proženja akcijskih potencialov med odzivom glede na najmanjšo opaženo hitrost proženja akcijskih potencialov med spontano aktivnostjo. Zaradi majhne občutljivosti na širino uporabljenih okolic smo za oceni jakosti odziva izbrali I_E in I_S (3.4 in 3.5).

3.1.11 Približna ocena odziva vohalne celice

Poteki kumulativne funkcije $N(t)$ imajo tipične lastnosti, ki so odvisne od vrste odziva. Spontano aktivnost pred draženjem opišemo z naklonom začetne regresijske premice $a_{pred} + b_{pred}t$ v celotnem času pred draženjem (PredD). Če predvidevamo, da je po končanem odzivu celica spontano aktivna, lahko to aktivnost lahko opišemo z regresijsko premico $a_{po} + b_{po}t$ (končna premica). Če po draženju celica preide v spontano aktivnost z enako hitrostjo proženja akcijskih potencialov kot pred draženjem, sta naklona premic b_{pred} in b_{po} enaka. Večji naklon končne regresijske premice pomeni večjo, manjši pa manjšo hitrost proženja v primerjavi s spontano aktivnostjo pred draženjem. V primeru ekscitacije (Slika 3.17), je končna regresijska premica v primerjavi z začetno regresijsko premico premaknjena navzgor ($a_{po} > a_{pred}$). Če se celica odzove s supresijo (Slika 3.18), je končna regresijska premica premaknjena navzdol ($a_{po} < a_{pred}$). Odmik in s tem razlika začetnih vrednosti je odvisna od trajanja in intenzitete odziva (Sliki 3.17 in 3.18). S primerno spremembo koordinatnega sistema lahko normiramo začetno premico tako, da je $a_{pred} = 0$ in $b_{pred} = 1$. To omogoča primerjavo parametrov končne premice in klasifikacijo odziva več celic ne glede na hitrost proženja akcijskih potencialov med spontano aktivnostjo posamezne celice (glej razdelek 3.2.2 na str. 48).



Slika 3.17: Ekscitacija: končna premica leži nad začetno premico.



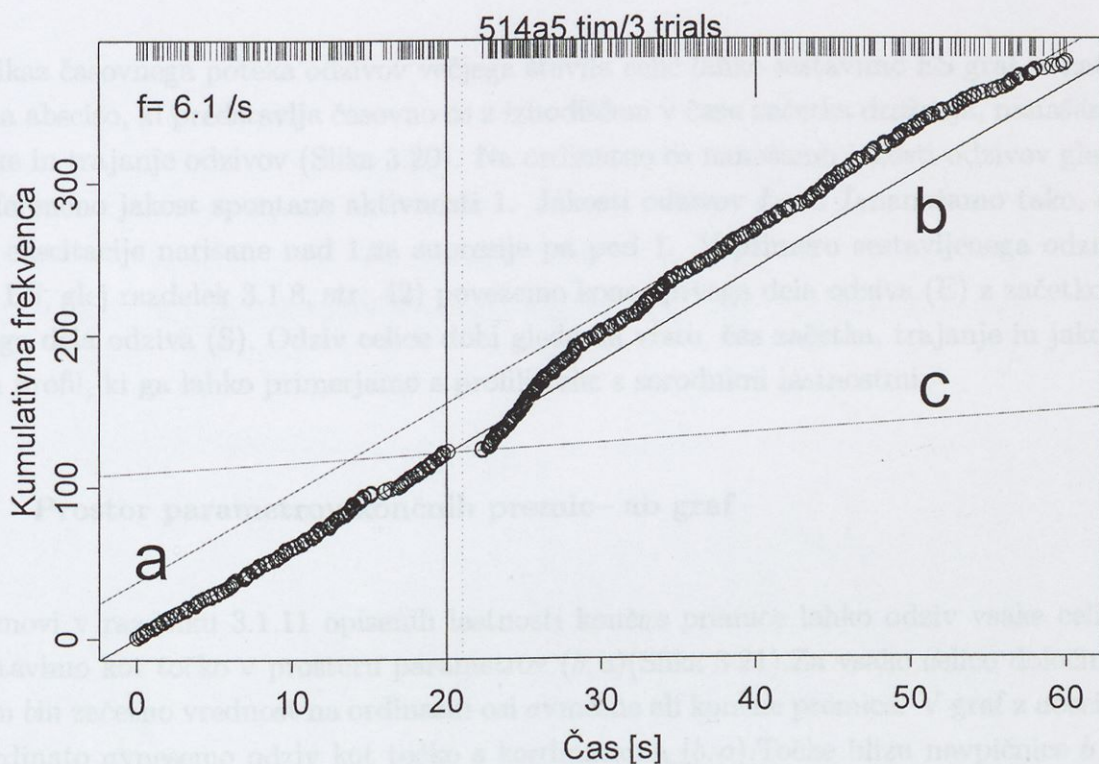
Slika 3.18: Supresija: končna premica leži pod začetno premico.

Na podoben način lahko primerjamo regresijsko premico v času možnega odziva (vmesna premica) z regresijsko premico pred draženjem. Velik naklon $b_{med} > 1$ in negativen odrezek na ordinatni osi $a_{med} < 0$ sta povezana z ekscitacijo, majhen naklon $b_{med} < 1$ in pozitiven odrezek na ordinatni osi $a_{med} > 0$ pa s supresijo (Slika 3.19).

3.2 PREGLEDNI GRAFIČNI PRIKAZI

Kot smo omenili v uvodu tega poglavja, je potrebno za razumevanje volumne kode analitični odzivnost velikega števila celic. Odzivnost velikega števila celic, ki se izraža s podatki o vrsti, času pojavljanja, jakosti, in trajanju odziva celice, bi radi grafično prikazali v enotnem grafu.

3.2.1 Časovni potek odzivov – RS graf



Slika 3.19: Začetna (b), končna (a) in vmesna premica (c) v primeru supresije, ki ji sledi ekscitacija. Končna hitrost proženja akcijskih potencialov je podobna začetni.

3.2 PREGLEDNI GRAFIČNI PRIKAZI

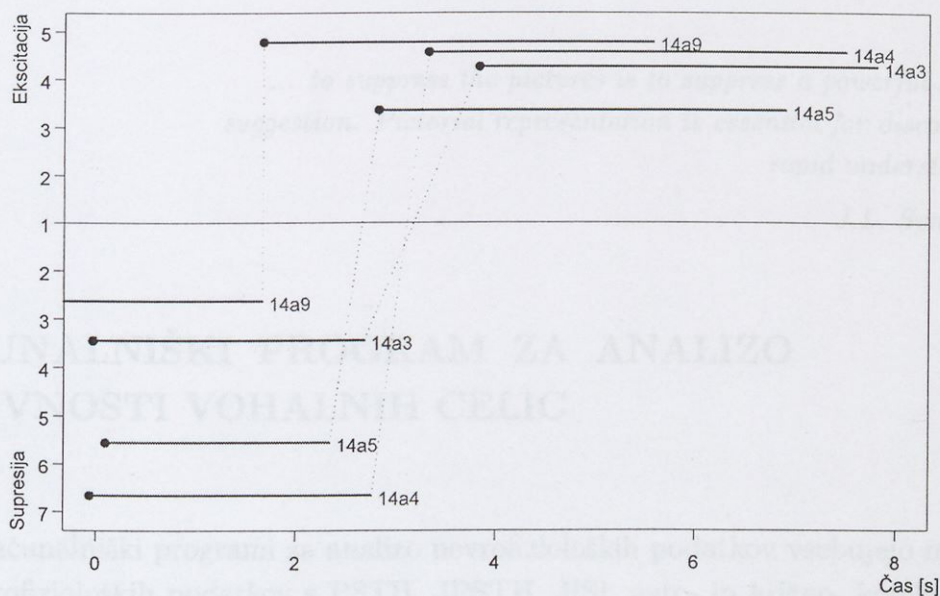
Kot smo omenili v uvodu tega poglavja, je potrebno za razumevanje vohalne kode analizirati odzivnost velikega števila celic. Odzivnost velikega števila celic, ki se izraža s podatki o vrsti, času pojavljanja, jakosti, in trajanju odziva celice, bi radi grafično prikazali v enotnem grafu.

3.2.1 Časovni potek odzivov – ES graf

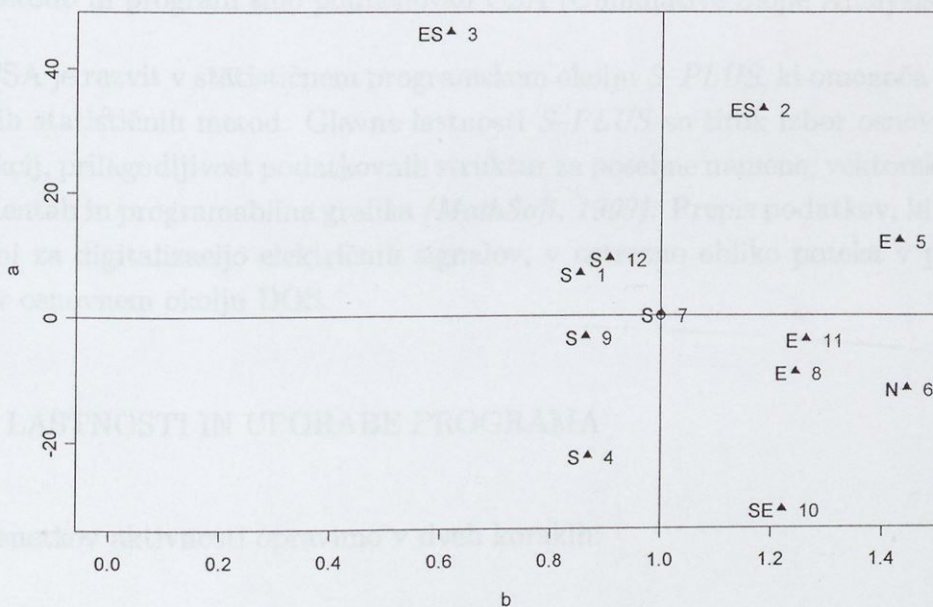
Za prikaz časovnega poteka odzivov večjega števila celic lahko sestavimo ES graf, v katerem na absciso, ki predstavlja časovno os z izhodiščem v času začetka draženja, nanašamo začetke in trajanje odzivov (Slika 3.20). Na ordinatno os nanašamo jakosti odzivov glede na referenčno jakost spontane aktivnosti 1. Jakosti odzivov I_E in I_S nanašamo tako, da so za ekscitacije narisane nad 1, za supresije pa pod 1. V primeru sestavljenega odziva (npr. ES, glej razdelek 3.1.8, str. 42) povežemo konec prvega dela odziva (E) z začetkom drugega dela odziva (S). Odziv celice dobi glede na vrsto, čas začetka, trajanje in jakost lasten profil, ki ga lahko primerjamo s profili celic s sorodnimi lastnostmi.

3.2.2 Prostor parametrov končnih premic– ab graf

Na osnovi v razdelku 3.1.11 opisanih lastnosti končne premice lahko odziv vsake celice predstavimo kot točko v prostoru parametrov (b, a) (Slika 3.21). Za vsako celico določimo naklon b in začetno vrednost na ordinatni osi a vmesne ali končne premice. V graf z absciso b in ordinato a vnesemo odziv kot točko s koordinatama (b, a) . Točke blizu navpičnice $b = 1$ pripadajo celicam, ki po draženju nimajo spremenjene aktivnosti. Točke v prostoru desno od $b = 1$ imajo povečano, točke levo od $b = 1$ pa zmanjšano aktivnost. Celice, ki so pod vodoravno črto $a = 0$ so se na draženje odzvale s supresijo, tiste, ki imajo točke nad premico $a = 0$, pa z ekscitacijo. Točke, ki ležijo blizu premice $a = 0$ se niso odzvale na dražljaj. Celice, ki niso spremenile svoje aktivnosti imajo točke blizu presečišča referenčnih premic $(1, 0)$. Prostor parametrov razpade na območja, v katerih lahko klasificiramo celice glede na njihov odziv.



Slika 3.20: ES graf za časovne poteke skupine celic: supresiji sledi ekscitacija.



Slika 3.21: Prostor parametrov končnih premic: b in a sta naklon in odrezek regresijske premice $bx + a$. Vsaka točka predstavlja odraz odziva celice na končni premici. Ob točkah so na levi oznake vrste odziva (E: ekscitacija, S: supresija, N: ni odziva; ES, SE: kombiniran odziv) in identifikacijske oznake celic.

... to suppress the pictures is to suppress a powerful source of suggestion. Pictorial representation is essential for discovery and rapid understanding...

J.L. Synge, 1957

4 RAČUNALNIŠKI PROGRAM ZA ANALIZO AKTIVNOSTI VOHALNIH CELIC

Obstoječi računalniški programi za analizo nevrofizioloških podatkov vsebujejo možnosti analize nevrofizioloških podatkov s PSTH, JPSTH, JISI, avto- in križno- korelacijo. Ti programi so manj primerni za analizo sprememb aktivnosti spontano aktivnih živčnih celic. Zato smo na osnovi v podpoglavju 3.1 opisanih lastnosti razvili metodo in njej prilagojen računalniški program za analizo sprememb aktivnosti spontano aktivnih vohalnih celic. Ta program uporablja lastnosti naklonov kumulativne porazdelitve pojavljanja dogodkov. Metodo in program smo poimenovali CSA (Cumulative Slope Analysis).

Program CSA je razvit v statističnem programskem okolju *S-PLUS*, ki omogoča učinkovit razvoj novih statističnih metod. Glavne lastnosti *S-PLUS* so širok izbor osnovnih statističnih funkcij, prilagodljivost podatkovnih struktur za posebne namene, vektorsko računanje po komponentah in programabilna grafika (*MathSoft, 1999*). Prepis podatkov, ki so zbrani z napravami za digitalizacijo električnih signalov, v ustrezno obliko poteka v posebnem programu v osnovnem okolju DOS.

4.1 OPIS LASTNOSTI IN UPORABE PROGRAMA

Analizo posnetkov aktivnosti opravimo v dveh korakih:

1. predpriprava podatkov
2. analiza podatkov

(a) ogled posnetka aktivnosti in naklonov začetne in končne premice

- pregledni prikaz odzivov celic (ab graf)

(b) določitev vrste, začetka, trajanja in jakosti odziva

- pregledni prikaz potekov odzivov (ES graf)

V posamezni analizi izberemo enega ali več postopkov iz točke 2. Glavni del analize aktivnosti vohalnih celic je točka 2.b.

4.1.1 Predpriprava podatkov

Posnetki poskusov različnih laboratorijev so v osnovi enaki, ločijo pa se v podrobnostih, ki so odvisne od različne merilne opreme. Posnetke poskusov je bilo pred uporabo potrebno poenotiti. Program omogoča tudi analizo obstoječih laboratorijskih posnetkov. Za prepis izvirnih podatkov v obliko, ki je primerna za uporabo CSA, smo pripravili predprogram PreCSA. Ta vključuje posebnosti podatkov iz različnih laboratorijev¹ v katerih smo razvijali in preskušali novo metodo. S predprogramom PreCSA uredimo podatke o aktivnosti in začetku dovajanja dražilne snovi ter postavimo nekaj laboratorijsko specifičnih parametrov poskusa: trajanje draženja in čase pričakovane odziva. Če je posnet EOG, iz njega določimo čas začetka spremembe električne aktivnosti vohalnega organa. Potek EOG potrebujemo le še na grafičnih prikazih, zato lahko zmanjšamo natančnost posnetka. Iz praktičnih razlogov so datoteke vsakega laboratorija prepoznavne po podaljšku imena datotek. Samo ime datoteke določa identifikacijo vohalne celice in poskusnih pogojev. Na ta način ohranimo ustaljen način dela v laboratoriju, datoteke za CSA so le dopolnili obstoječim datotekam. Datoteke smiselno uredimo v poddirektorije za skupine celic in/ali skupine poskusnih pogojev. To omogoča paketno predpripravo podatkov (program PreCSA preuredi datoteke posameznega posnetka ali pa skupine posnetkov) in kasnejšo analizo skupin posnetkov s CSA. Program PreCSA je sprogramiran v programskem jeziku Pascal in deluje v okolju DOS.

4.1.2 Ogled posnetka aktivnosti

Ogled posnetka aktivnosti omogoča funkcija pike. Funkcija pripravi sliko, v kateri so združeni rasterski prikaz dogodkov, kumulativna porazdelitev in začetna, vmesna in končna premica (glej podpoglavje 3.1.11). V sliki je nakazan začetek dovajanja dražilne snovi in gostota dogodkov pred začetkom draženja (Slika 3.19). Posnetek EOG je prikazan le, če

¹Metodo smo razvijali v laboratorijih na Univerzi v Ljubljani, Univerzitet Goettingen, University of Minnesota (St. Paul) in Tufts University (Boston).

je dodan posnetku aktivnosti celice. Na taki sliki lahko opazimo osnovne značilnosti in spremembe aktivnosti opazovane celice. S funkcija `show.x` pripravimo pregledne slike za skupino posnetkov. Taka slika omogoča pregled rezultatov podrobnejših analiz. Funkcija `show.x` pripravi tabelo (objekt *ab*) s podatki o premicah, ki opisujejo aktivnost pred, med in po odzivu celice na dražljaj.

4.1.2.1 Pregledna slika aktivnosti celic

Tabelo aktivnosti pripravimo s funkcijo `show.x`, iz nje pa, s funkcijo `show.ab`, pregledno sliko aktivnosti skupine celic. Spremembo aktivnosti vsake celice predstavimo s točko (b, a), kjer je b naklon, a pa odrezek končne in/ali vmesne premice. Točka $(1, 0)$ predstavlja normirano spontano aktivnost celic (glej podpoglavje 3.2.2 in sliko 3.21). Točke, ki predstavljajo celice s spremenjeno aktivnostjo, so glede na spremembo aktivnosti bolj ali manj oddaljene od točke spontane aktivnosti.

4.1.3 Določitev vrste, začetka, trajanja in jakosti odziva

Glavni del programske izvedbe metode CSA je funkcija `spike`. S to funkcijo določimo vrsto, začetek, trajanje in jakost odziva na način, ki je opisan v podpoglavjih 3.1.8 - 3.1.10. Funkcijo `spike` lahko uporabimo za analizo aktivnosti posamezne celice, s funkcijo `show.bs` pa za poljubno veliko skupino posnetkov aktivnosti celic. Če analiziramo skupino posnetkov, pripravi funkcija `show.bs` tabelo z rezultati analize: vrsto, začetek, trajanje in jakost odziva (objekt *ES*). Tabela z rezultati analiz omogoča pregled aktivnosti večjega števila celic, na primer porazdelitev vrste odzivov (*E/S*).

4.1.3.1 Pregledna slika poteka odziva

Iz tabele odzivov (*ES*) pripravimo s funkcijo `show.es` pregledno sliko poteka odzivov (podpoglavje 3.2.1, Slika 3.20). Vsako celico opisuje profil, ki ga določa kombinacija in zaporedje odzivov: $N=ni$ odziva, $S=supresija$, $E=ekscitacija$, $ES=ekscitacija$ in $supresija$, $SE=supresija$ in $ekscitacija$ (glej podpoglavje 3.1.8).

*Exploratory data analysis can never be the whole story, but
nothing else can serve as the foundation stone – as the first step*

J. W. Tukey, 1977

5 PRIMERI UPORABE

Metoda CSA je uporabna za analizo aktivnosti procesov, ki so nenehno aktivni. Uporabimo jo lahko za analizo vohalnih čutilnih celic, ki so v odsotnosti dražljaja spontano aktivne. CSA je uporabna tudi za analizo aktivnosti mitralnih celic v vohalnem bulbusu, ki so nenehno aktivne tudi zaradi spontane aktivnosti vohalnih čutilnih celic s katerimi so povezane v mrežo. S CSA smo analizirali posnetke aktivnosti vohalnih čutilnih celic ameriškega somiča (*Ameiurus nebulosus*) ter mitralnih celic zlate ribice (*Carassius auratus*) in aksolotla (*Ambystoma tigrinum*).

Podatki so bili zbrani in analizirani v štirih laboratorijih na Univerzi v Ljubljani, University of Minnesota, Universität Göttingen in Tufts University.

5.1 VOHALNE ČUTILNE CELICE AMERIŠKEGA SOMIČA

5.1.1 Opis poskusnih pogojev in podatkov

Prof. dr. Tine Valentinčič, Laboratorij za nevrotologijo, Univerza v Ljubljani (Valentinčič s sod., 1996; Koce, 1999)

Vrsta živali: ameriški somič (*Ameiurus nebulosus*)

Elektrofiziološka metoda: platinum black

Frekvenca digitalizacije analognega zapisa: 44,1 kHz

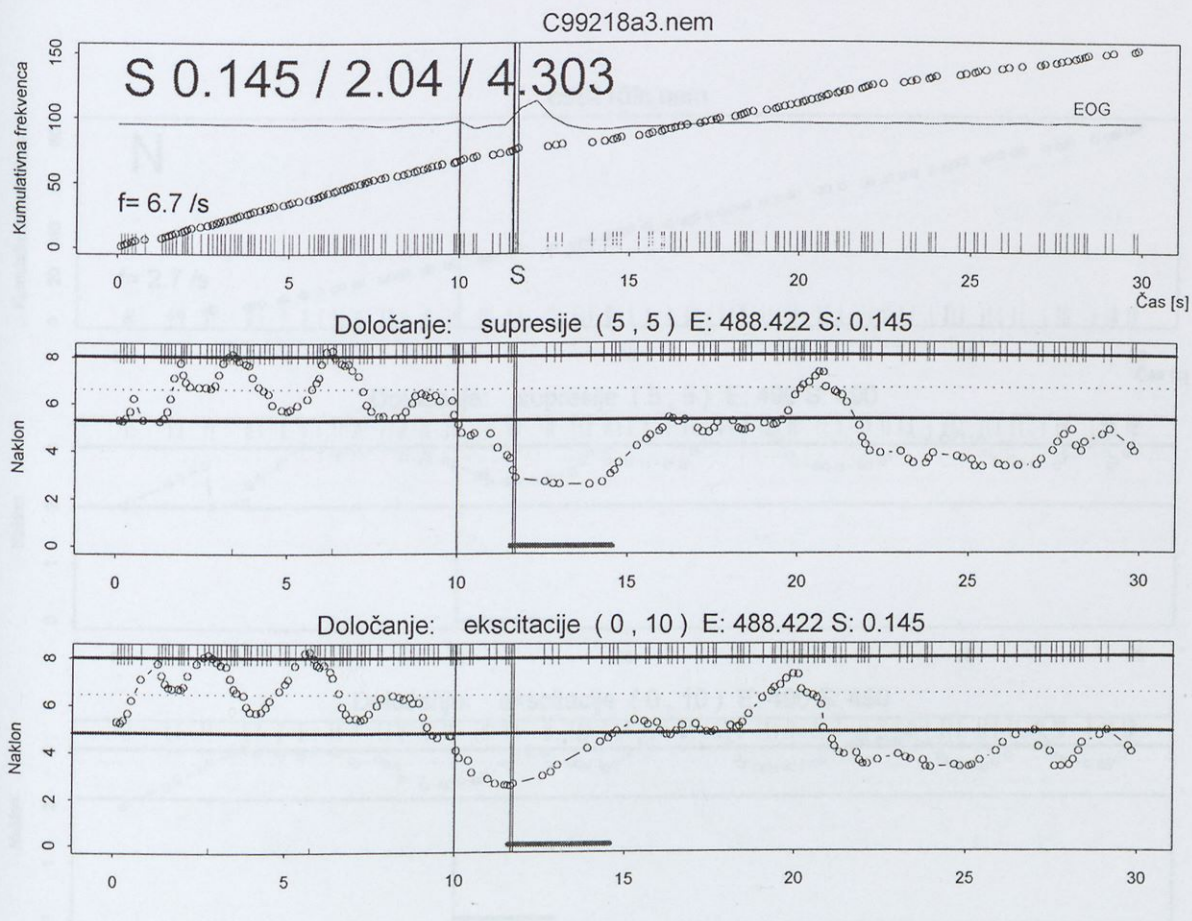
Vohalne čutilne celice (prvi sloj vohalne živčne mreže)

Draženje z L-amino kislinami

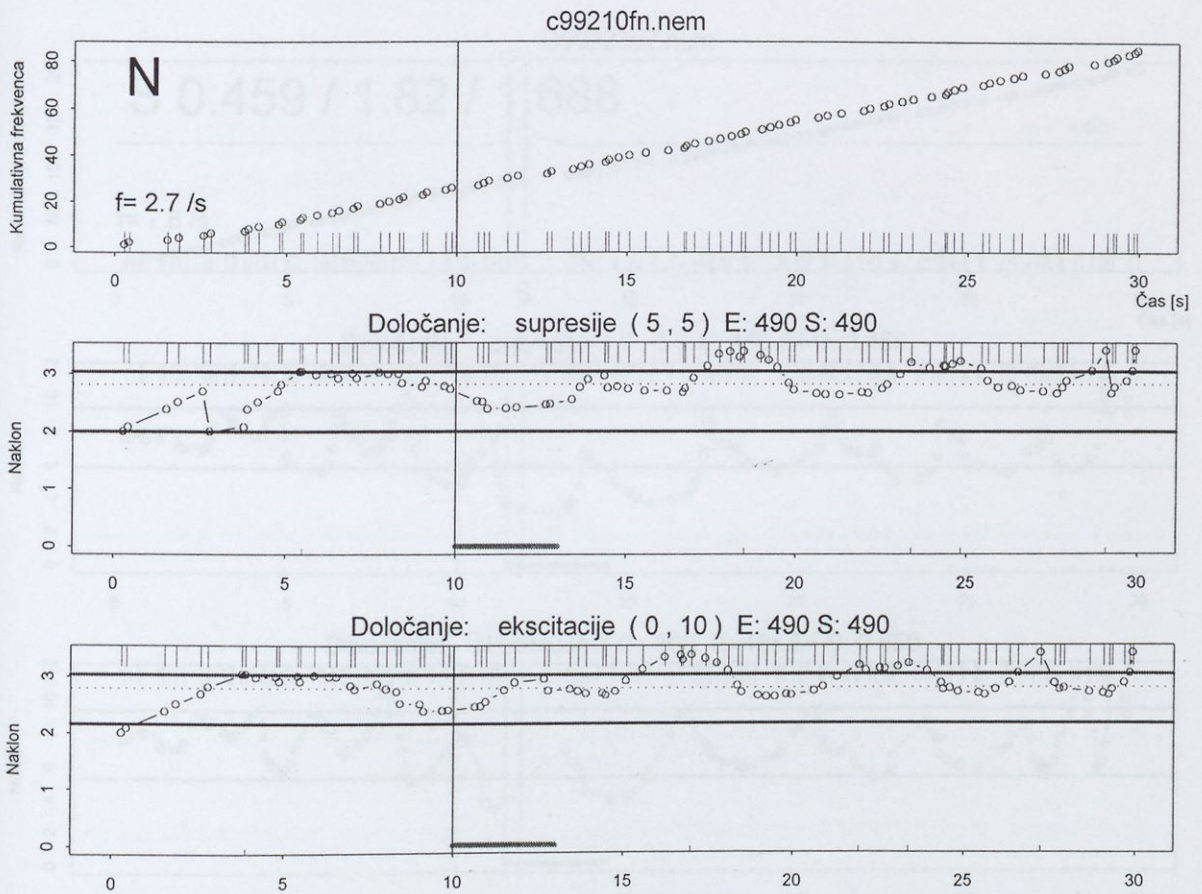
Posnetek spontane aktivnosti: 10 s, trajanje draženja: 30 s

Posnetki:

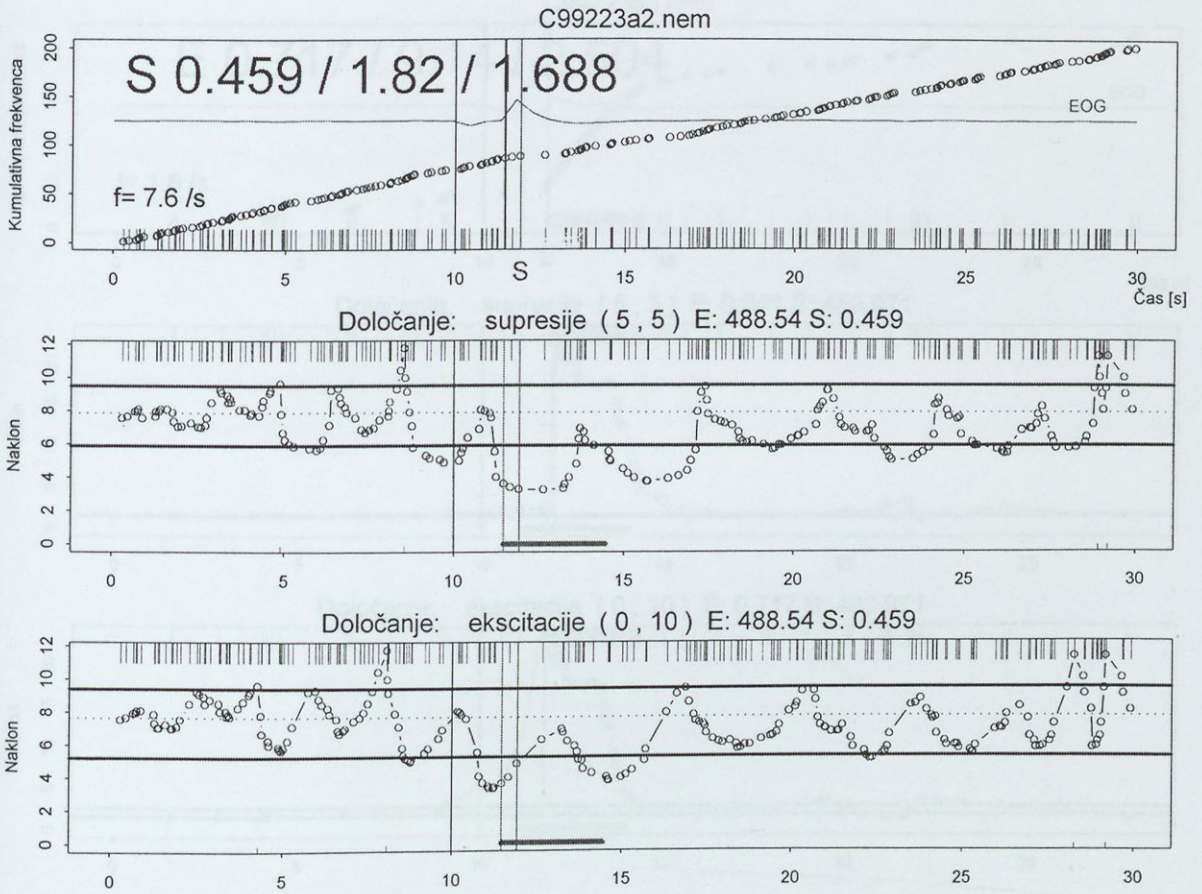
- EOG za časovni okvir odziva posameznih celic
- Aktivnost živčne celice, čas med akcijskimi potenciali
- Časovne oznake: začetek poskusa, začetek dovajanja dražljaja (odpiranje ventila)



Slika 5.1: S - supresija. Oznaka dražilne snovi in poskusa: c99218a3. Krivulja ocenjene hitrosti proženja akcijskih potencialov je pod spodnjo kritično mejo (srednja slika). Opis slik tega poglavja: Zgornja slika: kumulativna porazdelitev. Srednja slika: ocene gostot dogodkov (nakloni regresijskih premic) iz simetričnih okolic; vodoravni črti: kritični meji. Spodnja slika: ocene iz desnih okolic; vodoravni črti: kritični meji. Črta nad časovno osjo - območje pričakovanega odziva; navpična črta - začetek draženja, krivulja s točkami - ocene gostote dogodkov. ..



Slika 5.2: N - ni odziva. Oznaka dražilne snovi in poskusa: c99210fn. Celica se v obdobju možnega odziva (5s) ni odzvala na dražljaj. Ocenjena hitrost proženja akcijskih potencialov je v območju pričakovanih vrednosti tudi med draženjem.



Slika 5.3: S - supresija. Oznaka dražilne snovi in poskusa: c99223a2. Območje možnega odgovora se začne ob spremembi EOG (debeli črta nad časovno osjo).

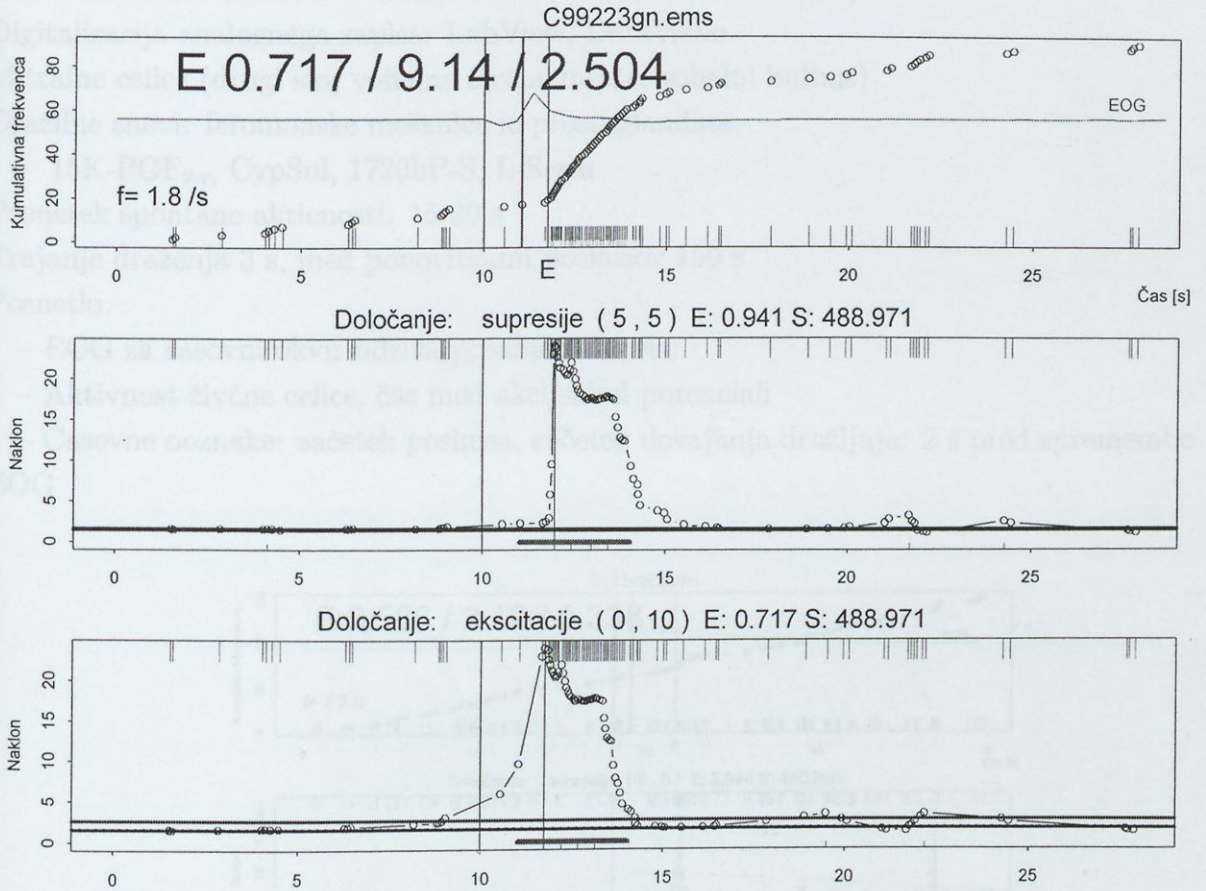
5.2 MITRALNE CELICE ŽLATE RIBICE

5.2.1 Opis poskusnih pogojev in podatkov

Prof. dr. Peter W. Somjen, Department of Fisheries and Wildlife,
University of Minnesota, St. Paul (Hanson 1994, 1998; Hanson, 2001)

Vrsta živali: zlata ribica (*Carassius auratus*)

Elektrofiziološka metoda: steklena elektroda (impedanca 2-8 M Ω)



Slika 5.4: E - ekscitacija. Oznaka dražilne snovi in poskusa: c99223gn. Celica z majhno spontano aktivnostjo se je odzvala z močno ekscitacijo in se vrnila v prvotno spontano aktivnost.

5.2 MITRALNE CELICE ZLATE RIBICE

5.2.1 Opis poskusnih pogojev in podatkov

Prof. dr. Peter W. Sorensen, Department of Fisheries and Wildlife,

University of Minnesota, St. Paul (Hanson s sod., 1998; Hanson, 2001)

Vrsta živali: zlata ribica (*Carassius auratus*)

Elektrofiziološka metoda: steklena elektroda (upornost 2-8 M Ω)

Digitalizacija analognega zapisa: LabView, DataWave

Mitralne celice (drugi sloj vohalne živčne mreže, vohalni bulbus)

Dražilne snovi: feromonske mešanice iz prostaglandina

15K-PGF_{2 α} , CypSul, 1720bP-S, L-Serin

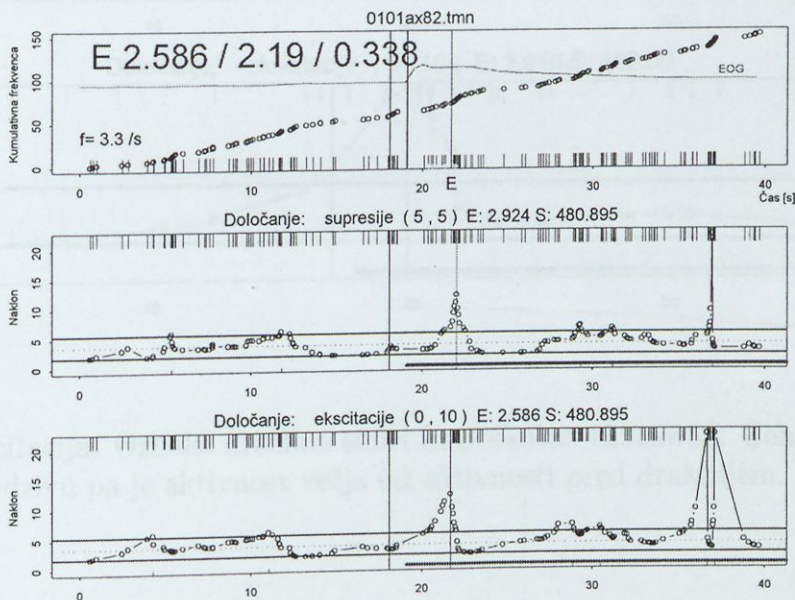
Posnetek spontane aktivnosti: 15-20 s

Trajanje draženja 3 s, med ponovitvami poskusov 150 s

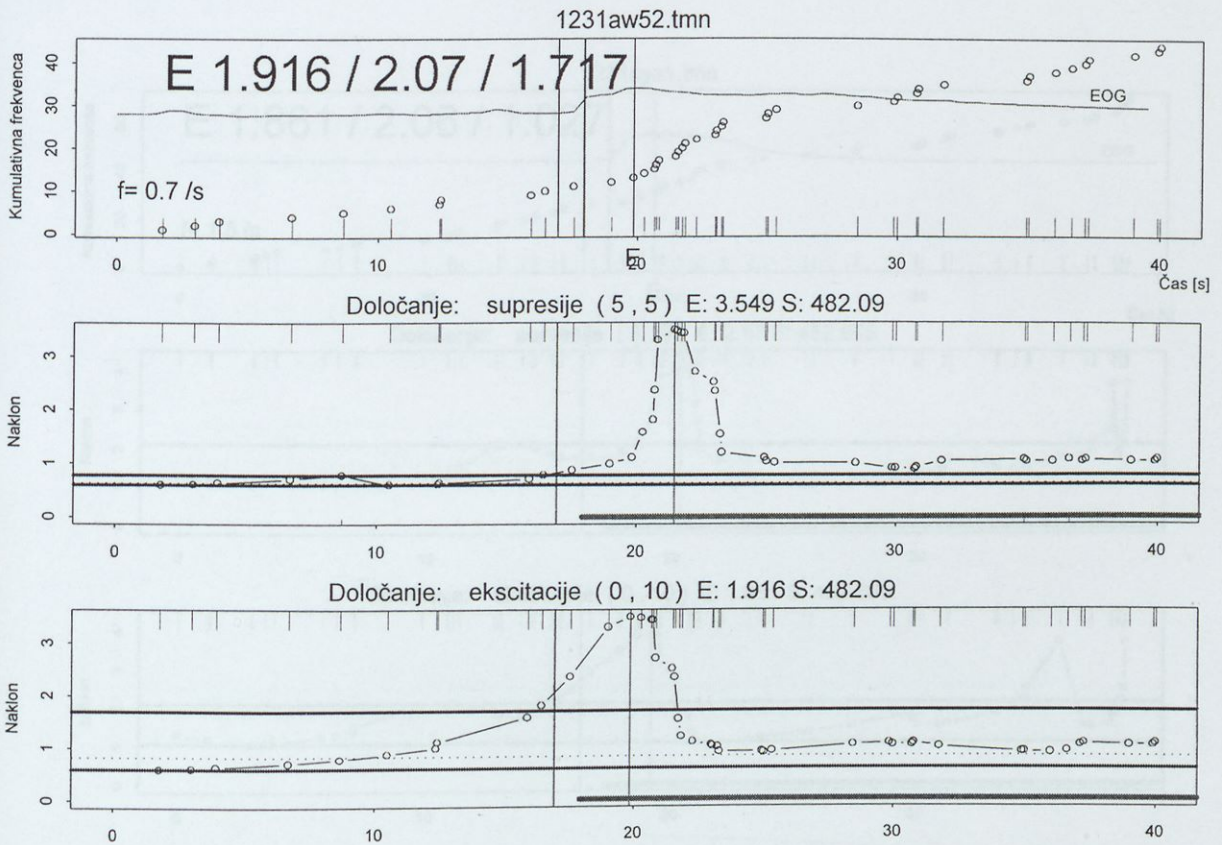
Posnetki:

- EOG za časovni okvir odziva posameznih celic
- Aktivnost živčne celice, čas med akcijskimi potenciali
- Časovne oznake: začetek poskusa, začetek dovajanja dražljaja: 2 s pred spremembo

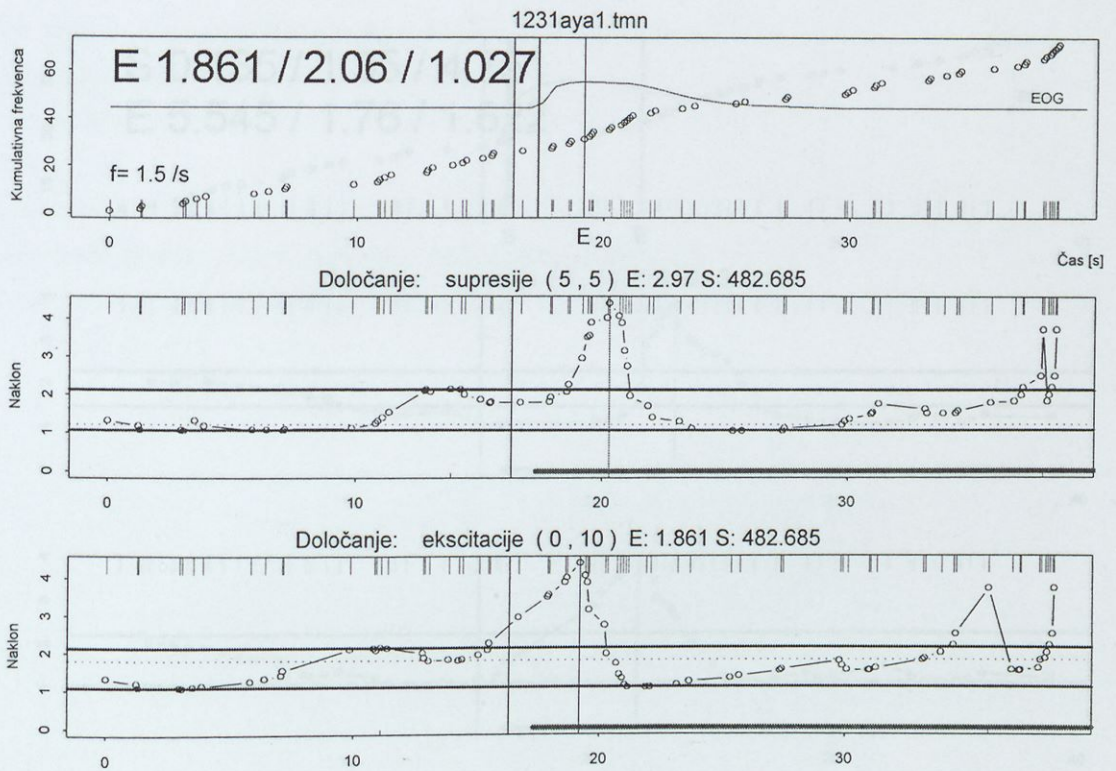
EOG



Slika 5.5: E - ekscitacija. Oznaka dražilne snovi in poskusa: 0101ax82. Navidezna supresija se začne pred spremembo EOG, zato je ne štejemo. Podobne zakasnitve akcijskih potencialov opazimo tudi med spontano aktivnostjo.



Slika 5.6: E - ekscitacija. Oznaka dražilne snovi in poskusa: 1231aw52. Celica se odzove z ekscitacijo, po odzivu pa je aktivnost večja od aktivnosti pred draženjem.



Slika 5.7: E - ekscitacija. Oznaka dražilne snovi in poskusa: 1231aya1.

5.3 MITRALNE CELICE ZLATE RIBICE

5.3.1 Opis poskusnih pogojev in podatkov

Prof. dr. Peter Zippel, Physiologisches Institut, Universität Göttingen (Zippel s sod., 1994, 1999)

Vrsta živali: zlata ribica (*Carassius auratus*)

Elektrofiziološka metoda: steklena elektroda (A-M systems, 10-12 M Ω)

Digitalizacija analognega zapisa: Discovery, Brainwave, 30KHz

Mitralne celice (drugi sloj vohalne živčne mreže, vohalni bulbos)

Dražilne snovi: aminokisliline (L-Ala, L-Glu, L-Arg, L-Lys)

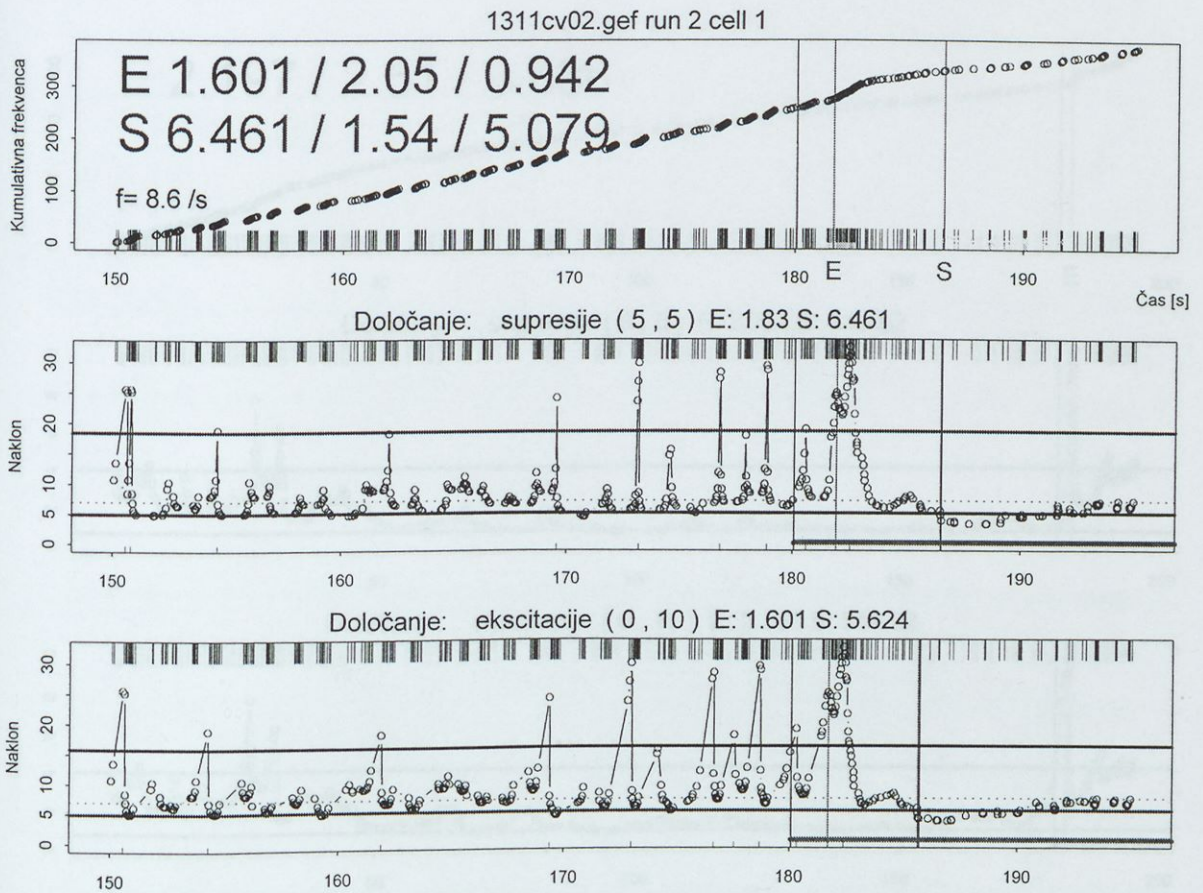
Trajanje: zaporedno 15 sekundno draženje

med ponovitvami poskusa 180 s posnete vodne prekinitve

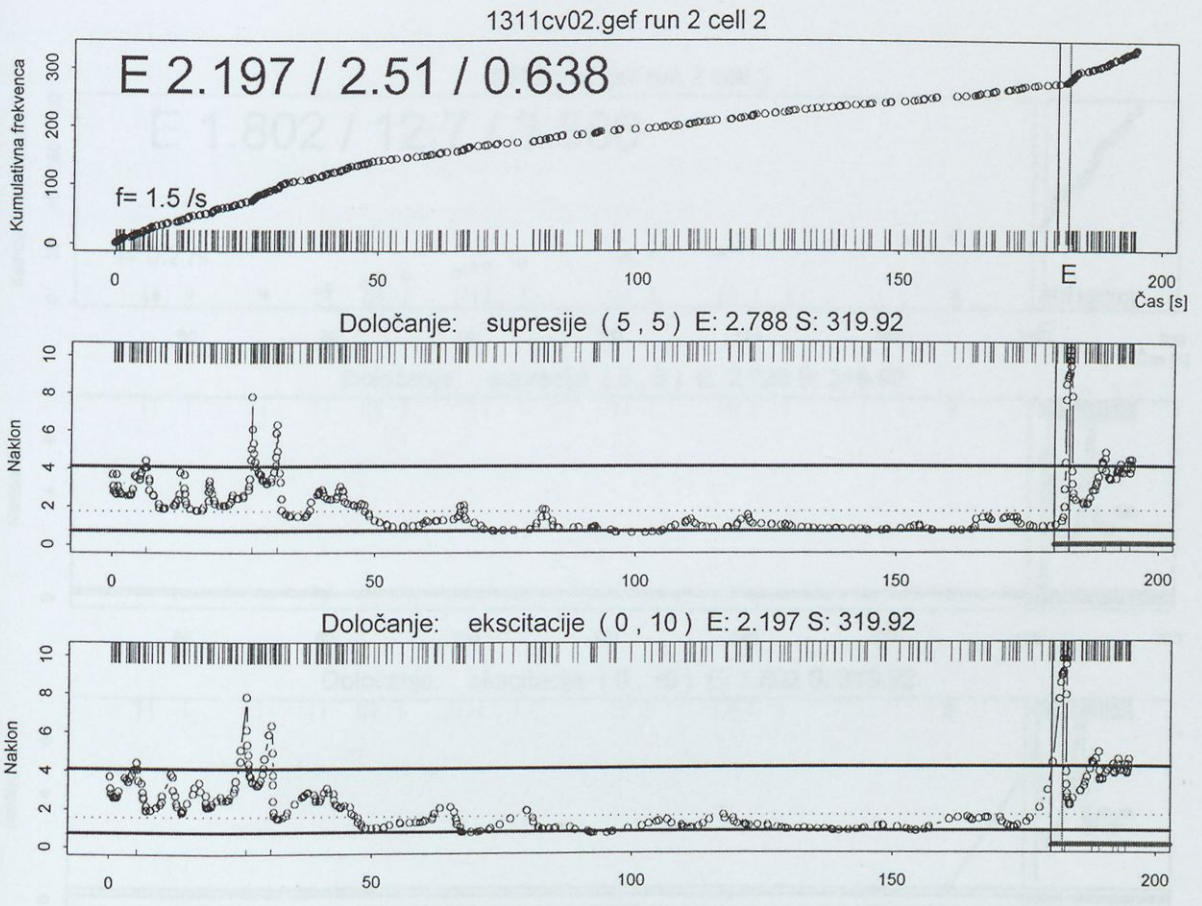
Posnetki:

- EOG za časovni okvir odziva posameznih celic
- Aktivnost živčne celice, čas med akcijskimi potenciali
- Časovne oznake: začetek poskusa, začetek dovajanja dražljaja (odpiranje ventila)

Slika 5.9: ES odziv in skupni akcijski potenciali. Označa frekvenčni vodni in vodni 1311ev02/2/1. Električni vodni vodni. Med spontano aktivnostjo se pojavijo skupni akcijski potenciali (barvi), ki jih opazimo kot poročilne razpoke aktivnosti, ki so izvirni proženja akcijskih potencialov. Poročilni vodni je zelo občutljiva, zato dojamu veliko aktivno mejo pričakovani hitrosti problema.



Slika 5.9: ES odziv in skupki akcijskih potencialov. Oznaka dražilne snovi in poskusa: 1311cv02/2/1. Ekscitaciji sledi supresija. Med spontano aktivnostjo se pojavljajo skupki akcijskih potencialov (burst), ki jih opazimo kot periodične vrhove v krivulji ocen hitrosti proženja akcijskih potencialov. Porazdelitev ocen je zelo asimetrična, zato dobimo veliko zgornjo mejo pričakovanih hitrosti proženja.



Slika 5.10: E - ekscitacija. Oznaka dražilne snovi in poskusa: 1311cv02/2/2. Hitrost proženja v prvih 50s spontane aktivnosti je večja od kasnejše in primerljiva s hitrostjo proženja med odzivom. Začetek posnetka je najbrž del odziva prejšnjega poskusa. 180s dolga prekinitvev med poskusi zagotavlja, da se celica vrne v prvotno stanje spontane aktivnosti.

5.4 MITRALNE CELICE TIGRASTEČA AKSOGOTLA

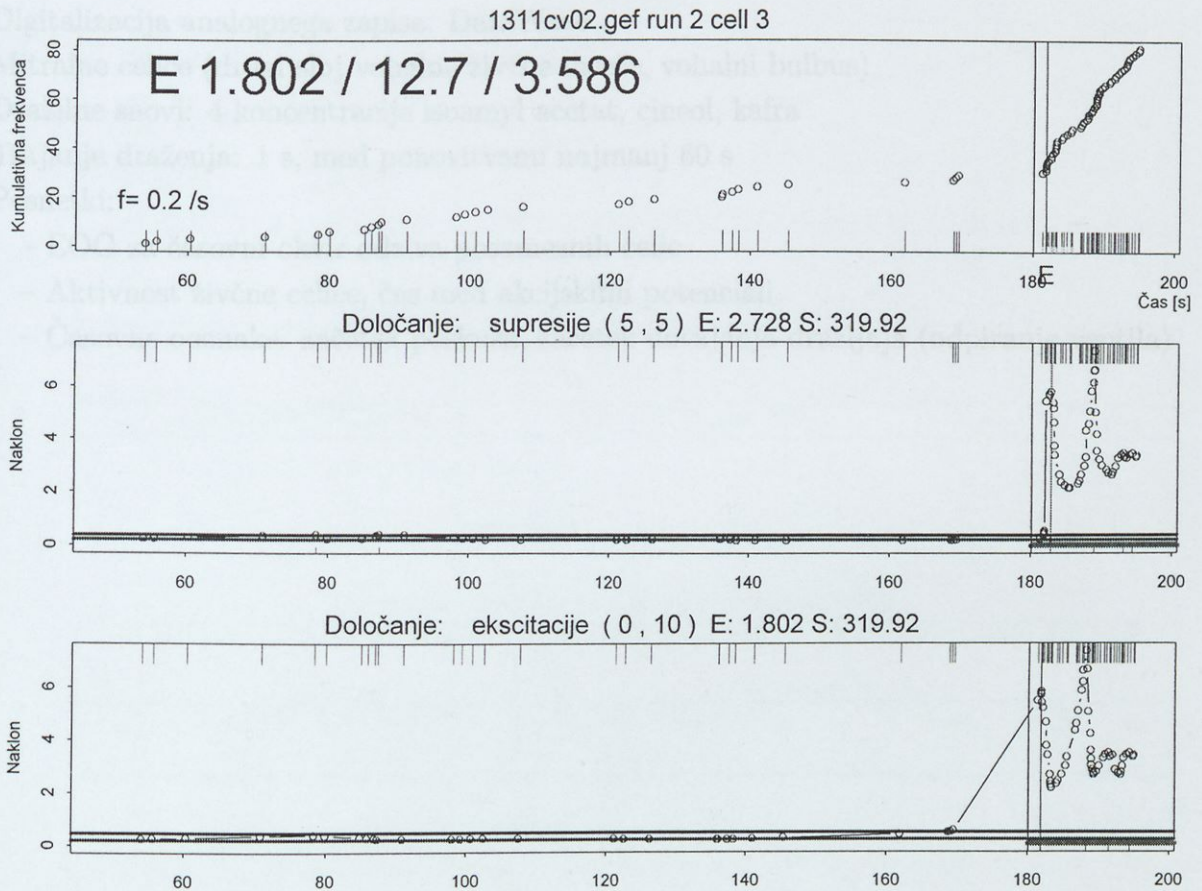
5.4.1 Opis poskusnih pogojev in podatkov

Prof. dr. John S. Kauer, Department of Neurosciences, Tufts University, Boston (Kauer, 1974; Kauer in Shepherd, 1977; Davies & coll., 1987)

Vista živali: tipični sklop (Analgetična skupina)

Elektrofiziološka metoda: stacionarna mikroelektroda (upornost 50-200 M Ω)

Digitalizacija analognih zapisov: 1000 Hz



Slika 5.11: E - ekscitacija. Oznaka dražilne snovi in poskusa: 131cv02/2/3. Celica z nizko spontano aktivnostjo se je na dražljaj odzvala z močno ekscitacijo.

5.4 MITRALNE CELICE TIGRASTEGA AKSOLOTLA

5.4.1 Opis poskusnih pogojev in podatkov

Prof. dr. John S. Kauer, Department of Neuroscience, Tufts University, Boston (Kauer, 1974; Kauer in Shepherd, 1977; Dorries s sod., 1997)

Vrsta živali: tigrasti aksolotl (*Ambystoma tigrinum*)

Elektrofiziološka metoda: steklena mikroelektroda (upornost 50-200 M Ω)

Digitalizacija analognega zapisa: DataWave

Mitralne celice (drugi sloj vohalne živčne mreže, vohalni bulbus)

Dražilne snovi: 4 koncentracije isoamyl acetat, cineol, kafa

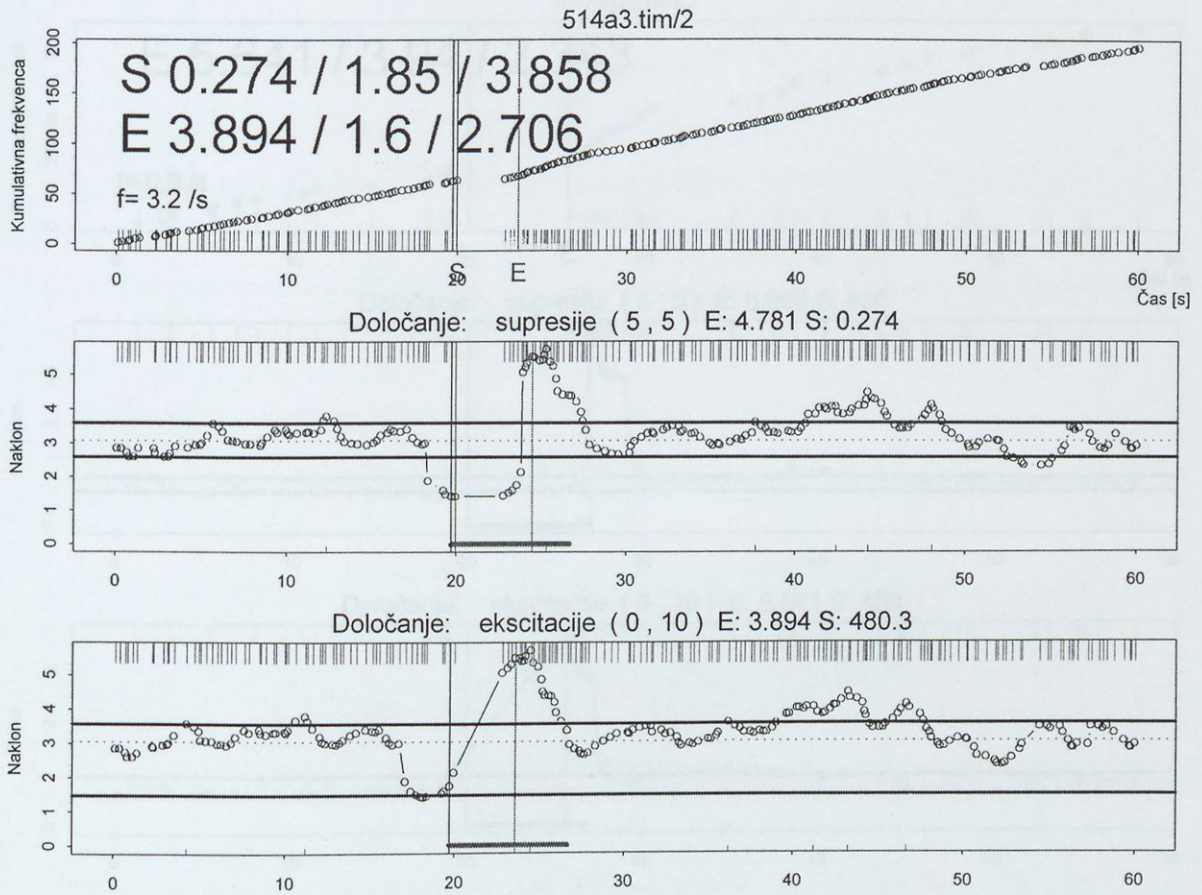
Trajanje draženja: 1 s, med ponovitvami najmanj 60 s

Posnetki:

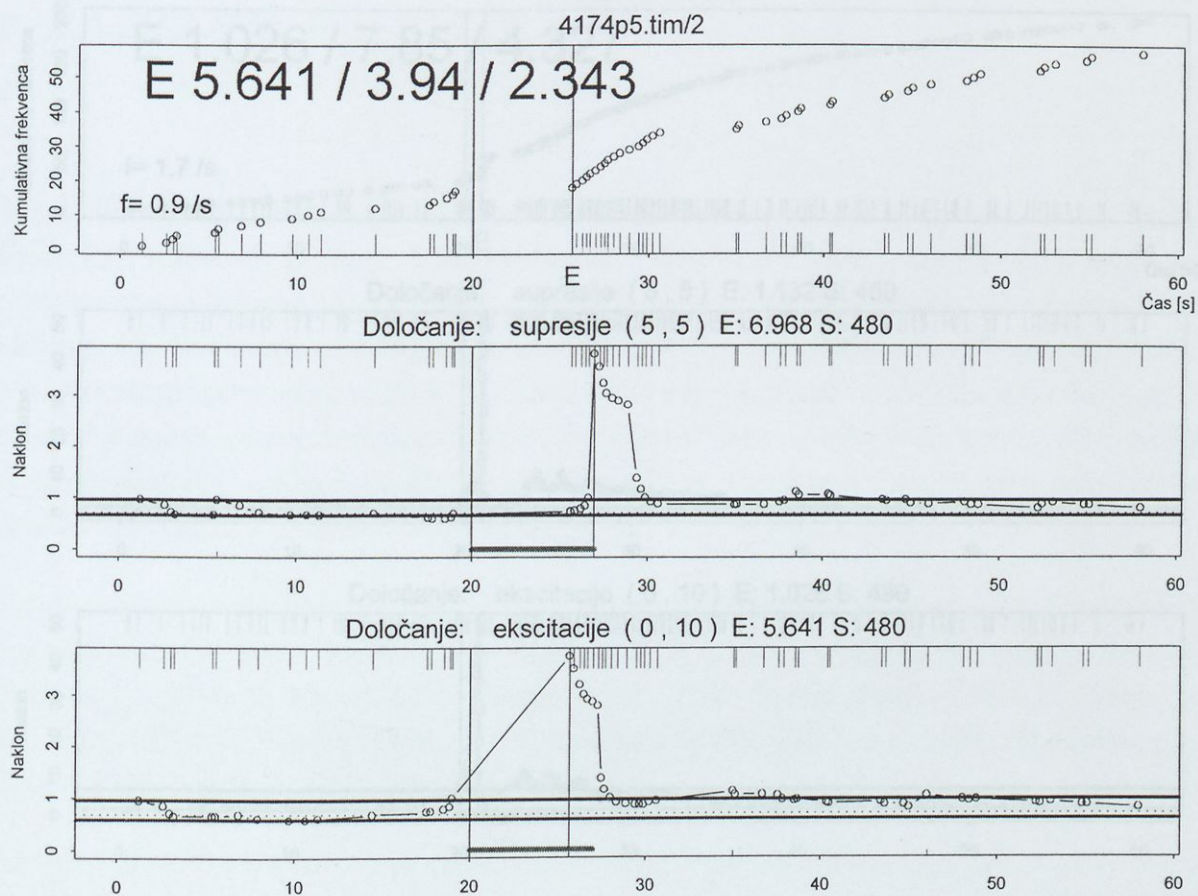
- EOG za časovni okvir odziva posameznih celic
- Aktivnost živčne celice, čas med akcijskimi potenciali
- Časovne oznake: začetek poskusa, začetek dovajanja dražljaja (odpiranje ventila)



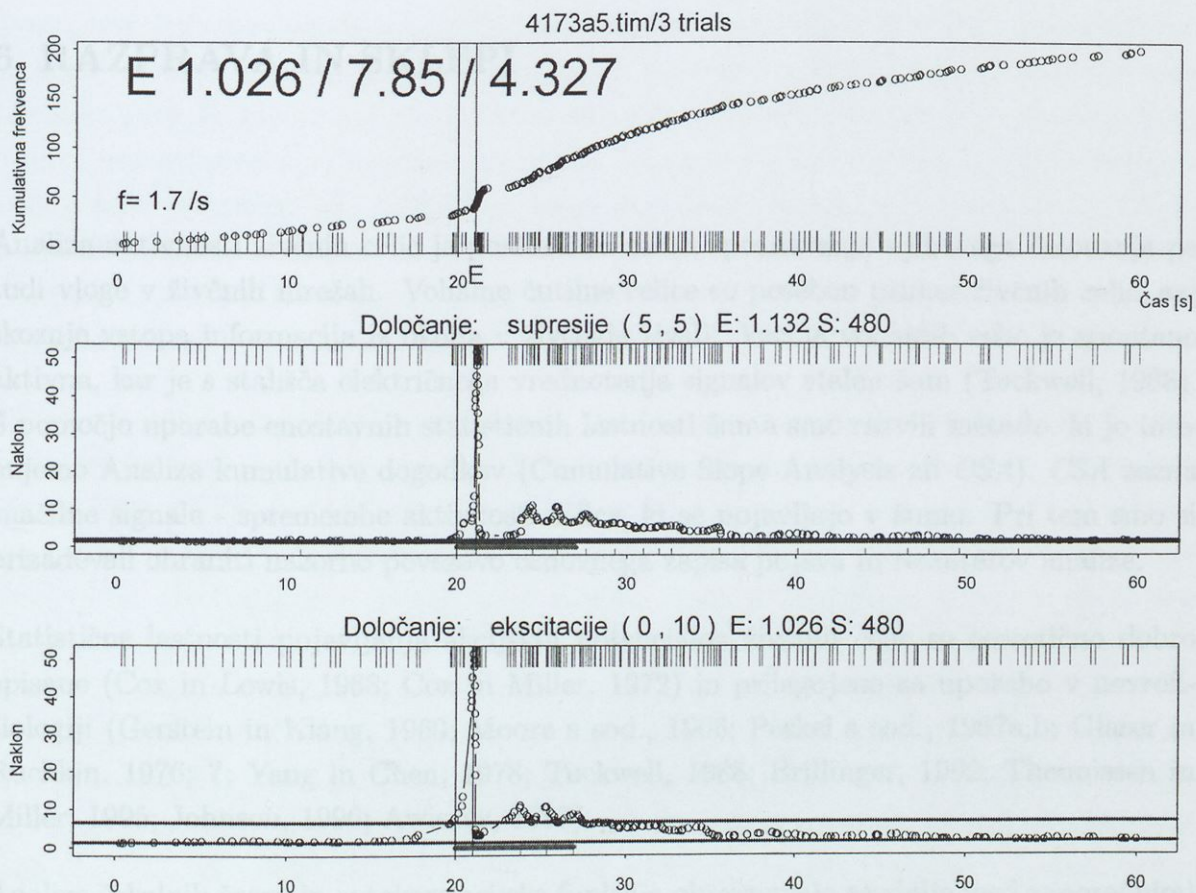
Slika 5.12: SE - supresija in ekscitacija. Označa dražilne signali in poskusi: 5143/2. Celica se je na draženje odzivala s takojšnjo supresijo, nato pa s ekscitacijo. Po draženju se je aktivnost celice vrnila v stanje pred draženjem.



Slika 5.12: SE - supresija in ekscitacija. Oznaka dražilne snovi in poskusa: 514a3/2. Celica se je na draženje odzvala s takojšnjo supresijo, nato pa z ekscitacijo. Po draženju se je aktivnost celice vrnila v stanje pred draženjem.



Slika 5.13: E - ekscitacija. Oznaka dražilne snovi in poskusa: 4174p5/2. Celica, ki je imela med spontano aktivnostjo majhno hitrost proženja akcijskih potencialov se je na dražljaj odzvala z ekscitacijo. Po draženju se je aktivnost vrnila v stanje pred draženjem. "Supresija" pred ekscitacijo se je začela že pred draženjem, zato je ne upoštevamo.



Slika 5.14: Velika koncentracija akcijskih potencialov takoj po začetku draženja. Oznaka dražilne snovi in poskusa: 4173a5/0/3. V združenem posnetku treh ponovitev poskusa na isti celici opazimo sinhronost pojavljanja majhnega števila akcijskih potencialov, ki mu sledi kratka prekinitev. S CSA lahko zaznamo tudi tako kratkotrajne zgoščine akcijskih potencialov. Združevanje posnetkov je smiselno, ker dražljaj po zraku hitro in v enakem času doseže vohalno celico.

*The individual spike, so often averaged in with its neighbors,
deserves more respect*

F. Rieke, 1999

6 RAZPRAVA IN SKLEPI

Analiza aktivnosti živčnih celic je pomemben način spoznavanja njihovega delovanja pa tudi vloge v živčnih mrežah. Vohalne čutilne celice so poseben primer živčnih celic, saj skozi vstopa informacija iz okolja v živčevje živali. Večina vohalnih celic je spontano aktivna, kar je s stališča električnega vrednotenja signalov stalen šum (Tuckwell, 1988). S pomočjo uporabe enostavnih statističnih lastnosti šuma smo razvili metodo, ki jo imenujemo Analiza kumulativne dogodkov (Cumulative Slope Analysis ali *CSA*). *CSA* zazna značilne signale - spremembe aktivnosti celice, ki se pojavljajo v šumu. Pri tem smo si prizadevali ohraniti nazorno povezavo osnovnega zapisa pojava in rezultatov analize.

Statistične lastnosti pojavljanja akcijskih potencialov živčnih celic so teoretično dobro opisane (Cox in Lewis, 1968; Cox in Miller, 1972) in prilagojene za uporabo v nevroфизиologiji (Gerstein in Kiang, 1960; Moore s sod., 1966; Perkel s sod., 1967a,b; Glaser in Ruchkin, 1976; ?; Yang in Chen, 1978; Tuckwell, 1988; Brillinger, 1992; Theunissen in Miller, 1995; Johnson, 1996; Awiszus, 1997).

Analize čakalnih časov in avtokorelacijska funkcija obravnavajo razdalje med zaporednimi dogodki (x) ne glede na čas pojavljanja dogodkov, zato z njimi ne moremo zasledovati sprememb v času. Opišemo lahko le splošne spremembe aktivnosti v daljšem času npr. spremembo aktivnosti med ali po draženju glede na spontano aktivnost. V porazdelitvah lahko opazimo, da je v procesu nenavadno dolg ali nenavadno kratek interval med dogodki, ne vemo pa, kdaj se je tak interval pojavil. Dejanski procesi, pri katerih iščemo spremembo aktivnosti, se ne ujemajo z zamišljenimi modeli procesov. Z neujemanjem opaženih in teoretično predvidenih porazdelitev lahko zaznamo pojavljanje skupkov (vlakov) akcijskih potencialov, nestacionarnost procesa in podobno. Postopki, ki temeljijo na *ISI* (*ISIH*, *JISI* (Rodieck s sod., 1962) in korelacijske metode) so namenjeni za analizo, prikazovanje in primerjavo lastnosti živčnih celic v različnih pogojih (Perkel s sod., 1967a; Glaser in Ruchkin, 1976). Ker rezultati teh postopkov (interspike-histogram, avtokorelacijska funkcija, sklopljena porazdelitev intervalov med dogodki) niso prikazani na isti časovni

osi kot časi pojavljanja dogodkov, uporablja večina raziskovalcev post stimulus histograme (*PSTH*). *PSTH* prikazuje časovni potek hitrosti proženja akcijskih potencialov in daje v okviru subjektivno izbranega razreda povprečno mero aktivnosti celice (Gerstein in Kiang, 1960; Moore s sod., 1966; ?). *PSTH* zabriše lego dogodkov v okviru razreda, zato lahko v preširokih razredih spregledamo kratkotrajne spremembe aktivnosti (Tuckwell, 1988).

Da bi ohranili časovni razpored dogodkov, opišemo aktivnost vohalne celice s kumulativno porazdelitvijo dogodkov (*CSA*). Kumulativna porazdelitev dogodkov (obnovitveno funkcijo) ohranja lego posameznih dogodkov in s strmino krivulje ponazori razdaljo med dogodki (*ISI*). Kumulativna porazdelitev ima dve preprosti lastnosti: 1) v primeru konstantne hitrosti proženja dogodkov je krivulja linearna in 2) naklon krivulje je neposredno enak gostoti dogodkov t.j. hitrosti proženja dogodkov. Nekateri uporabljajo *PSTH* in iz *PSTH* izpeljano kumulativno porazdelitev (*CUSUM*) (Ellaway, 1978; Awiszus, 1997). Medtem ko je *CUSUM* odvisna od širine razredov *PSTH*, prikazuje kumulativna porazdelitev dogodkov opažene dogodke neposredno.

Večina spontano aktivnih vohalnih celic rib se odziva na enega ali več različnih dražljajev, odzivi pa so ekscitacije in supresije. Zaradi zajemanja dogodkov v časovne intervale je učinkovitost *PSTH* metode odvisna od ponavljanja poskusa, ki zagotovijo, da je število opazovanih dogodkov med spontano aktivnostjo veliko. Na eni vohalni celici lahko v razpoložljivem času opravimo največ deset meritev, zato iz praktičnih razlogov ponovimo isti poskus največ dvakrat. Zato uporaba *PSTH* metod pri analizi odzivnosti spontano aktivnih vohalnih celic ni mogoča. Pri združevanju posnetkov se ojačijo tiste lastnosti, ki se glede na začetek draženja pojavljajo v istem času. Zaradi težko določljivega začetka in konca draženja (Slika 3.3) je združevanje ponovitev za uporabo v *PSTH* in drugih metodah vprašljivo. Ustrežnejše je, če poravnamo posnetke glede na začetek odziva. Metoda *CSA* omogoča določitev začetka odziva in s tem pravilnejšo poravnavo posnetkov ter pravilnejšo uporabo metod *PSTH*.

Problem neznanih časov začetkov draženja in odziva celice pomembno vpliva na uporabo *PSTH*. Pri majhnem številu dogodkov je oblika histograma odvisna od izbire mej in širin razredov. *PSTH* je primernejši za analizo odzivov živčnih celic, ki niso spontano aktivne (Tuckwell, 1988). Uporaba *PSTH* za analizo posameznih posnetkov aktivnosti vohalnih celic je omejena na primere, pri katerih je število dogodkov v razredih zelo veliko. Število dogodkov v razredih lahko povečamo s širino razredov, s tem pa izgubimo možnost zaznavanja kratkotrajnih sprememb. Za analizo aktivnosti celic z majhno frekvenco proženja akcijskih potencialov pogosto uporabljajo razrede, ki so celo širši od trajanja odziva. Kot spodnjo mejo za začetni razred uporabijo začetek dovajanja dražilne snovi. Širina razredov je določena subjektivno. Odziv je spremenjeno število dogodkov v razredih. Če se začetni trenutek štetja odzivov v razredu ne ujema z začetkom odziva celice je, v pri-

meru ekscitacije, je tako dobljena frekvenca premajhna, v primeru supresije pa prevelika. Uporabo *PSTH* lahko izboljšamo, če postavimo mejo začetnega razreda v začetek odziva. Z metodo *CSA* določimo začetek odziva za vsak poskus oposebej, kar prispeva k učinkovitejši uporabi *PSTH* in sorodnih metod.

Metoda *CSA* ocenjuje aktivnost celice z naklonom kumulativne porazdelitve dogodkov. Za določitev naklona kumulativne porazdelitve uporabljamo dogodkovne okolice z izbranim številom dogodkov. V *CSA* je širina okolice prilagojena gostoti dogodkov v bližini referenčnega dogodka, v *PSTH* pa širina razreda določa na kakšne kose bomo razrezali poskusni posnetek. Točne lege dogodkov so v *CSA* ohranjene, v *PSTH* pa leg dogodkov ne poznamo. Ko okolice drsijo od dogodka do dogodka, pregledamo vse skupine sosednjih dogodkov v posnetku. Ne glede na izbrano število dogodkov v okolici je čas začetka odziva ohranjen. Z naklonom linearne regresije ocenimo gostoto dogodkov v okolici vsakega dogodka. Porazdelitev ocenjenih lokalnih gostot in oblika krivulje gostote dogodkov sta delno odvisni od števila dogodkov v okolici, od stacionarnosti in frekvenca spontane aktivnosti pred draženjem (Slika 3.11). Točna oblika krivulje gostot, ki jo uporabimo le za določitev trenutkov odzivov in ne za predstavitev dogajanja kot pri *PSTH*, za analizo ni bistvena. Zanimajo nas značilne spremembe, vrhovi in doline, s katerimi določimo tip in začetek odziva. Značilne spremembe določamo s pomočjo kvantilnih vrednosti empirične porazdelitve ocen dogodkov, ki opisuje spontano aktivnost celice. Ne glede na ujemanje s Poissonovim procesom vsebuje empirična porazdelitev vse posebnosti aktivnosti te celice. Zato uporabljamo metodo *CSA* brez predpostavk o neodvisnosti in enaki porazdeljenosti časov med dogodki. Pri analizi *CUSUM* skušajo določiti značilna odstopanja števila dogodkov v razredih *PSTH* tako, da izračunajo odklone števila dogodkov od pričakovane povprečne aktivnosti pred draženjem. Pri tem računajo na normalno porazdeljenost števila dogodkov v razredih pred draženjem in primerjajo odklone s standardno deviacijo števila dogodkov v razredih (Davey s sod., 1986; Awiszus, 1997).

Drseče dogodkovne okolice s stalnim številom dogodkov so osnova za ocenjevanje hitrosti proženja dogodkov nehomogenega Poissonovega procesa (*RIPP*, Awiszus (1992)). V tej metodi ocenjujejo gostoto z razmerjem števila dogodkov v okolici in časovne širine okolice. Z metodo *RIPP* ne upoštevamo lege posameznih dogodkov v okolici, zato ne zaznamo kratkotrajnih sprememb gostote dogodkov. Regresijski način ocenjevanja gostote dogodkov v *CSA* upošteva lego vseh dogodkov v okolici in zato zazna posebnosti živčne aktivnosti, kot so vlaki akcijskih potencialov. Gostoto dogodkov, ki jo ocenimo z metodo *RIPP*, pripišemo srednji točki dogodkovne okolice. Sredina dogodkovnega intervala se zgolj slučajno ujema z dejanskim dogodkom v opazovani okolici. Ker se ocenjene gostote časovno ne ujemajo s časi dogodkov, zaznava začetka odziva ni mogoča. Če rečemo, da se odziv začne v času največje ocenjene gostote dogodkov, je to običajno čas med dvema opaženima akcijskima potencialoma. V *CSA* pripišemo gostoti dogodkov času re-

ferenčnega dogodka okolice. Čas začetka odziva je zato povezan z časom enega od opaženih akcijskih potencialov.

Bistven podatek za razumevanje vohalne kode je vrsta odziva vohalne celice. V *PSTH* subjektivno ocenjujemo vrsto odziva. Zaradi praznih razredov je statistična analiza odstopanj v primeru supresije neizvedljiva. Za analizo posameznih posnetkov celic je zaradi majhnega števila dogodkov vprašljiva tudi uporaba *ISIH*. Zgoščine in razredčine v posnetkih so v *ISI* histogramih slabo vidne (Slika 2.6). Podobni problemi se pojavijo pri uporabi avtokorelacijske funkcije. Ker ne poznamo pričakovane porazdelitve je v posameznem primeru težko primerjati *ISI* porazdelitve. Zaradi majhnega števila akcijskih potencialov je v primeru supresije primerjava porazdelitve *ISI* pred in med draženjem nemogoča.

Za vrednotenje odzivnosti sloja čutilnih celic na posamezne in sestavljene vrste dražljajev je potrebno poznati vrsto odziva nekaj tisočev vohalnih celic. Za analizo takega števila poskusnih posnetkov potrebujemo metodo, ki na avtomatičen način analizira veliko število posnetkov. Računalniška izvedba *CSA* omogoča, da hitro pregledamo veliko število poskusnih posnetkov. Rezultate analiz prikažemo v grafični in tabelarični obliki. V grafičnem prikazu so tudi podrobnosti, kot je krivulja ocen naklonov, kar omogoči, da preverimo ustreznost rezultatov analize. S tabelo rezultatov analize lahko ugotavljamo porazdelitev vrste odzivov.

Metoda *CSA* analizira potek procesov v časih pojavljanja dogodkov. Z njo opredelimo vrsto odziva, ki je zelo pomembna za bodoče razumevanje vohalne kode. Z drugimi metodami je določitev vrste odziva problematična. Drug pomemben podatek, ki ga določijo *CSA*, je čas začetka odziva. S poznavanjem tega časa lahko izboljšamo uporabo tistih metod, ki so odvisne od zanesljive določitve časa začetka odziva.

7 POVZETEK

Vnos informacij v vohalni sistem poteka skozi slojevite strukture. Prvi sloj vohalne živčne mreže sestavljajo vohalne čutilne celice v vohalnem epitelu. V drugem sloju vohalne živčne mreže so mitralne celice vohalnega bulbusa. Pri ribah je začetna vohalna informacija kodirana na milijonih spontano aktivnih vohalnih čutilnih celic, ki v času stimulacije spremenijo aktivnost. Spontana aktivnost vohalnih celic predvidoma vzpodbuja nenehno aktivnost mitralnih celic v vohalnem bulbusu, tako, da se sprememba aktivnosti vohalnih čutilnih celic odraža v spremenjeni aktivnosti mitralnih celic vohalnega bulbusa. Vohalna čutilna celica se odzove na kemično draženje z zmanjšano (supresija) ali zvečano (ekscitacija) hitrostjo proženja akcijskih potencialov. Večina vohalnih čutilnih celic se odziva na več različnih kemičnih dražljajev. Za razumevanje kvantitativnih lastnosti vohalne kode moramo poznati aktivnost velikega števila čutilnih celic. Zaznavanje odziva mitralnih celic pa je zelo pomembno za razumevanje vohalne kode v drugem sloju vohalne živčne mreže.

Aktivnost živčnih celic navadno opišemo z obnovitvenim in Poissonovim točkovnim slučajnostnim procesom. Metode, ki temeljijo na analizi čakalnih časov med akcijskimi potenciali (ISI, inter-spike interval) oziroma histogramu aktivnosti (PSTH - Post Stimulus Histogram) niso primerne za zaznavanje sprememb aktivnosti spontano aktivnih živčnih celic.

Razvili smo metodo in računalniški program za analizo naklonov kumulativne porazdelitve (CSA), ki omogoča hitro zaznavanje sprememb aktivnosti vohalnih čutilnih celic. Metoda uporablja lastnosti obnovitvenih in Poissonovih procesov. Predpostavljamo, da so časi pojavljanja akcijskih potencialov med spontano ali stalno vzpodbujano aktivnostjo neodvisni in enakomerno porazdeljeni, zato imajo linearno kumulativno porazdelitev. Spremembo aktivnosti take živčne celice opazimo kot spremembo naklona porazdelitvene funkcije (kumulativne porazdelitve) akcijskih potencialov. Med ekscitacijo se naklon porazdelitvene funkcije poveča, med supresijo pa zmanjša. Empirično porazdelitveno funkcijo aktivnosti živčne celice v okolih z izbranim številom akcijskih potencialov lokalno aproksimiramo z linearno regresijo. Kot oceno trenutne hitrosti proženja akcijskih po-

tencialov pripišemo vsakemu akcijskemu potencialu naklon lokalne regresijske premice v ustrezni okolici. Tako dobimo vzorčno porazdelitev ocen hitrosti proženja akcijskih potencialov med spontano aktivnostjo. Z uporabo centilnih vrednosti vzorčne porazdelitve določimo spodnjo in zgornjo kritično mejo intervala pričakovanih vrednosti. Ta interval omogoča neparametrično določitev značilnih povečanj oziroma zmanjšanj hitrosti proženja akcijskih potencialov. Določimo tudi začetek, trajanje in jakost odziva. Za določevanje značilnih sprememb aktivnosti uporabljamo lastnosti empirične vzorčne porazdelitve naklonov porazdelitvene funkcije. Za vsak opazovan primer se empirična vzorčna porazdelitev prilagodi posebnostim spontane aktivnosti, zato lahko metodo uporabljamo brez predpostav o slučajnostnih lastnostih spontane aktivnosti.

Program za analizo aktivnosti spontano aktivnih vohalnih celic CSA uporablja statistično programsko okolje S-PLUS. Opisu odziva je dodan grafični prikaz osnovnih podatkov. Program je prirejen za paketno analizo velikega števila poskusov.

8 SUMMARY

Olfactory information in fish and other vertebrates is received and processed by a series of complex and poorly understood neural networks, the first of which is the olfactory epithelium and is comprised of many millions of olfactory receptor neurons. These neurons project to, and converge onto, a second set of neurons known as mitral cells, which project to the brain and are key elements of the glomeruli of the olfactory bulb. Local interneurons known as granule cells run between glomeruli and modulate mitral cell activity. Although the specificity of this coding system originates in the olfactory receptor neurons, which express one-few olfactory receptors, it is presently thought likely the interactions between glomeruli define finer molecular attributes of individual odors. Together, this system is notable because all of its principal neural elements have highly variable, spontaneous activity; thus, olfactory information is encoded by a complex scheme that involves both inhibition and excitation of specific elements of a complex neural network residing within the olfactory bulb. In fishes it is now well established that spontaneously active olfactory receptor neurons can either respond to odorous stimuli with enhanced or reduced firing rates. Further, these changes may have short duration, and some neural elements can be influenced by more than one single odorant. How this system encodes olfactory information is presently poorly understood but is presently of great interest to olfactory biologists who have been attempting to decipher the patterning of neural fire rates of both neural elements while animals are exposed to various odorants. To date, progress has been hampered by a lack of statistical tools with which to evaluate these complex activity patterns. Indeed, most attempts to analyze these patterns have either examined time between action potentials (ISI, inter-spike interval) or spikes per unit time then compared values collected before and after stimulus application by t-test; an approach which both lacks power and violates several statistical principals. For my dissertation I have developed a new, statistically rigorous, yet easily applied approach to circumvent these difficulties.

I have created an algorithm that models the activity of neurons based on stochastic renewal and Poisson point process. I term this technique Cumulative Slope Analysis (CSA) and have developed and implemented a computer program which allows it to

be readily used by electrophysiologists attempting to understand olfactory neuron firing patterns. The CSA method assumes that when spontaneously active (e.g. not stimulated by an odor), the action potentials of individual olfactory neurons are independent and uniformly distributed with time, and when plotted their cumulative distribution is thus linear. However, when influenced by an odor, this firing rate will change in some manner and hence result in at least a momentary change in the slope of the action potential distribution function (cumulative distribution). Accordingly, during excitation the slope of the distribution function of the firing rate of a nerve increases, while it decreases during suppression. I have devised a means whereby empirical distribution function of nerve cell activity can be approximated by examining multiple local linear regressions associated with selected numbers of action potentials found at different time intervals in each recording the electrophysiologist makes. A sampling distribution of the spontaneous activity action potential firing rate prior to the stimulation is thus determined. Using the percentile values of the sampling distribution, my program next determines the critical limits of each distribution of slopes. Slopes are then calculated for time intervals after odor stimulation, and compared using non-parametric means with the pre-stimulus distribution to determine if a change has occurred. No assumptions of inherent firing rates or patterns, dependence between data points, or even the precise timing of the response need be made yet my procedure can appropriately and accurately identify changes in firing rate that represent either significant suppression or excitation. The onset, duration, and amplitude of the response can also all be easily determined. Also, a graphic representation of the data is produced.

My CSA program for analysis of spontaneously active neuron activity uses a S-PLUS programming environment and has now been made available and tested by several researchers on salamander, goldfish, and catfish in both Europe and North America. In all instances it has proven to be an extremely useful tool. Several modifications have been made and it is the basis of at least one other significant study. The program is suitable for batch analyses of large samples. It represents a new tool for studies of vertebrate olfactory function.

Zahvaljujem se ...

Mentorju, prof. dr. Tinetu Valentinčiču

za čas in voljo, ki jo je posvetil nastanku tega dela

Prof. dr. J. Kauer-ju, Tufts University, Boston

Prof. dr. P. W. Sorensen-u, University of Minnesota, St. Paul

Prof. dr. P. Zippel-u, Universität Göttingen, Göttingen,

da so me sprejeli v svoje laboratorije in mi omogočili analizo svojih podatkov

Nacionalnemu inštitutu za biologijo in Oddelku za biologijo Biotehniške fakultete,

da sta časovno in finančno podprla študij in obisk tujih laboratorijev,

Članom komisije

za skrbno branje dela in tehtne pripombe

Bližnjim sodelavcem

Svojcem

Andrej

Literatura

- Abramowitz M., Stegun I. (ur.) 1974. *Handbook of mathematical functions with formulas, graphs and mathematical tables*, 7. izd., Dover Publications, New York
- Adrian E., 1926. The impulses produced by sensory nerve endings: Part I. *J Physiol(Lond)*, 61: 49-72
- Aleksander I., Morton H., 1993. *Neurons and symbols. The stuff that mind is made of*, Chapman & Hall Neural Computing Series 3, 1. izd., Chapman & Hall, London
- Amjad A.M., Breeze P., Conway B.A., Halliday D.M., Rosenberg J.R., 1989. Framework for the analysis of neuronal networks. *Prog Brain Res*, 80: 243-255
- Awiszus F., 1988. Continuous functions determined by spike trains of a neuron subject to stimulation. *Biol Cybern*, 58: 321-327
- Awiszus F., 1989. On the description of neuronal output properties using spike train data. *Biol Cybern*, 60: 323-333
- Awiszus F., 1992. The RIPP density estimate: an alternative method for the estimation of peri-stimulus spike density. *Journal of Neuroscience*, 45: 55-62
- Awiszus F., 1993a. Quantification and statistical verification of neuronal stimulus responses from noisy spike train data. *Biol Cybern*, 68: 267-274
- Awiszus F., 1993b. Sensitivity of different stimulus-timing strategies for the detection of small excitations in noisy spike train data. *Biol Cybern*, 68: 553-558
- Awiszus F., 1997. Spike train analysis. *J Neurosci Methods*, 74: 155-166
- Balis U.J., Morris K.F., Koleski J., Lindsey B.G., 1994. Simulations of a ventrolateral medullary neural network for respiratory rhythmogenesis inferred from spike train cross-correlation. *Biol Cybern*, 70: 311-327
- Brillinger D.R., 1992. Nerve cell spike train data analysis: a progression of technique. *JASA*, 87(418): 260-271
- Brody C.D., 1999a. Correlations without synchrony. *Neural Computation*, 11: 1537-1551
- Brody C.D., 1999b. On artefactual spike train cross-correlations. *Neurocomputing*, 26-27: 957-962
- Cox D.R., Lewis P.A.W., 1968. *The Statistical Analysis of Series of Events*, 2. izd., Methuen & Co, London:
- Cox D.R., Miller H.D., 1972. *The Theory of Stochastic Processes*, 4. izd., Chapman and Hall, London

- Davey N.J., Ellaway P.H., Stein R.B., 1986. Statistical limits for detecting change in the cumulative sum derivative of the peristimulus time histogram. *J Neurosci Methods*, 17: 153–166
- Dayhoff J.E., Gerstein G.L., 1983. Favored patterns in spike trains. Detection. *J Neurophysiol*, 49: 1334–1348
- Dorries K., White J., Kauer J., 1997. Rapid classical conditioning of odor response in a physiological model for olfactory research, the tiger salamander. *Chemical Senses*, 22: 277–286
- Duchamp-Viret P., Duchamp A., Vigouroux M., 1989. Amplifying role of convergence in olfactory system. a comparative study of receptor cell and second-order neuron sensitivities. *J Neurophysiol*, 61: 1085–1094
- Ellaway P.H., 1978. Cumulative sum technique and its application to the analyses of peristimulus time histograms. *Electromyogr Clin Neurophysiol*, 45: 302–304
- Falzett M., Moore R.K., Petry H.M., Powers M.K., 1985. Method for determining threshold from single-unit neural activity. *Brain Res*, 347: 127–131
- Feng J., Brown D., 1999. Coefficient of variation of interspike intervals greater than 0.5. How and when? *Biol Cybern*, 80: 291–297
- Feng J., Brown D., 2000. Impact of correlated inputs on the output of the integrate-and-fire model. *Neural Computation*, 12: 671–692
- Fienberg S.E., 1974. Stochastic models for single neuron firing rates. Survey. *Biometrics*, 30: 399–427
- Fitzurka M.A., Tam D.C., 1999. Joint interspike interval difference stochastic spike train analysis: detecting local trends in the temporal firing patterns of single neurons. *Biol Cybern*, 80: 309–326
- Gerstein G.L., Kiang N.Y.S., 1960. An approach to the quantitative analysis of electrophysiological data from single neurons. *Biophys J*, 1: 15–28
- Glaser E.M., Ruchkin D.S., 1976. *Principles of neurobiological signal analysis*, 1. izd., Academic Press, New York:
- Hanson L., 2001. Doktorsko delo, University of Minnesota
- Hanson L., Sorensen P., Cohen Y., 1998. Sex pheromones and amino acids evoke distinctly different spatial patterns of electrical activity in the goldfish olfactory bulb. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 855: 521–524
- Holden A.V., 1976. *Models of the Stochastic Activity of Neurones*, Springer-Verlag, Berlin:
- Ito H., Tsuji S., 1997. Statistical study of joint-PSTH for analysis of dynamical neuronal code. *Neuroscience Research*, 27-29: 297
- Iyengar S., Liao Q., 1997. Modeling neural activity using the generalized inverse Gaussian distribution. *Biol Cybern*, 77: 289–295
- Johnson D.H., 1996. Point process models of single-neuron discharges. *J Comp Neurosci*, 3: 275–299
- Kaluzny P., Tarnecki R., 1993. Recurrence plots of neuronal spike trains. *Biol Cybern*, 58: 527–534

- Kandel E., Schwartz J., Jessell T. (ur.) 1991. *Principles of Neural Science*, 3. izd., Prentice Hall International Inc., London
- Kaneoke Y., Vitek J.L., 1996. Burst and oscillation as disparate neuronal properties. *J Neurosci Methods*, 68: 211–223
- Kauer J., 1974. Response patterns of amphibian olfactory bulb neurones to odour stimulation. *J Physiol*, 243: 695–715
- Kauer J., Shepherd G., 1977. Analysis of the onset phase of olfactory bulb unit response to odour pulses in the salamander. *J Physiol*, 272: 495–516
- Koce A., 1999. *Elektrofiziološki odzivi vohalnih čutilnih celic in vohalnega epitela ameriškega somiča (Ameiurus nebulosus) na draženje z amino kislinami in njihovimi zmesmi*, Doktorsko delo, Univerza v Ljubljani, Ljubljana
- Lange G.D., Hartline P.H., 1979. Fourier analysis of spike train data. *Biol Cybern*, 34: 31–34
- Lindsey B.G., Segers L.S., Morris K.F., Hernandez Y.M., Saporta S., Shannon R., 1994. Distributed actions and dynamic associations in respiratory-related neuronal assemblies of the ventrolateral medulla and brain stem midline: evidence from spike train analysis. *J Neurophysiol*, 72: 1830–1851
- Longtin A., Racicot D.M., 1997. Spike train patterning and forecastability. *BioSystems*, 40: 111–118
- MathSoft, 1999. *S-PLUS 2000: Programmer's manual*, Data Analysis Products Division, MathSoft, Seattle, WA
- Moore G.P., Perkel D.H., Segundo J.P., 1966. Statistical analysis and functional interpretation of neuronal spike data. *Ann Rev Physiol*, 28: 43–522
- Nawrot M., Aertsen A., Rotter S., 1999. Single-trial estimation of neuronal firing rates: From single-neuron spike trains to population activity. *J Neurosci Methods*, 94: 81–92
- Osborn C.E., Poppele R.E., 1988. method for determining the primary effect of a stimulus in tonically firing neurons using spike train analysis. *J Neurosci Methods*, 24: 125–130
- Osborn C.E., Poppele R.E., 1989. Components of the responses of a population of neurons determined from single-unit recordings. *J Neurophysiol*, 61: 447–455
- Palm G., Aertsen A., Gerstein G.L., 1988. On the significance of correlations among neuronal spike trains. *Biol Cybern*, 59: 1–11
- Parzen E., 1962. *Stochastic processes*, Holden Day, San Francisco
- Perkel D.H., Gerstein G.L., Moore G.P., 1967a. Neuronal spike trains and stochastic point processes. The single spike train. *Biophys J*, 7: 391–418
- Perkel D.H., Gerstein G.L., Moore G.P., 1967b. Neuronal spike trains and stochastic point processes. Simultaneous spike trains. *Biophys J*, 7: 419–440
- Reike F., Warland D., de Ruyter van Stevenick R., Bialek W., 1999. *Spikes: exploring the neural code*, 1. izd., The MIT Press, Cambridge
- Rhoades B.K., Weil J.C., Kowalski J.M., Gross G.W., 1996. Distribution-free graphical and statistical analysis of serial dependence in neuronal spike trains. *J Neurosci Methods*, 64: 25–37

- Rodieck R.W., Kiang N.Y.S., Gerstein G.L., 1962. Some quantitative methods for the study of spontaneous activity of single neurons. *Biophys J*, 2: 351–368
- Sampath G., Srinivasan S.K., 1977. *Stochastic Models for Spike Trains of Single Neurons*, Springer, Heidelberg:
- Schild D., 1987. Response pattern features of mitral cells in the goldfish olfactory bulb. *Brain Res*, 405: 364–370
- Shao X.S., Chen P.X., 1987. Normalized auto- and cross-covariance functions for neuronal spike train analysis. *Int J Neurosci*, 34: 85–95
- Siebler M., Köller H., Rose G., Müller H.W., 1992. An improved graphical method for pattern recognition from spike trains of spontaneously active neurons. *Exp Brain Res*, 90: 141–146
- Suzuki H., Kazuyuki A., Murakami J., Shimozava T., 2000. Analysis of neural spike trains with interspike interval reconstruction. *Biol Cybern*, 82: 305–311
- Szücs A., 1998. Applications of the spike density function in analysis of neural firing patterns. *J Neurosci Methods*, 81: 159–167
- Tam D.C., 1998. Cross-interval spike train analysis: the correlation between spike generation and temporal integration of doublets. *Biol Cybern*, 78: 95–106
- Tam D.C., 1999. Spike train analysis for detecting temporal integration in neurons. *Neurocomputing*, 26-7: 1055–1060
- Theunissen F., Miller J.P., 1995. Temporal encoding in nervous systems: rigorous definition. *J Comp Neurosci*, 2: 149–162
- Trivedi K.S., 1982. *Probability and Statistics with Reliability, Queuing, and Computer Science Applications*, 1. izd., Prentice-Hall, Englewood Cliffs:
- Tsau Y., Chen P.X., 1989. Normalized power spectrum density function analysis on spike trains. Mathematical method and its evaluation. *Int J Neurosci*, 49: 115–121
- Tuckwell H.C., 1988. *Introduction to Theoretical Neurobiology: volume 2, Nonlinear and Stochastic Theories*, 1. izd., Cambridge University Press, Cambridge:
- Valentincic T., Kralj J., Stenovec M., Koce A., 1996. Learned olfactory discrimination of amino acids and their binary mixtures in bullhead catfish (*ameiurus nebulosus*). *Pflugers Arch*, 431: R313–R314
- Xu Z.M., Ivanusic J.J., Bourke D.W., Butler E.G., Horne M.K., 1999. Automatic detection of bursts in spike trains recorded from the thalamus of a monkey performing wrist movements. *J Neurosci Methods*, 91: 123–133
- Yang G.L., Chen T.C., 1978. On statistical methods in neuronal spike-train analysis. *Math Biosci*, 38: 1–34
- Zippel H., Rabba J., Askari P., Paschke U., 1994. Amino acid information processing of olfactory bulb neurons in goldfish. *Advances in the Biosciences*, 93: 141–152
- Zippel H., Reschke C., Korf V., 1999. Simultaneous recordings from two physiologically different types of relay neurons, mitral cells and ruffed cells, in the olfactory bulb of goldfish. *Cellular and molecular biology*, 45(3): 327–337

Stvarno kazalo

- ab graf, 48
- akcijski potencial, 1
 - skupki (burst), 37
- aproksimacija
 - odsekoma linearna, 32
- avtokorelacijska funkcija, 6, 19
- bulbus
 - vohalni, 25
- CSA, *glej* Cumulative Slope Analysis, 70, 71, 73
- Cumulative Slope Analysis, CSA, 50, 53
- CUSUM, 6, 71, 72
- čakalni čas, *glej* čas čas
 - čakalni, 17, 20
 - obnovitveni, 20
 - referenčni, 36
- časovna okolica, 34
- čutilne celice, 25
- dogodek
 - referenčni, 36
- dogodkovna okolica, 34
- draženje, 29
- dražljaj, 29
- ekscitacija, 25, 40
- empirična porazdelitvena funkcija, 11
- EOG, 29, 42
- EOG, elektro olfaktogram, 51
- ES graf, 48
- gostota dogodkov
 - kontrolni pas, 40
- hitrost proženja dogodkov
 - Poissonov proces, 20
- hitrost proženja dogodkov, 10, 11
 - konstantna, 23
 - ocenjevanje, 23
 - povprečna, 17
- I_E , *glej* jakost odziva, 48
- IIF, 6
- I_S , *glej* jakost odziva, 48
- ISI, 4, 70
- ISIH, 5, 13, 30, 73
- jakost odziva, 44
 - I_E , 44
 - I_S , 44
- JID, 6
- JIH, 6
- JIS, 6
- JISI, 14
- JPSTH, 6
- končna premica, 45
- kontrolni pas gostote dogodkov, 40
- krivulja preživetja, 16
- kumulativno število dogodkov, 30
- mitralne celice, 25
- obnovitev, 17
- obnovitven proces, 17
- obnovitvena funkcija, 18
 - aproksimacija, 32
- obnovitvena gostota, 18, 30
- obnovitveni čas, 17, *glej* čas odziv
 - jakost, 44
 - trajanje, 44
 - vrsta, 42
 - približna ocena, 45
 - začetek, 43
- okolica
 - časovna, 34
 - dogodkovna, 34
 - desna, 35
 - leva, 36
 - simetrična, 34
- pike, *glej* program
- Poissonov proces, 1, 8, 20, 28, 30
 - gostota dogodkov, 22
 - nehomogen, 23
 - obnovitvena funkcija, 22
 - obnovitvena gostota, 22
- PreCSA, *glej* program
- preživetje
 - krivulja, 16
- program
 - pike, 51
 - PreCSA, 51
 - show.ab, 52
 - show.bs, 52

show.es, 52
show.x, 52
spike, 52
PSTH, 3, 12, 29, 71

rasterski graf, 10
razdalja k -tega reda, 4
referenčni
čas, 36
dogodek, 36
RIPP, 7, 72

S-PLUS, 50
show.ab, *glej* program
show.bs, *glej* program
show.es, *glej* program
show.x, *glej* program
spike, *glej* program
spontana aktivnost, 16
stacionarnost, 17
supresija, 25, 41

trajanje odziva, 44

vmesna premica, 46
vohalna informacija, 25
vohalna koda, 25
vrsta odziva, 42

začetek odziva, 43
začetna premica, 45



NARODNA IN UNIVERZITETNA
KNJIZNICA



00000240564

C00155



Narodna in univerzitetna knjižnica
v Ljubljani

II 524592