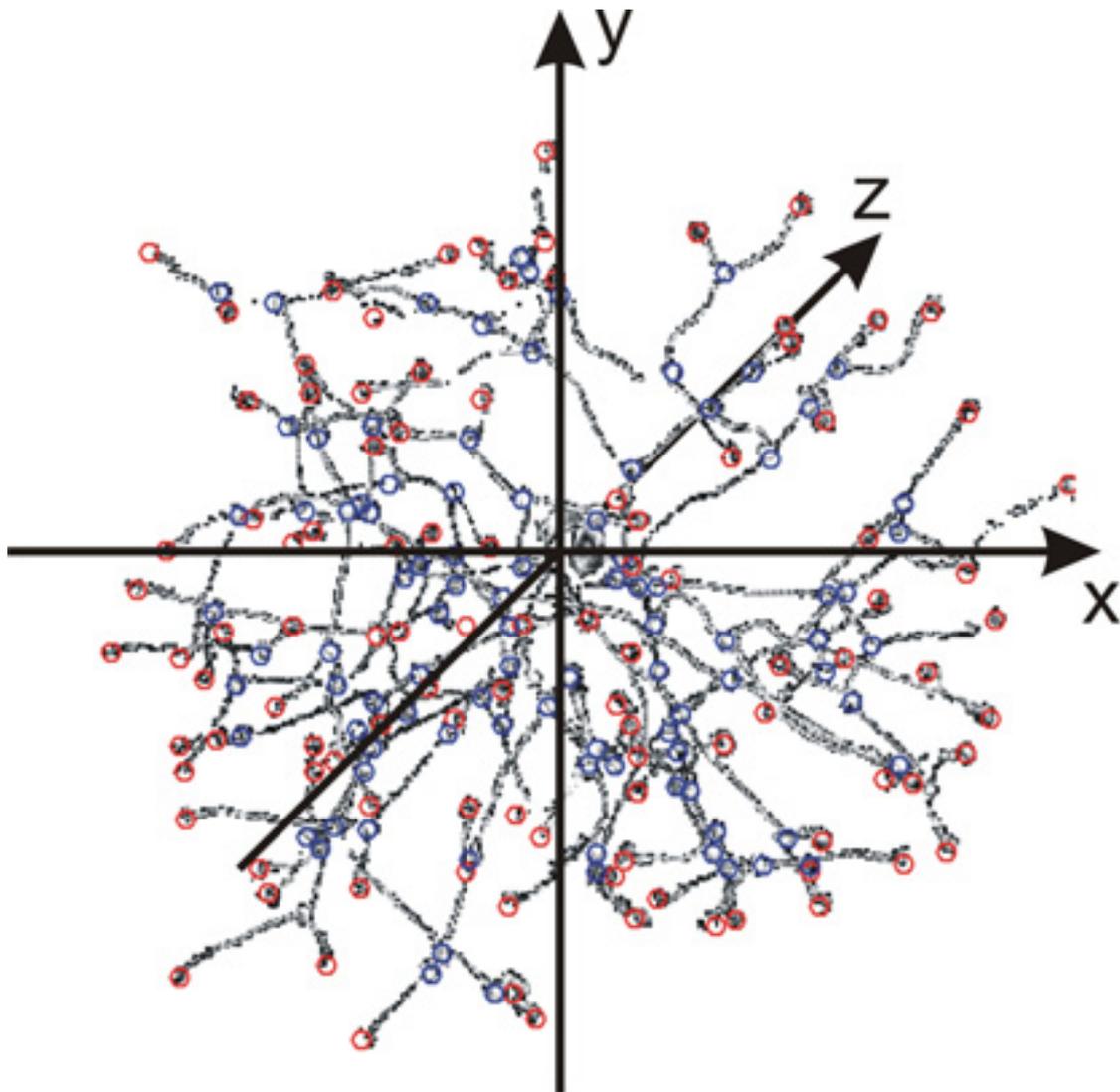


# Analyse und Vergleich biologischer Neuronencluster durch Computersimulation



**Wettbewerb "Jugend Forscht" 2007**

**Katja Miller (18 Jahre)**

**Arbeitsgemeinschaft "Jugend Forscht"  
des Christian-Gymnasiums Hermannsburg  
Leitung: StD Thomas Biedermann**

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>3</b>
<b>2</b>	<b>Hintergrund</b>	<b>3</b>
2.1	Neuronen und Nervennetze	3
2.2	Neuronenmodelle und Simulation	4
2.3	Datenmaterial	4
2.3.1	Datengewinnung und -darstellung	4
2.3.2	Barrel-Kortex der Ratte	5
2.3.3	Datenmaterial	5
<b>3</b>	<b>Modell</b>	<b>6</b>
3.1	Neuronenmodell	6
3.1.1	Randverteilungen	6
3.1.2	Orientierungsvektor	8
3.1.3	Konstruktion	8
3.2	Datenmodell	9
3.2.1	Bilddaten der Neuronenabbildungen	9
3.2.2	Neuronen	9
<b>4</b>	<b>Programm</b>	<b>9</b>
4.1	Datenorganisation	9
4.2	Datenrekonstruktion	9
4.2.1	Bildbearbeitung	10
4.2.1.1	Farbfilter	10
4.2.1.2	Bildfehlerbereinigung	10
4.2.1.3	Bildausschnitte	10
4.2.2	Automatische Punkterkennung	10
4.2.3	Ermitteln der Randverteilungen	11
4.3	Randverteilungen	12
4.3.1	Glättung	12
4.3.2	Zusammenführung	12
4.3.3	Normierung	12
4.3.4	Qualitative Bewertung der Analyse	12
4.4	Neuronenberechnung	12
4.4.1	Wachstumsalgorithmus	12
4.4.2	Parameterabschätzung	14
<b>5</b>	<b>Ergebnisse und Diskussion</b>	<b>14</b>
5.1	Qualitative Analyse	15
5.1.1	Dichtefunktionen	16
5.1.2	Wachstumsalgorithmen	17
5.2	Vergleich der Neuronenklassen	17
<b>6</b>	<b>Ausblick</b>	<b>17</b>
	<b>Danksagung und Quellen</b>	<b>18</b>

# 1 Einleitung

Noch immer gehört Intelligenz - ob künstlich oder natürlich - zu den Gebieten, die unserem Verständnis weitestgehend entzogen sind. Erfolg erhofft man sich bei der Lösung des Problems unter anderem durch Formalisierung der komplexen Prozesse. Dieser Ansatz entspricht der bekannten künstlichen Intelligenz. Das Ziel ist es hierbei, unter Berücksichtigung elementarer Eigenschaften von Neuronen zu einem Algorithmus zu kommen, der bestimmte Probleme möglichst effizient löst. Will man jedoch verstehen, wie natürliche Neuronale Netze funktionieren, so helfen diese Modelle wenig weiter. In diesem Fall ist es notwendig die Prozesse direkt aus experimentellen Daten so genau wie möglich mit einem numerischen Ansatz nachzubilden, denn für eine mathematische Analyse sind realistische Modelle bei weitem zu komplex. Inzwischen sind zwar enorme Mengen an Datenmaterial zur Anatomie und Physiologie Neuronaler Netze gesammelt worden, jedoch ist dieses Material oft nicht offen zugänglich und behandelt üblicherweise nur bestimmte Detailfragen. Die biologischen Methoden erlauben zudem nur eine mikroskopische oder makroskopische Betrachtung, das Zusammenwirken der einzelnen mikroskopischen Bestandteile, den Nervenzellen, als makroskopisches System, dem Nervennetz, ist dagegen kaum be-

kannt. Somit ist es für die Rekonstruktion von Nervensystemen meist nötig, die hierfür benötigten Daten selbst neu zu gewinnen. In dieser Arbeit wird gezeigt, wie sich aus vorhandenem und öffentlich zugänglichem Datenmaterial begrenzte Areale von biologischen Nervensystemen - Neuronencluster - mit ihren charakteristischen anatomischen Eigenschaften konstruieren lassen. Dies ist möglich, weil das Wachstum der Neuronen nicht genetisch gesteuert, sondern nur kontrolliert und der grobe Rahmen vorgegeben wird. [22: S164] Das Ziel einer solchen Modellbildung ist unter Berücksichtigung von physiologischen Daten und geeigneten Funktionsmodellen von Neuronen die Informationsverarbeitung in diesen Clustern im Detail untersuchen zu können ohne weiteres biologisches Material zu benötigen. Dieser Ansatz ist auch ethisch interessant. [1: S1ff]

## 2 Hintergrund

### 2.1 Neuronen und Nervennetze

Nervenzellen oder Neuronen bestehen aus einem Zellkörper (Soma) und baumartig verzweigten Zellfortsätzen. Nervensignale werden aktiv als Aktionspotentiale entlang dieser Struktur fortgeleitet, die unterteilt ist in Axon und Dendriten (vgl.

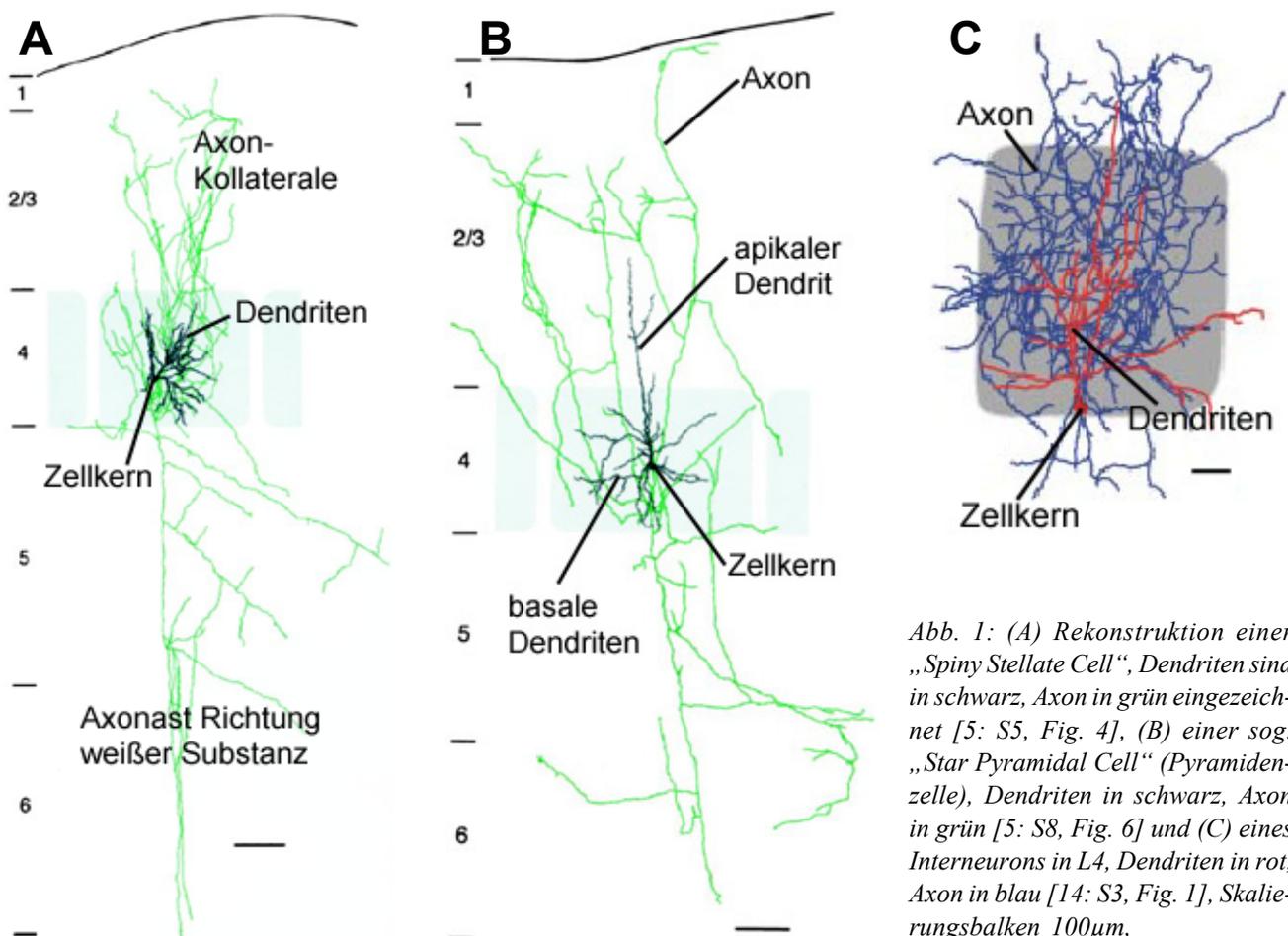


Abb. 1: (A) Rekonstruktion einer „Spiny Stellate Cell“, Dendriten sind in schwarz, Axon in grün eingezeichnet [5: S5, Fig. 4], (B) einer sog. „Star Pyramidal Cell“ (Pyramidenzelle), Dendriten in schwarz, Axon in grün [5: S8, Fig. 6] und (C) eines Interneurons in L4, Dendriten in rot, Axon in blau [14: S3, Fig. 1], Skalierungsbalken 100 $\mu$ m,

Abb. 1). Die Dendriten erhalten über Synapsen von anderen Neuronen Signale, die sich entlang der Dendriten ausbreiten, mit anderen Signalen überlagern und schließlich das Membranpotential des Zellkerns verändern. Dieser kann abhängig davon selber ein neues Signal erzeugen, das über die Axone, die in Synapsen enden, weitere Zellen beeinflusst. Die Wirkung des Signals ist abhängig vom Zelltyp erregend oder hemmend. Es gibt verschiedene Zelltypen, die sich in ihrer Funktion und Anatomie unterscheiden. Die Zuordnung zu diesen Klassen ist jedoch nicht immer eindeutig und es gibt verschiedene Ordnungskriterien. Die hier verwendete Zuordnung orientiert sich an charakteristischen Formen der Baumstruktur und lässt die Funktion der Nervenzellen weitestgehend unbeachtet. Neuronen sind in Clustern, die zusammen eine bestimmte Aufgabe erfüllen, angeordnet. Beispiele sind Ganglien oder Korticale Säulen. Solche Cluster stellen dennoch keine abgeschlossenen Systeme dar, so dass deren Betrachtung nur unter Annahmen über die Umgebung möglich ist.

## 2.2 Neuronenmodelle und Simulation

Bei der Konstruktion der anatomischen Struktur eines Neuronalen Netzes müssen alle für das gewünschte Funktionsmodell erforderlichen Daten berücksichtigt werden. Diese Modelle reichen in ihrer Komplexität von der Beschreibung des Membranpotentials der Neuronen durch eine einzige Variable bis zur Simulation von Ionenkanälen und Ionen. Wichtig sind diejenigen Modelle, die die Anatomie des Nervensystems berücksichtigen. Dies betrifft vor allem die Änderung des Membranpotentials entlang der Baumstruktur von Axon und Dendriten. Die Informationsverarbeitung im Neuron selbst kann dagegen weitgehend unabhängig davon modelliert werden.

Mit Hilfe der Kabeltheorie, die erstmals bei Berechnungen am Transatlantik-Telegraphen-Kabel verwendet wurde, um die Ausbreitung von elektrischen Strömen in zylindrischen Kabeln zu beschreiben, kann auch die Ausbreitung der Ladungen in der Baumstruktur der Neuronen simuliert werden. Dass dies für eine realistische Simulation nötig ist, wird deutlich, wenn man ein feuerndes Neuron an verschiedenen Stellen des Axons ableitet, da hier sehr unterschiedliche Verläufe des Membranpotentials messbar sind. [2: S203f] Die Kabelgleichung lautet

$$\lambda^2 \cdot \frac{\partial^2 V}{\partial x^2} - V - \tau \cdot \frac{\partial V}{\partial t} = 0 \quad (1)$$

Dabei beschreibt  $x$  die Position längs des Zylinders,  $t$  die Zeit und  $V$  die Potentialdifferenz an der Membran. Für die Längskonstante  $\lambda$  gilt

$$\lambda = \sqrt{\frac{R_m \cdot A}{R_i} \cdot \frac{d}{4}} \quad (2)$$

Hier ist  $d$  der Zylinderdurchmesser,  $R_m$  der Membranwiderstand,  $R_i$  der intrazelluläre Widerstand und  $A$  die Zylinderoberfläche. Die Zeitkonstante  $\tau$  der Membran ist

$$\tau = R_m C_m, \quad (3)$$

mit  $C_m$  als Membrankapazität. Für die anatomischen Eigenschaften ist also außer der Verzweigungsstruktur die Länge der einzelnen Segmente und der Durchmesser  $d$  der Dendriten interessant, woraus sich auch die Oberfläche  $A$  ergibt. Die restlichen Konstanten betreffen die physiologischen Eigenschaften. Bei „Compartmental Models“ werden die einzelnen Zylinder zusätzlich in Teilabschnitte unterteilt, für die einzelnen Eigenschaften angegeben werden können. Die in der Kabeltheorie relevanten Größen müssen im Hinblick auf eine spätere Simulation der Physiologie wenn möglich im entwickelten anatomischen Modell berücksichtigt werden. [1: S10ff, 2: S203ff]

## 2.3 Datenmaterial

### 2.3.1 Datengewinnung und -darstellung

Die Morphologie der Baumstruktur von Neuronen aus dem ZNS - z.B. von Wirbeltieren - wird optisch aus dünnen Scheiben (300  $\mu\text{m}$ ) mit fluoreszierend angefärbten Neuronen gewonnen. Dazu wird das Material schichtweise mit einem Laser-Mikroskop gescannt, mit einer 3D-Software ausgewertet und die Baumstruktur auf eine einheitliche Astbreite reduziert, sodass die Verzweigungsstruktur gut erkennbar ist. Hier geht jedoch die Information über die Breite der einzelnen Äste in den daraus resultierenden Bilddaten verloren (vgl. Kap. 2.2). [3: S2f] Außer diesem Bildmaterial werden weitere Eigenschaften zur Beschreibung der Neuronen verwendet. Die hier folgenden Angaben stammen von Pyramidenzellen aus dem Layer 2/3 (vgl. Abb 1B) des Barrel-Kortex junger Ratten, sind aber auch für andere Zelltypen repräsentativ. [3] Die geometrischen Eigenschaften („large scale features“) sind unabhängig von der Entwicklung und den sensorischen Erfahrungen des Lebewesens. Dieses betrifft die Anzahl der primären (am Zellkern beginnenden) Dendriten, die maximale räumliche Ausdehnung und die Verteilung der Äste, die als Vektorsumme der Abstände aller Teilstücke der Baumstruktur zum Zellkern angegeben wird. Die Verwendung der räumlichen Verteilung der Verzweigungsstellen in der Baumstruktur („branch point distribution“) hat den Vorteil, dass sie unabhängig von einzelnen Ausläufern (Kollateralen) oder bei der Präparation abgeschnittenen Baumsegmenten ist. Allerdings ist diese Verteilung altersabhängig. Bei jüngeren Ratten (9 Tage) ist der größte

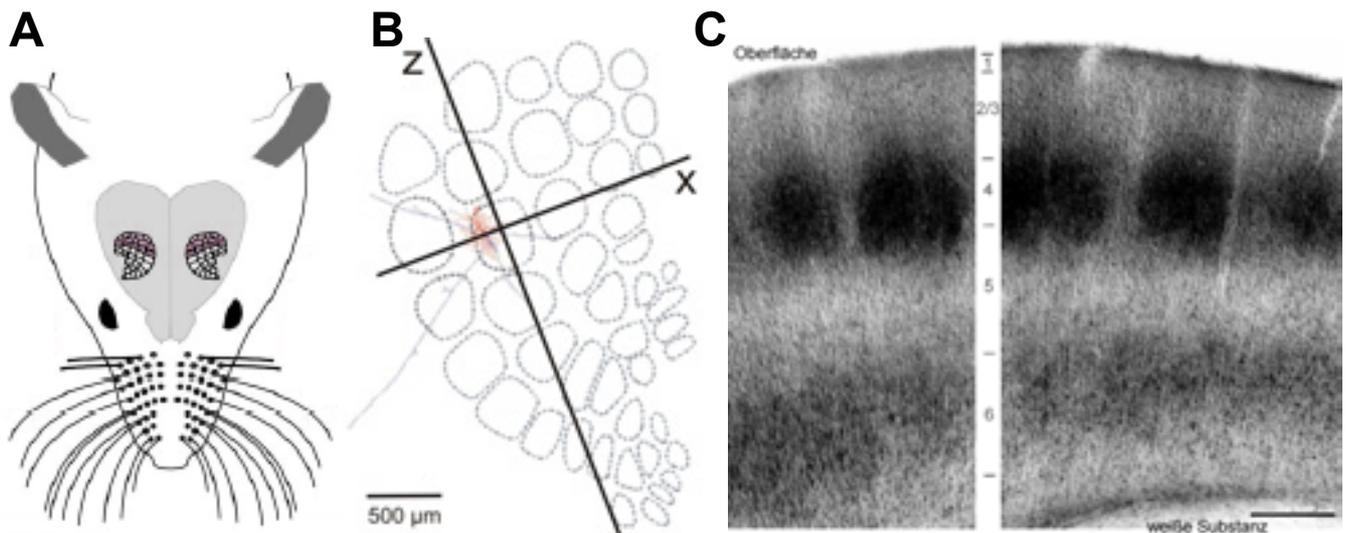


Abb. 2: (A) Schematische Darstellung eines Rattenkopfes mit Position des Barrel-Kortex im Gehirn. [9: S3, Fig. 1] (B) Anordnung der Barrels mit Neuron [18: S5, Fig. 1A] und eingezeichneten Achsen in Aufsicht. Schneidet man entlang der Z-Achse, so erhält man eine Seitenansicht (semicoronal section) entlang einer Barrel-Reihe wie in (C) zu sehen. Die Nervenzellen sind angefärbt mit einem Oxidase-Test (zeigt Stoffwechselaktivität). Dieser macht sowohl den Schichtaufbau des Kortex als auch die Barrelstruktur in L4 sichtbar, Skalierungsbalken 500μm [5: S2, Fig. 1A]

Teil der Verzweigungen näher am Zellkern (20-25μm), bei älteren Ratten (20 Tage) etwas weiter außerhalb (50-60μm) zu finden. Diese Entwicklung erfolgt schrittweise, wobei die absolute Anzahl der Verzweigungsstellen konstant bleibt. Es lässt sich zudem eine Abhängigkeit der Verteilung von der sensorischen Erfahrung feststellen. Die absolute Anzahl ist hiervon ebenfalls nicht betroffen. Eine weitere Möglichkeit bietet die „Sholl Diagramm Analysis“ (Sholl, 1953), bei der die Anzahl der Schnittpunkte der Baumstruktur mit konzentrischen sphärischen Schalen, also Kugeloberflächen, gezählt wird. Die Schalen sind um den Zellkern angeordnet und die Anzahl der Schnittpunkte wird gegen den Abstand vom Zellkern aufgetragen. In dieser Auftragung scheint die Höhe des Maximums altersunabhängig zu sein, der „peak“ des Maximums wird bei älteren Tieren jedoch breiter und befindet sich weiter vom Zellkern entfernt. Die Gesamtlänge der basalen Dendriten (vgl. Abb. 1B) ist bei jungen Ratten signifikant kürzer als bei älteren. [3: S5f] Zum morphologischen Profil eines Neurons gehören neben der „Sholl Diagramm Analysis“ und den „large-scale“-Eigenschaften unter anderem die Verteilung der Längen der Astsegmente (zwischen zwei Verzweigungspunkten) und die Frequenz der Verzweigungen, d.h. Anzahl der Verzweigungen pro Astlänge aufgetragen gegen die Astlänge bis zum Zellkern.

### 2.3.2 Barrel-Kortex der Ratte

Der Barrel-Kortex der Ratte (Abb. 2) verarbeitet im Wesentlichen die sensorischen Informationen der Barthaare. Das Kortexareal ist in Säulen gegliedert, die in L4 (der Kortex wird meist in 5 Ebenen L1 bis L6, siehe Abb. 2C, unterteilt) durch

rechteckige, optisch erkennbare „Barrels“ unterschieden werden können. Zur Gewinnung der anatomischen Daten von Neuronen aus dem Barrel-Kortex werden Scheiben längs der Reihen der Barrels (s. Abb. 2B) oder auch horizontal (parallel zur Oberfläche) geschnitten. Der Barrel-Kortex eignet sich aus mehreren Gründen nicht nur für neurobiologische Untersuchungen, sondern auch als Beispielmateriale für die Analyse besonders gut. Durch die klare optische Strukturierung in Ebenen und Barrels lässt sich für jedes Neuron eine relative Position angeben und die Baumstruktur der Dendriten und Axone verbleibt zum größten Teil innerhalb einer Säule. Auch physiologische Charakterisierungen sind durch die eindeutige Zuordnung jedes Barthaars zu einer Säule und die Möglichkeit, einzelne Barthaare einzukürzen (deprivieren) und so sensorischen Input zu verhindern, relativ einfach möglich. Folglich ist sehr umfangreiches Datenmaterial vorhanden und frei zugänglich. Im Programm soll die Anatomie der Neuronen innerhalb eines Barrels charakterisiert und als Neuronencluster neu konstruiert werden. Die Auswahl von L4 im Barrel-Kortex ist auch deshalb von Vorteil, weil die erregenden Neuronen dort direkt die sensorischen Informationen vom Thalamus erhalten und somit den ersten Schritt in der kortikalen Informationsverarbeitung darstellen. Eine Kortikale Säule enthält insgesamt bis zu 2000 Neuronen. [4]

### 2.3.3 Datenmaterial

Für die Auswertung von Bildmaterial standen 22 Neuronen aus 7 verschiedenen, freien Publikationen zur Verfügung (s. Tab. 1), wobei eine Klassifikation in drei Neuronentypen (Abb. 1) möglich war: Pyramiden-Zellen, „Spiny-Stellates“ und Inter-

neuronen. Leider sind insgesamt nur fünf qualitativ gute Abbildungen mit Horizontalansichten (Schnitt parallel zu Oberfläche) in diesen Publikationen veröffentlicht.

Da L4 die Input-Schicht der Säule ist, haben die Dendriten, die die Informationen aufnehmen und zum Zellkern weiterleiten, eine geringe räumliche Ausdehnung. Die Axone der Pyramidenzellen und Spiny-Stellates projizieren dagegen in alle Ebenen und verteilen somit die Information in der gesamten Säule. Diese Neuronen sind meist untereinander direkt oder durch Interneuronen verbunden. Interneuronen sind regional auf ihre Ebene und ihren Barrel begrenzt und haben häufig auch hemmenden statt erregenden Einfluss auf umgebende Neuronen. In diesem Fall ist eine Korbzelle („basket cell“) zu sehen. Es gibt diverse, sehr verschiedene weitere Interneuronen im Kortex [15], für deren Analyse das Datenmaterial jedoch nicht ausreicht. Die Besonderheit von Pyramidenzellen in L4 ist ein einzelner „apikaler“ Dendrit in Richtung der Oberfläche, der sich in L2/3 oder L1 auch verzweigen kann. Bei Spiny-Stellates in L4 gibt es oft einen oder auch mehrere Axonäste (Kollaterale), die in Richtung weißer Substanz projizieren, während die übrigen Kollaterale in L4 bleiben oder sich in Richtung L2/3 verzweigen. Abgesehen vom Bildmaterial sind noch weitere Eigenschaften (Kap. 2.2.1) interessant, für die die Datenbasis ausreichend ist um die Signifikanz der Angaben für allgemeine Aussagen abschätzen zu können. Dies sind für den Barrel Kortex der Ratte die Anzahl der primären Dendriten (A), die Länge der Dendriten (B) und die horizontale (C) wie vertikale (D) räumliche Ausdehnung (Abb. 3). Aufgrund der relativ breiten Streuung der Angaben in unterschiedlichen Publikationen sind die Daten gegen das Alter der Ratten aufgetragen, da eine solche Abhängigkeit vermutet werden kann. Wegen der deutlich zu niedrigen Werte bei 17 und 20 Tagen war ein Ausschluss dieser Daten aus der Analyse zu überlegen, wodurch jedoch die Datenbasis nicht mehr umfangreich genug wäre.

## 3 Modell

### 3.1 Neuronenmodell

Für die Auswahl der Eigenschaften (Kap. 2.3.1), die in das Modell eingehen sollen sind sowohl die Verwendbarkeit zur Neuronenberechnung (Kap. 4.4) als auch die Erfordernisse zur Gewinnung der Daten zu berücksichtigen. Die einfachste Lösung ist hier eine Reduktion der 2D-Punktverteilungen auf diskrete Randverteilungen  $f$  der drei Raumachsen  $x, y, z$ . Die gesuchte 3D-Dichte ist jedoch durch die drei Randverteilungen nicht eindeutig bestimmt. Außerdem sind die Randverteilungen

nicht unabhängig voneinander, sodass die 3D-Dichte stets nur eine Schätzung sein kann. Die beste einfache Näherung liefert das Produkt der drei Randverteilungen. Auch das Hin-zunehmen einer radiusabhängigen Funktion liefert nur für wenige Neuronentypen einer Verbesserung und ist deshalb keine Lösung des Problems. Ein vielversprechender Ansatz ist die Vorgabe einer Abhängigkeitsstruktur, z.B. durch Normalverteilungen, deren Parameter durch Abgleich mit den Daten zu bestimmen wäre.

Die Verwendung von diskreten Funktionen bietet den Vorteil, dass diese leichter berechenbar und manipulierbar sind als stetige Funktionen. Stetige Funktionen leisten in diesem Fall kaum mehr, da eine mathematische Analyse nicht sinnvoll ist, zumal eine nachträgliche lineare Interpolation eine für die Genauigkeit der Daten ausreichende Annäherung liefert.

#### 3.1.1 Randverteilungen

Die Randverteilungen beinhalten die Verzweigungspunkte („branching points“)  $f_B$ , die Endpunkte der Äste („tips“)  $f_T$  und die Verteilung der Astabschnitte  $f_I$ , sodass es insgesamt 12 Funktionen zu Beschreibung eines Neurons gibt. Aus der Menge  $P$  der Verzweigungs- und Endpunkte  $P_j(x_j|y_j|z_j), j \in N$  soll jeweils die Anzahl  $n_i$  der Punkte aus der Teilmenge  $T_i$  im Intervall der Breite  $\Delta s$  gegen den Abstand  $s_i$  mit  $s_i = i \cdot \Delta s, i \in Z$  vom Zellkern aufgetragen werden. Für die Randverteilung der Verzweigungspunkte entlang der x-Achse  $f_{BX}$  sei  $P_j \in T_i$ , wenn die Bedingung

$$s_i - \Delta s < x_j < s_i \quad (4)$$

erfüllt ist (analog für beide übrigen Achsen). Der Wert von  $f$  ist an jeder Stelle  $s_i$  die Anzahl der Elemente in  $T_i$

$$f(s_i) = |T_i|, \quad (5)$$

wobei für die Verteilungen entlang der Koordinatenachsen gilt: x-Achse:  $s = x$ , y-Achse:  $s = y$ , z-Achse:  $s = z$ . Soll die Verteilung für die Funktionen  $f_{BR}(r)$  und  $f_{TR}(r)$  gegen den Abstand vom Zellkern aufgetragen werden, so muss die Bedingung alternativ zu Gl. 4 lauten

$$s_i - \Delta s < r_k < s_i, \quad (6)$$

mit

$$r_k = \sqrt{x_k^2 + y_k^2 + z_k^2}, r_k = k \cdot \Delta s, k \in N_{>0}.$$

Da es sich bei der Baumstruktur um ein räumliches Gebilde und keine verteilte Punktwolke handelt, ist es sinnvoll für die Verteilung der Dendriten  $f_I$  nicht die Anzahl von Punkten in einem Intervall zu bestimmen, sondern vielmehr die Anzahl der Schnittpunkte (Intersections) der Baumstruktur mit den Ebenen  $E_i$  im Abstand  $s_i$  vom Zellkern, bzw. konzentrischen

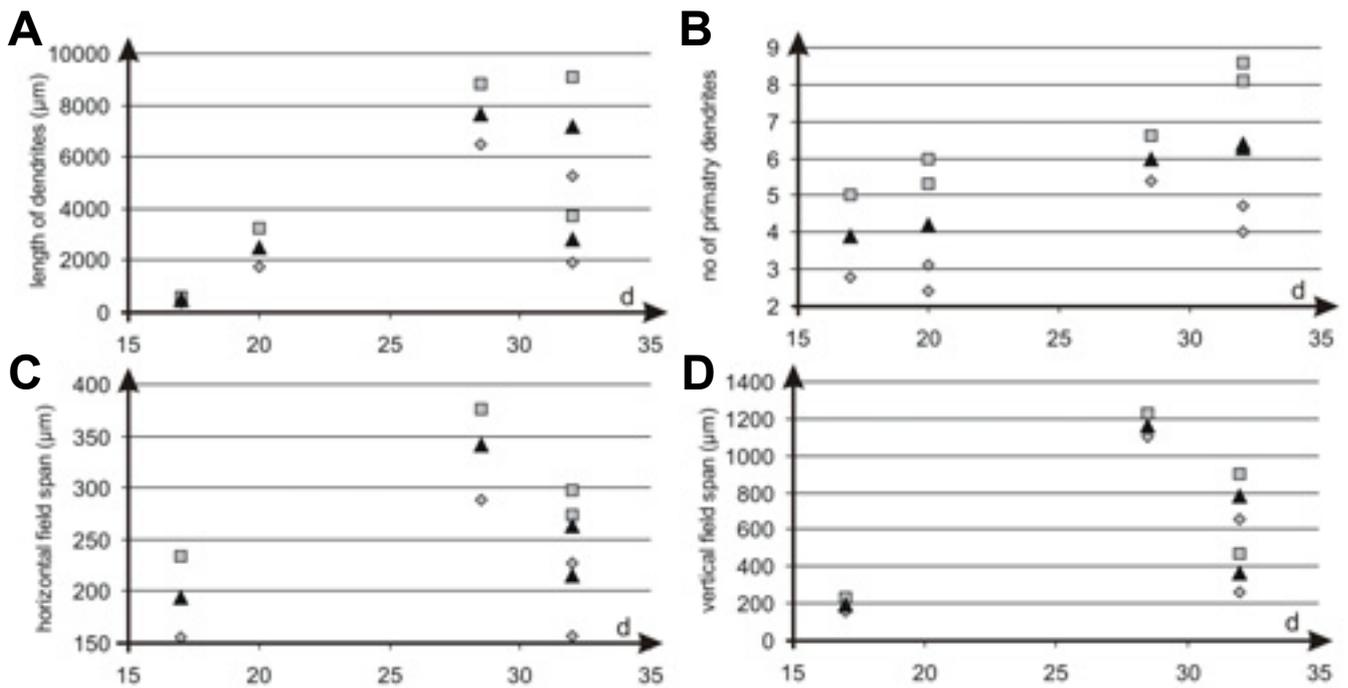


Abb. 3: Ausgewählte Eigenschaften des Dendritenbaums von Pyramidenzellen (P) und „Spiny Stellates“ (SS) aufgetragen gegen das mittlere Alter der Ratten. Für jeden Wert ist zusätzlich zum Mittelwert auch die Standardabweichung angegeben. Bei 17d sind die Werte beider Zelltypen jeweils gemittelt. 17d: [5], 20d: [16,17], 28,5d: [18], 32d [6], (A) Die Anzahl der direkt aus dem Zellkern auswachsenden (primären) Dendriten weist eine klare Abhängigkeit vom Alter auf. Die Werte von „Spiny Stellates“ unterscheiden sich von denen der Pyramidenzellen lediglich durch eine höhere Standardabweichung. (B) Bei der durchschnittlichen Länge der Dendriten lässt sich ebenfalls eine Altersabhängigkeit vermuten, wobei Spiny Stellates durch die deutlich kürzeren Dendriten auffallen. (C, D) Die Höhe und Breite des Dendritenbaums zeigt keine eindeutige Altersabhängigkeit, wobei auch hier die Werte von 17d besonders niedrig ausfallen. Wieder haben Spiny Stellates die kleinere absolute Ausdehnung.

	Nr	Achsen		Axon	Den- driten	Zellkernposition		Alter (d)	Quelle
		(x z)	(x y)			Barrel	Septum		
Pyramiden- zellen	1	+	+	+	+	+		28-36	[6, Fig. 4]
	2	+	+	+	+	+		28-36	[6, Fig. 5]
	3	+	+	+	+		+	28-36	[6, Fig. 6]
	4		+	+	+	+		21-35	[10, Fig. 4]
	5a		+	+	+	+		12-22	[5, Fig. 6]
	5b		+	+	+	+		12-22	[5, Fig.6]
Anzahl		3	6	6	6	5	1		
Spiny Stellates	1		+	+	+	+		12-22	[5, Fig. 2B]
	2a		+	+	+	+		12-22	[5, Fig. 4]
	2b		+	+	+	+		12-22	[5, Fig. 4]
	4		+	+	+	+		17-23	[7, Fig. 11]
	5	+	+	+	+	+		28-36	[6, Fig. 3]
	6	+	+	+	+	+		28-36	[6, Fig. 2]
	7		+	+	+	+		14	[3, Fig. 1]
	8		+	+	+	+		13-15	[8, Fig. 3]
	9		+	+	+	+		13-15	[8, Fig. 6A]
	10a		+	+	+	+		13-15	[8, Fig. 6A]
	10b		+	+	+	+		13-15	[8, Fig. 6A]
	11		+	+	+	+		13-15	[9, Fig. 1]
12		+	+	+	+		21-35	[10, Fig. 5]	
Anzahl		2	13	13	10	13			
Interneuronen	1		+	+	+	+		21-35	[10, Fig. 5]
	2		+	+	+	+		21-35	[14, Fig. 1]
	3		+	+	+	+		21-35	[14, Fig. 1]
Anzahl		3	3	3	3				
gesamt		5	22	22	19	21	1		

Tab. 1: Übersicht über das verwendete Bildmaterial und die jeweils darin enthaltenen Daten. Es ist angegeben, ob das Neuron in Horizontalansicht (x|z) oder Vertikalansicht (x|y) dargestellt ist, ob Axone und/oder Dendriten eingezeichnet sind und ob sich der Zellkern im Barrel oder außerhalb (Septum) befindet. Außerdem sind Alter der Tiere und Quelle aufgeführt.

Schalen mit dem Radius  $r_i$  um den Zellkern im Ursprung des Koordinatensystems M. Für die Ebene  $E_{s_i}$  als Punktmenge gelte

$$E_{s_i} = \left\{ P \mid P \in F, \vec{n}_F \parallel \vec{g}_s, \overline{MP} = s_i \right\} \quad (7)$$

wobei,  $\vec{n}_F$  der Normalenvektor der Ebene F und  $\vec{g}_s$  eine der drei Koordinatenachsen ist. Die Äste der Baumstruktur werden als Geradenstücke angenommen und haben somit keine Breitenausdehnung. Die Baumstruktur sei durch die Punktmenge D mit den Punkten  $D_j(x_j|y_j|z_j), j \in N$  beschrieben. Für die Menge  $T_i$  der Punkte der Baumstruktur, die auf der Ebene liegen, gilt  $T_i = D \cap E_{s_i}$ . Die Funktionen  $f_l$  lassen sich aus  $T_i$  mit Gl. 5 bestimmen. Für  $f_{IR}(r)$  wird statt parallelen Ebenen die Menge aller Punkte  $K_{r_k}$

$$K_{r_k} = \left\{ P \mid \overline{PM} = r_k \right\} \quad (8)$$

auf einer Kugeloberfläche mit dem Radius  $r_k$  benötigt.

### 3.1.2 Orientierungsvektor

Der Orientierungsvektor  $\vec{o}$  beschreibt die Verteilung der Elemente der Punktvolke  $P_j \in D$ , die die Baumstruktur abbildet, relativ zum Zellkern als gemittelte Summe der Ortsvektoren  $\vec{d}_j = \overline{MD_j}$ , wobei  $n = |D|, n \in N$  die Anzahl der Vektoren ist,

$$\vec{o} = \frac{1}{n} \cdot \sum_{j=1}^n \vec{d}_j \quad (9)$$

Die Entscheidung, die Orientierung der Neuronen relativ zum Zellkern und nicht relativ zum Barrel anzugeben ist damit begründet, dass diese Technik auch unabhängig von Strukturen des Nervensystems einwandfrei funktioniert und die Angabe relativ zum Zellkern so auch für die Wachstumsfunktion benötigt wird.

### 3.1.3 Konstruktion

Für die Konstruktion der Neuronen steht nun eine Reihe von Eigenschaften zur Verfügung. Sowohl die geometrischen „large-scale“ Eigenschaften als auch die Verteilung der Verzweigungs- und Endpunkte bzw. die Schnittpunkte mit Ebenen und Kugeloberflächen sind vorhanden. Damit sind alle Daten einbezogen, die ohne Vektorisierung der Baumstruktur zu erhalten sind. Eine Vektorisierung ist auf Grund der schlechten Auflösung der Bilddaten nicht ohne Weiteres mit noch akzeptabler Fehleranzahl realisierbar. Um aus den einzelnen Funktionen eine 3D-Dichte G zu bilden, wird das Produkt der Funktionen der drei Achsen gebildet. Damit die Dichte G für jeden Raumpunkt direkt die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten eines Verzweigungs- oder Endpunktes darstellt, müs-

sen die Dichtefunktion entsprechend normiert werden. Für den Erwartungswert

$$E(X_G) = \mu, \mu \in N \quad (10)$$

der Zufallsgröße  $X_G$ : ‘Anzahl der Verzweigungs- bzw. Endpunkte der Menge T pro Raumwürfel’ soll gelten

$$E(X_G) = |T|.$$

Die Zufallsgröße  $X_G$  wird beschrieben durch die Wahrscheinlichkeitsverteilung  $G(x_i, y_i, z_i)$ ,

$$G(x_i, y_i, z_i) = g_X(x_i) \cdot g_Y(y_i) \cdot g_Z(z_i) \quad (11)$$

Gesucht sind die Funktionen  $g(s_i)$ , die Gl. 11 erfüllen. Die aus den Daten erhaltende Dichte  $F(x_i, y_i, z_i)$ ,

$$F(x_i, y_i, z_i) = f_X(x_i) \cdot f_Y(y_i) \cdot f_Z(z_i), \quad (12)$$

beschreibt die Zufallsgröße  $X_F$  mit dem Erwartungswert

$$E(X_F) = p, p \in R, \quad (13)$$

der sich aus den Abbildungen bestimmen lässt mit

$$p = \sum_{k=1}^n \left( \sum_{l=1}^n \left( \sum_m f_X(k) \cdot f_Y(l) \cdot f_Z(m) \right) \right), \quad (14)$$

Aus Gl. 10 und Gl. 13 ergibt sich

$$E(X_G) = \frac{\mu}{p} E(X_F). \quad (15)$$

Da die Erwartungswerte jeweils Summen der diskreten Werte ihrer Funktionen F und G sind, gilt auch bei deren Verhältnis der Faktor  $\mu/p$ , also

$$\begin{aligned} G(x_i, y_i, z_i) &= \frac{\mu}{p} F(x_i, y_i, z_i) \\ &= \frac{\mu}{p} \cdot f_X(x_i) \cdot f_Y(y_i) \cdot f_Z(z_i). \end{aligned} \quad (16)$$

Um Gl. 16 und Gl. 11 zu erfüllen, muss für die gesuchten Funktionen  $g(s_i)$  gelten

$$g(s_i) = \sqrt[3]{\frac{\mu}{p}} \cdot f(s_i) \quad (17)$$

In diesem Modell sind die meisten für die spätere Simulation mit Hilfe der Kabeltheorie (Kap. 2.2) benötigten Informationen enthalten. Es fehlt lediglich die Dicke der einzelnen Äste. Au-

ßerdem müssen in der späteren Rekonstruktion die Verbindungen zwischen zwei Verzweigungspunkten als linear angenommen werden, was aber in der Realität nie der Fall ist. Folglich sind alle Astsegmente gegenüber der Realität verkürzt. Die Korrektur dieses Fehlers wäre durch die vollständige Vektorisierung der Baumstruktur möglich oder kann eventuell über die fraktale Dimension der Baumstrukturen geschätzt werden.

## 3.2 Datenmodell

Das Datenmodell besteht aus zwei Datengruppen: Den Bilddaten und den Neuronendaten. Diese Trennung hat ihre Ursache in der Trennung der Datenverarbeitung in einen bildungsorientierten Teil zur Auswertung der Bilddaten und einen funktionenbasierten Teil zur Beschreibung der Neuronen. Die Bilddaten werden letztendlich den Neuronen eindeutig zugewiesen.

### 3.2.1 Bilddaten der Neuronenabbildungen

Die Bildanalyse der Neuronenabbildungen liefert die reinen Bilddaten der Baumstruktur. Diese werden als Grauwerte verarbeitet, wodurch kaum Bildinformation verloren geht, weil jede Baumstruktur in sich monochrom ist. So lässt sich die Datenmenge reduzieren und die Bearbeitungszeit durch eine geringere Ladezeit der Daten verkürzen. Zu jedem Bild gehören diverse Rahmendaten, die erst eine sinnvolle Auswertung ermöglichen. Dieses sind der Skalierungsfaktor von Pixeln in  $\mu\text{m}$ , die Position und Abmessung des Barrels, die Position des Zellkerns und die aufgetragenen Achsen (x|y oder x|z). Außerdem gehören zu jeder Neuronenabbildung die in Kap. 3.1 beschriebenen Randverteilungen sowie der Orientierungsvektor.

### 3.2.2 Neuronen

Die Neuronen sind für den Barrel-Kortex der Ratte in einem passenden Ordnungsmodell als hierarchische Liste gegliedert, die für andere Nervensysteme ebenfalls speziell angepasst werden muss. In diesem Fall ist die oberste Ebene die Zuordnung zur Schicht im Kortex (L1-L6) und die darunter liegende beinhaltet die drei zur Verfügung stehenden Neuronentypen. Die nächste Ebene, die Funktionenebene, ist für den Barrel-Kortex dynamisch. Sie erlaubt je nach Bedarf nicht nur die Unterteilung in Dendriten und Axone, sondern, falls einzelne Kollaterale sich deutlich in ihrer räumlichen Struktur von den übrigen unterscheiden, eine Gliederung in einzelne Kollaterale und Kollateralgruppen. Jedem Element dieser Ebene ist eine weitere Ebene untergeordnet, die eine Liste mit Verweisen auf Neuronenabbildungen enthält. In der Funktionenebene selbst sind die aus den zugeordneten Bildern zusammengetragenen Funktionen zu einem neuen gemittelten und normierten Funktionensatz verrechnet.

## 4 Programm

Das Programm ist in Visual Basic geschrieben, da ein nicht unerheblicher Teil des Programms die Verwaltung und Darstellung von Daten betrifft und VB hier eine einfachere und schnellere Programmierung erlaubt. Nachteilig ist die längere Rechenzeit z.B. gegenüber C-Programmen, womit sich C als Alternative besonders bei der rechenintensiven Simulation der Funktion des Netzes, die als Anwendung angedacht ist, anbietet.

### 4.1 Datenorganisation

Für die interne Darstellung der hierarchischen Liste der Neuronen wird das TreeView-Steuerelement (Abb. 5) in VB verwendet, das eine Struktur zur Verfügung stellt, die über Node-Objekte leichten Zugriff auf Objekte der gleichen oder benachbarter Hierarchieebenen erlaubt. Zudem kann die Struktur automatisch angezeigt werden. Außerdem stellt das Objekt zahlreiche Ereignisse zur Verwaltung der Daten zur Verfügung. [26: S296ff] Die Bilddaten sind im Programm in einer Liste von Variablen gespeichert, die für jedes Bild aufeinander folgend in der Datei abgelegt werden. Der besondere Datentyp „DiscreteFunction“ (vgl. Abb. 4), der ein dynamisches Array für die Funktionswerte, die Stelle des ersten Array-Punktes und die Stelle des Zellkerns beinhaltet. Da der Abstand  $\Delta s$  zwischen zwei Werten der Funktion für alle Funktionen gleich ist, lässt sich mit diesen Daten jede der Randverteilungen darstellen. Die Gesamtgröße der Dateien eines Datensatzes ist hauptsächlich abhängig von der Anzahl der Bilder und beträgt etwa 500 kB pro Bild. Dabei zählen Axon und Dendriten und evtl. einzelne Kollaterale jeweils als einzelne Bilder.

### 4.2 Datenrekonstruktion

Die Datenrekonstruktion ist extrem zeitaufwändig. Deshalb kommt es darauf an, bei allen Schritten im Programm eine möglichst zeitsparende Bedienung zu ermöglichen, auch wenn die-

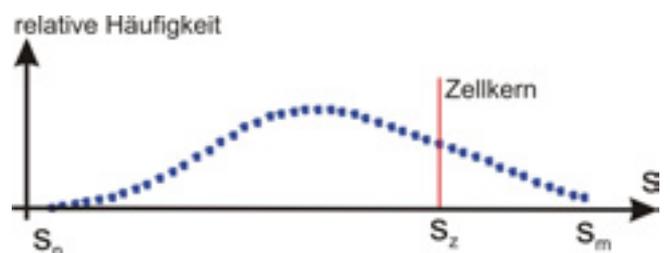


Abb. 4: Programminterne Darstellung der Randverteilung der Endpunkte eines „Spiny Stellate“ Neurons als „DiscreteFunction“ entlang der x-Achse. Der Datentyp beinhaltet die Stelle des ersten Arraypunktes  $s_n$ , die Stelle des Zellkerns  $s_z$  und ein Datenarray mit  $k=(m-n)$  Punkten.

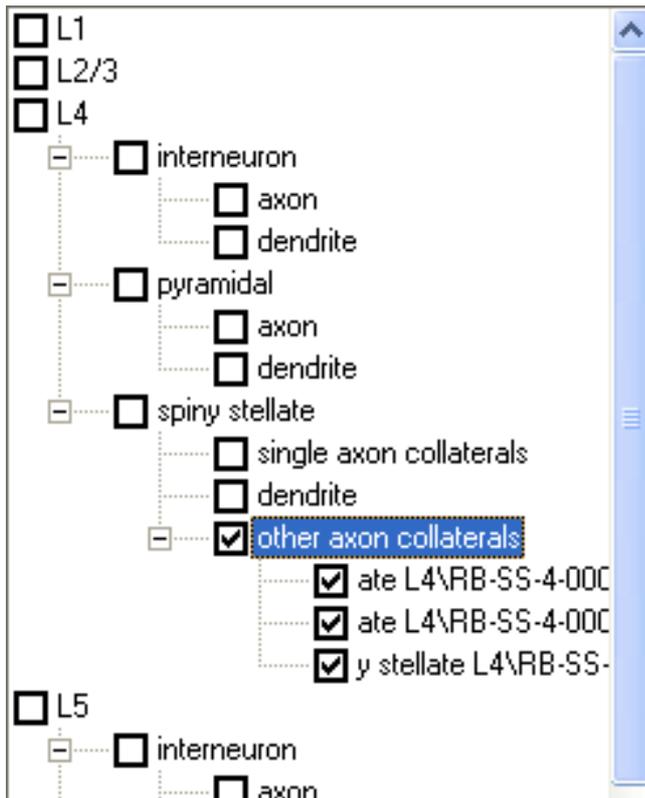


Abb. 5: Strukturierung der Daten in einer hierarchischen Liste mit einem Tree-View-Steuerelement (B) dargestellt. Jedem einzelnen Kollateral - hier: L4; Spiny Stellate; Other Axon Collaterals - sind ein Satz Bilddaten und eine Dichtefunktion zugeordnet.

ses relativ schwierig zu verwirklichen ist, da zeitaufwendige Schritte wie das Bestimmen der Verzweigungs- und Endpunkte kaum automatisierbar sind. Eine nützliche Hilfe ist dagegen z.B. die Auswahl des Bereiches um den Skalierungsbalken mit der Maus, in dem automatisch die Länge des Balkens in Pixel bestimmt und der Balken beim anschließenden Speichern gelöscht wird.

## 4.2.1 Bildbearbeitung

### 4.2.1.1 Farbfilter

Die Farbfilter dienen dazu, aus einer Neuronenabbildung, in der Dendriten und Neuronen jeweils monochrom mit verschiedenen Helligkeitsabstufungen des Farbtons dargestellt sind, nur diejenigen Pixel zu selektieren, die zur Baumstruktur gehören. Dabei muss der Farbfilter so eingestellt sein, dass möglichst alle Äste durchgehend erhalten bleiben, aber die die Äste umgebende Unschärfe verschwindet. Diesen Zweck erfüllt schon ein sehr einfacher Filter sehr gut, der für RGB-Farben jeden Farbanteil nur aus einem bestimmten Intervall zulässt. Die Bestimmung der benötigten Intervalle kann durch Auswahl von zur Baumstruktur gehöriger Bildpunkte erfolgen, deren Extremwerte der Farbanteile dann die Intervallgrenzen bilden. Alternativ erfolgt die Filtereinstellung manuell durch Verändern der Intervallgrenzen. Bei den Filtern für die

Standardfarben tritt das Problem auf, die Farben rot und grün zu unterscheiden. Da jedoch üblicherweise die Farbkombinationen blau-rot und grün-schwarz zu Darstellung verwendet werden, tritt das Problem praktisch nicht auf. Einmal erstellte Farbfilter können gespeichert und für weitere Bilder verwendet werden.

### 4.2.1.2 Bildfehlerbereinigung

Nach Anwenden des Farbfilters (Kap. 4.2.1.1) bleiben oft vereinzelte Punkte zurück, die nicht zur Baumstruktur gehören. Diese lassen sich entfernen, wenn man prüft, ob auf den Randpunkten  $P$  der Menge  $Q$  eines Quadrates mit der Kantenlänge  $l$  und dem Mittelpunkt  $M(x|y)$  Punkte der Baumstruktur  $D$  liegen. Ist  $Q \cap D = \{ \}$ , so ist der Punkt  $M$  nicht mit der Baumstruktur verbunden, sondern vereinzelt und kann somit gelöscht werden. Diese Abfrage führt man für alle Bildpunkte und alle Kantenlängen  $3 < l < n, n \in N$  durch.

### 4.2.1.3 Bildausschnitte

Um einzelne Kollaterale separat als Bild zu verarbeiten, muss eine Möglichkeit bestehen, diese auszuwählen. Dieses ist am einfachsten durch eine Bestimmung des gewünschten Bereiches als Polygon mit der Maus (Abb. 6 C). Um alle inliegenden Punkte, bzw. alle außerhalb liegenden Punkte zu bestimmen, ist der Trick die Verwendung der GDI-Funktion „Polygon“. Diese färbt alle Punkte innerhalb eines Polygons in der gewünschten Farbe. [26: S488f] Wendet man die Funktion auf die Liste der Eckpunkte an und zeichnet in ein leeres Bildfeld (Abb. 6 D), so genügt die Abfrage der Bildpunkte nach der gewählten Farbe um den Punkt eindeutig zuzuordnen. So ist sowohl die Selektion von Bildausschnitten (Abb. 6E) als auch die direkte Trennung in zwei Bilder mit dem selektierten und nicht selektierten Teil einfach möglich.

## 4.2.2 Automatische Punkterkennung

Die automatische Erkennung von Verzweigungs- und Endpunkten hat zwei große Nachteile. Sie funktioniert nur bei guter Bildqualität und geringer Dichte der Baumstruktur. Außerdem ist sie relativ rechenaufwendig. Realisiert ist die Erkennung durch einen Rahmen, der aus den Randpunkten eines Quadrates besteht, und pixelweise über das Bild geschoben wird. Jede Stelle, an der ein Schnittpunkt bei Endpunkten [drei Schnittpunkte bei Verzweigungen] gefunden werden, wird markiert. Zusammenhängende Pixel werden nur einmal als Schnittpunkt gerechnet um auch breitere Äste nur einmal zu erfassen. Als Schnittpunkt gelten Rahmenpunkte, die in zwei ineinander liegenden Rahmen gefunden werden. Zur endgültigen Erkennung werden Bereiche gesucht, in dem die Anzahl der markierten Punkte einen bestimmten Prozentsatz überschrei-

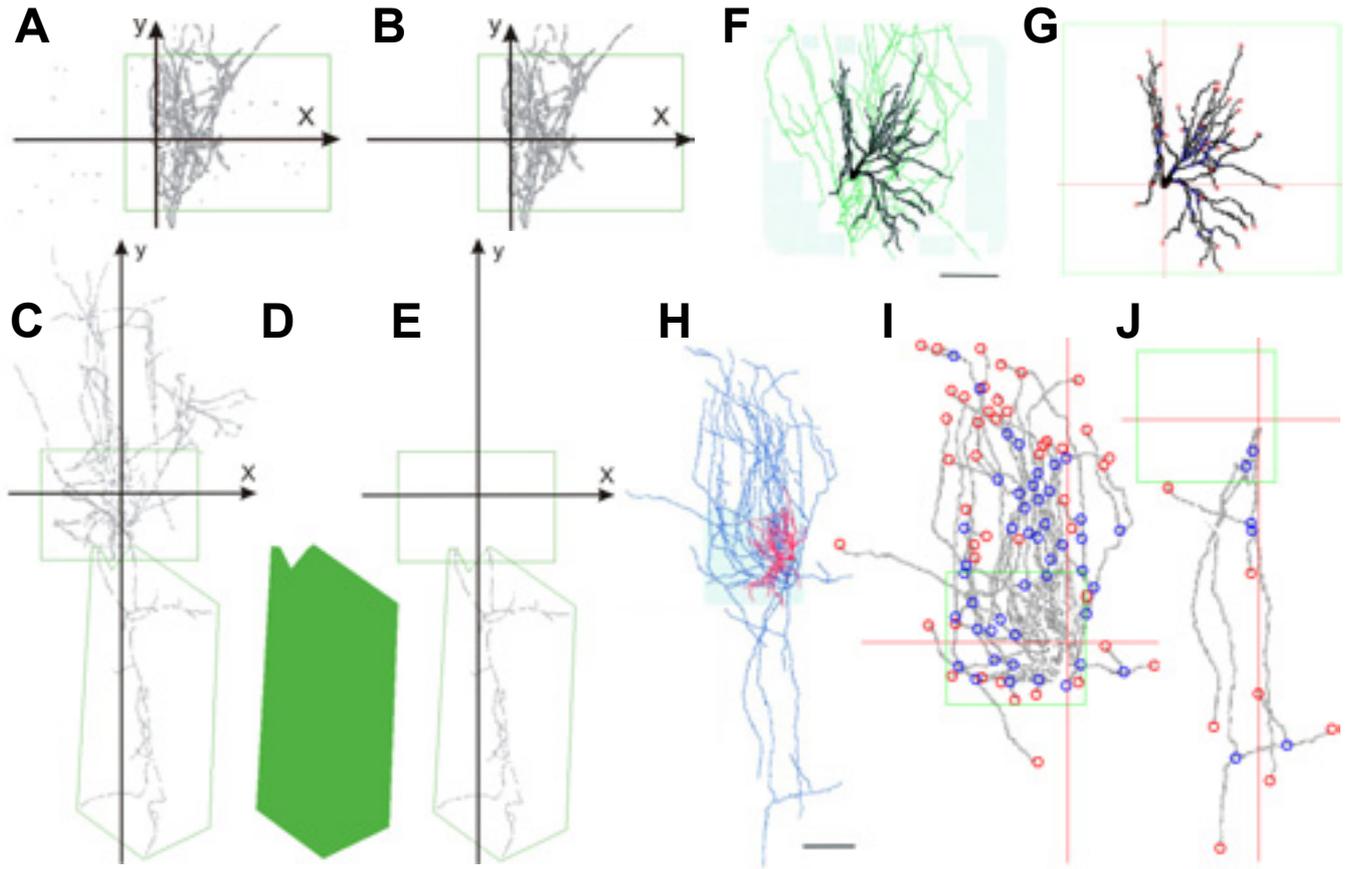


Abb. 6: Bild mit Pixelfehlern nach der Farbfilterung (A) und nach Anwenden der Bildfehlerbereinigung (B) (Kap. 4.2.1.2). Selektion einzelner Bildteile (C-E) von der Auswahl des Polygons (C) über die Anwendung der Polygon-Funktion (D) bis zum selektierten Bildausschnitt (E). Analyse der Bilddaten aus den publizierten Neuronenabbildungen (F, H). In der Kontrollausgabe des Programms (G, I, J) sind die Umrisse des Barrel (grüner Rahmen), der Zellkern (rotes Fadenkreuz), die Endpunkte (rote Kreise) und die Verzweigungspunkte (blaue Kreise) eingezeichnet. Außerdem ist die auf Graustufen reduzierte und bereinigte Baumstruktur zu sehen. Die Dendritenkonfiguration der Spiny Stellate lag im Original (F) [5: S6, Fig. 5B] in guter Auflösung vor, sodass eine Bearbeitung (G) ohne Probleme möglich war. Die Axonkollaterale der zweiten Spiny Stellate (H) [5: S3, 2A] sind dagegen sehr dicht, was sowohl das Erkennen der Verzweigungspunkte als auch eine saubere Farbtrennung deutlich erschwert. Dargestellt sind die Kollaterale in L4 und L2/3 (I) sowie das einzelne Kollateral (J) Richtung weißer Substanz.

tet. Hier befindet sich dann mit großer Wahrscheinlichkeit ein Verzweigungs- oder Endpunkt der Menge  $B_V$  bzw.  $B_B$ . Zusätzlich ist eine manuelle Auswahl der Punkte mit der Maus möglich.

### 4.2.3 Ermitteln der Randverteilungen

Zur Bestimmung der Randverteilungen  $f_T(i)$  (tips) und  $f_B(i)$  (branching points) aus den Bilddaten wird für jeden Punkt aus  $B_T$  und  $B_B$  mit  $s_j \in \{x_j, y_j, z_j\}$ ,  $j \in Z$ ,  $k \in N_{>0}$  der Index  $i, i \in Z$

$$i = \text{Int}\left(\frac{s_j}{\Delta s}\right) \quad (18)$$

des Funktionenarrays bestimmt und dessen Eintrag um eins erhöht. Die Funktion  $\text{Int}()$  liefert den ganzzahligen Anteil des Arguments zurück. Bei Bestimmung der Funktionen  $f_I$  (intersections) ist jeder Eintrag im Funktionenarray mit dem Index  $i$  die Anzahl  $n_i$  der der Stelle  $s_i$  zugeordneten Schnitt-

punkte  $S_j$  mit  $S_j \in S$ . Sollen die Schnittpunkte entlang der Achse  $g_1$  aufgetragen werden, so wird die Anzahl der Schnittpunkte auf einer Parallelen  $h$  zur zweiten Bildachse  $g_2$  gezählt. Der Abstand von  $h$  und  $g_2$  ist die Strecke  $s_i$ .  $s_i$  durchläuft alle Bildpunkte auf der Achse  $g_2$ . Zur Menge der Schnittpunkte  $S$  der Baumstruktur D mit der Gerade  $h$  zählen nur diejenigen Punkte  $S_j$ , für die beim Durchlaufen aller Bildpunkte  $P_j$  auf  $h$  gilt

$$S = \{P_j | P_{j-1} \notin D, P_j \in D\}. \quad (19)$$

Somit wird jeder Astabschnitt unabhängig von seiner Pixelbreite nur einmal gezählt. Soll  $f_{IR}$  bestimmt werden, so wird ein Kreis mit dem Radius  $r = s_i$  abgelaufen. Die Koordinaten des Punktes  $P_j$  sind somit,

$$x_j = \text{Int}(\cos \alpha_j \cdot r + M_x) \text{ und} \\ y_j = \text{Int}(\sin \alpha_j \cdot r + M_y),$$

mit  $\alpha_j = j \cdot \Delta\alpha$ ,  $j \in N_{>0}$ ,  $\alpha \in R$  wenn  $\alpha_j$  das Intervall  $[0, 2\pi[$  durchläuft.

### 4.3 Randverteilungen

#### 4.3.1 Glättung

Um die sehr unebenen Randverteilungen (Kap. 4.2.3) zu glätten, wird die Randverteilung  $f_{alt}(i)$  durch den gleitenden Mittelwert über  $n$ ,  $n = 2m + 1$ ,  $m \in N_{>0}$ ,  $n \in N$  ersetzt. Die gemittelte Funktion  $f_{neu}(i)$  ist dann

$$f_{neu}(i) = \frac{\sum_{k=i-m}^{i+m} f_{alt}(k)}{n} \quad (20)$$

Wird  $m$  klein gewählt, so weist  $f_{neu}(i)$  mehrere, schmale Maxima auf, ist  $m$  verhältnismäßig groß, so wird die Anzahl der Maxima deutlich kleiner und die Maxima werden breiter. Um das Charakteristische der Verteilung zu erhalten, ist es

deshalb sinnvoll  $m$  nicht zu groß zu wählen und die Glättung stattdessen mehrfach durchzuführen.

#### 4.3.2 Zusammenführung

Den Mittelwert von  $n$  Funktionen erhält man in dem man den Mittelwert derjenigen Einträge bildet, deren Differenz  $d$ ,  $d = m_n - i_n$  von Index  $i_n$  und der Stelle des Zellkerns  $m_n$  gleich ist. Die Mittelwertfunktion  $f_M(i)$  ist

$$f_M(i) = \frac{\sum_{k=1}^n f(m_k - m_M + i)}{n} \quad (21)$$

wobei  $m_M$  die Stelle des Zellkerns in der Funktion  $f_M(i)$  angibt.

#### 4.3.3 Normierung

Die Normierung erfordert einen vollständigen Satz von Randverteilungen  $f(i)$  aller drei Achsen jeweils für Verzweigungs- und Endpunkte und die Verteilung der Astabschnitte. Die Berechnungen erfolgen wie in Kap. 3.1.3 beschrieben.

#### 4.3.4 Qualitative Bewertung der Analyse

Die einfachste Möglichkeit die Qualität der Analyse einzuschätzen ergibt sich, wenn man die Analyseergebnisse der selben Achse eines Neurons aus unterschiedlichen Ansichten (horizontal und vertikal) vergleicht. Dies wurde am Beispiel der roten Dendritenkonfiguration einer Pyramidenzelle (Abb. 7 A + B) vorgenommen. Die Achsen sind jeweils eingezeichnet. Die Abbildung kann wegen ihrer schlechten Auflösung als „worst case“ angenommen werden. An den Funktionen der  $x$ -Achse (Abb. 7 C) aus beiden Bildern A und B ist eine Abweichung schon optisch zu erkennen. Die mittlere Abweichung der beiden Funktionen beträgt etwa 10% vom Maximalwert beider Funktionen. Der auftretende Fehler ist somit noch akzeptabel. Die variierende Anzahl der Maxima kann durch Unterschiede in der Mittelwertbildung (Intervallgröße) zur Glättung der Funktionen entstehen.

### 4.4 Neuronenberechnung

#### 4.4.1 Wachstumsalgorithmus

Die Idee Neuronen mit Hilfe von Fraktalen darzustellen ist erstmals 1987 entstanden und auch die Analyse der wichtigsten Modelle zur Neuronenentwicklung unterstützt diese These. Das Wachstum der Neuronen wird natürlicherweise von morphogenetischen Gradienten gesteuert. [22: S164f] Beide Ansätze führen dazu, die aus den Daten gewonnenen Informationen über die Dichte der Verzweigungs- und Endpunkte als Wahrscheinlichkeiten zu interpretieren, mit der ein Ast sich verzweigt oder einen Endpunkt bildet. Der Raum um den Zell-

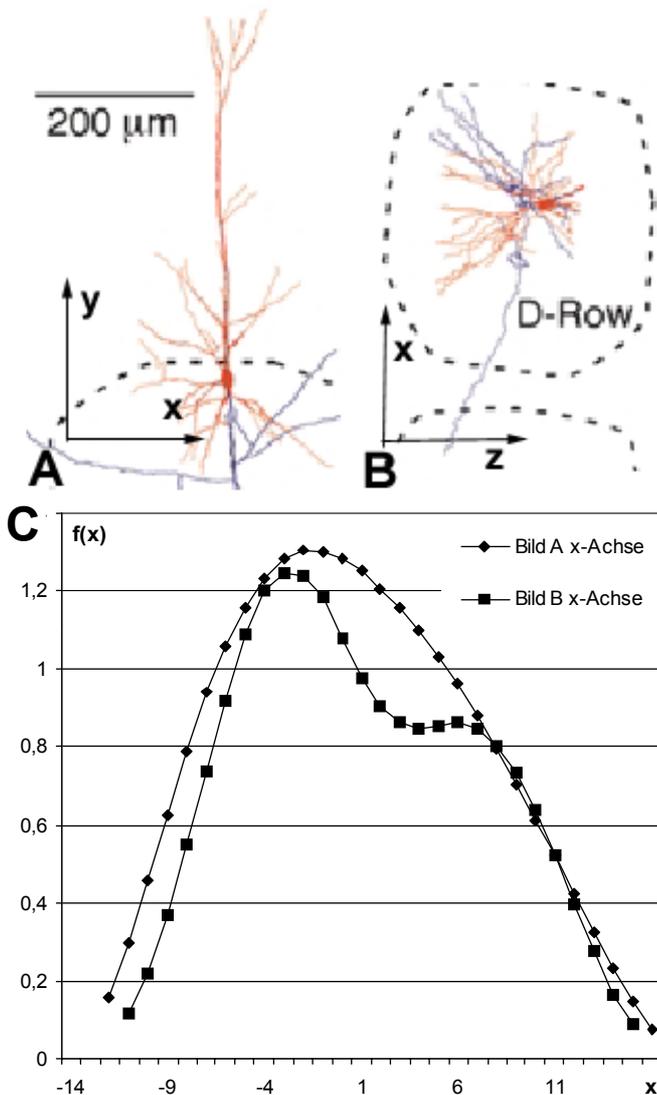


Abb. 7: Dendritenkonfiguration einer Pyramidenzelle in L4, A: Vertikalansicht, B: Horizontalansicht [6, Fig. 4] C: Darstellung der Verteilung der Endpunkte der Dendriten entlang der  $x$ -Achse.

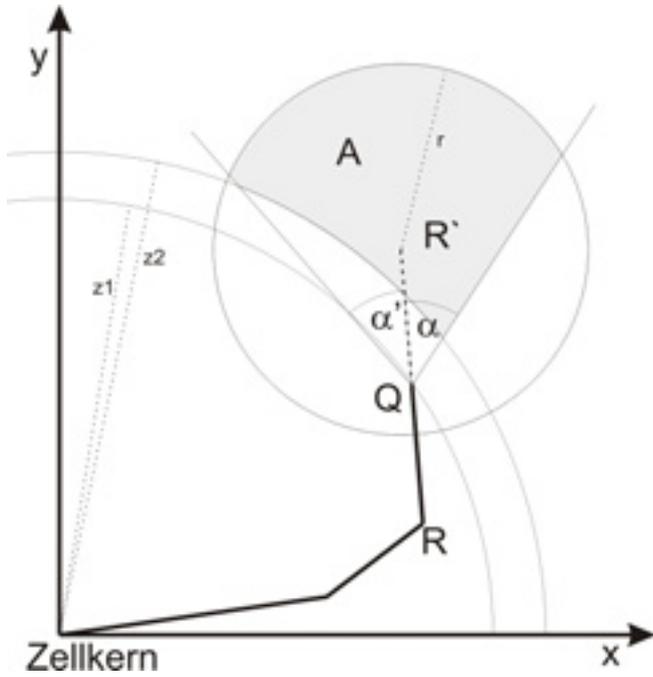


Abb. 8: Konstruktion der Punkte der Menge A (grau), die den Bereich für einen neuen Astpunkt P beschränkt abhängig vom aktuellen Verzweigungspunkt Q und dem vorigen Verzweigungspunkt R

kern wird nun in Würfel der Kantenlänge  $\Delta s$  unterteilt. Für jeden Würfel wird mit der durch  $g_B$  und  $g_T$  (Gl. 5, 17) gegebenen Wahrscheinlichkeit bestimmt, ob sich ein Verzweigungspunkt oder Endpunkt  $P$ ,  $P \in B$  (Kap. 4.2.2) innerhalb dieses Würfels befindet. Jetzt sei Q der Verzweigungspunkt, von dem ein Astsegment zum Punkt P laufen soll, R der vorige Verzweigungspunkt in der Baumstruktur. Um die Baumsegmente zwischen den gesetzten Punkten der Menge B einzufügen, wird zuerst eine räumliche Punktmenge A bestimmt (Abb. 8), in dem der neue Punkt P liegen darf und anschließend derjenige Punkt P,  $P \in A$  gesucht für den die Strecke  $\overline{PQ}$  am kleinsten ist. Für A gilt mit dem Verzweigungswinkel  $\beta = \angle(\overline{QR}, \overline{QP})$

$$A = \left\{ P \mid \overline{P0} > z_2, \overline{PR} < r, \beta < \alpha \right\} \quad (22)$$

Die Menge A ist somit bestimmt durch den maximalen Verzweigungswinkel  $\alpha$ , den Abstand  $z_2$  vom Zellkern und einer Kugel um mit dem Radius r um  $R'$ , wobei für  $R'$  mit dem Zellkern M gilt

$$\overline{MR'} = \overline{MR} + 2 \cdot \overline{RQ} \quad (23)$$

Der Winkel  $\beta$  lässt sich aus dem Winkel  $\chi$ ,  $\chi = \pi - \beta$  bestimmen. Nach dem Kosinussatz gilt in dem Dreieck  $\Delta PQR$

$$\overline{RP}^2 = \overline{QP}^2 + \overline{QR}^2 - 2 \cdot \overline{QP} \cdot \overline{QR} \cdot \cos \chi \quad (24)$$

Mit der oben genannten Beziehung zwischen beiden Winkeln gilt für  $\alpha$

$$\sin \alpha = \overline{RP}^2 - \overline{QP}^2 - \overline{QR}^2 + 2 \cdot \overline{QP} \cdot \overline{QR} \quad (25)$$

Alle weiteren benötigten Größen sind Streckenlängen l, die sich im  $R^3$  für zwei Punkte  $P_1$  und  $P_2$  bestimmen lassen mit

$$l = \sqrt{(x_1 - x_2)^2 + (y_1 - y_2)^2 + (z_1 - z_2)^2} \quad (26)$$

Auf diese Weise werden jedem Verzweigungspunkt Q zwei Punkte  $P_1$  und  $P_2$  zugeordnet. Ist ein Punkt ein Endpunkt,  $P \in B_T$ , so können von ihm selbstverständlich keine neuen Äste ausgehen. Dieses Wachstumsmodell erfordert bestimmte Parameter. Der Abstand vom Zellkern  $z_2$  ergibt sich aus dem vorigen Abstand  $z_1$  mit

$$z_1 = z_2 \cdot s, s \in R^+ \quad (27)$$

Wird für der Faktor s im Intervall  $]0,1[$  gewählt, so sind auch rückläufige Dendriten möglich, ist dagegen  $s \geq 1$ , so kann die Baumstruktur nur nach außen wachsen. Ein zweiter Faktor t bestimmt den Radius r mit

$$r = \overline{QR} \cdot t, t \in R^+ \quad (28)$$

Dieser Faktor hat zusammen mit dem maximalen Verzweigungswinkel  $\alpha$  wesentlichen Einfluss darauf, ob ein Kollateral räumlich kompakt bleibt oder sich weiter ausdehnen kann.

Als weitere sinnvolle Verbesserung hat sich die Einbeziehung des Orientierungsvektors  $\vec{o}$  in die Berechnung der Baumstruktur ergeben. Dieses ist so realisiert, dass nach der Bestimmung der n Verzweigungspunkte erster Ordnung der Struktur (die also über nur ein Segment mit dem Zellkern verbunden sind), die Position dieser Punkte dem Orientierungsvektor  $\vec{o}$  so lange schrittweise angenähert wird, bis deren gemittelter Vektor  $\vec{v}$  mit dem Orientierungsvektor (s. Gl. 9) - abgesehen von einer gewissen Toleranz  $\vec{t}$  - übereinstimmt, also

$$\vec{v} = \vec{o} + \vec{t} \quad (29)$$

Die Baumstruktur ist im Programm durch ein 3D-Array abgebildet, in dem die Art des Punktes und die mit diesem verbundenen Punkte der nächst höheren Ordnung gespeichert sind. Diese Abbildung bietet gegenüber einer Pointerstruktur den Vorteil, dass Punkte in einem räumlich begrenzten Areal leichter zu bestimmen sind. Der Nachteil ist der höhere Speicherbedarf. Im Programm müssen als Parameter die Anzahl der Verzweigungspunkte erster Ordnung, der maximale Verzweigungswinkel  $\beta$  und die beiden Radienverhältnisse  $z_1/z_2$  und  $r_1/r_2$  eingestellt werden.

#### 4.4.2 Parameterabschätzung

Die Monte-Carlo-Methode ist für die Parameterabschätzung bei dem verwendeten Wachstumsalgorithmus gut geeignet, da mehrere voneinander abhängige Parameter zu bestimmen sind, deren systematische Eingrenzung schwierig ist. Die Monte-Carlo-Methode erfordert eine Bewertung der aus einem zufälligen Parametersatz errechneten Neuronen. Diese Bewertung erfolgt durch den Vergleich mit den Originaldaten. Bewertungsgrundlage sind die Segmentlängen und Verzweigungswinkel der Baumstrukturen in den Abbildungen sowie die Anzahl von Verzweigungs- und Endpunkten. Da sich die Verzweigungswinkel nur schwer bestimmen lassen, wird an jedem Verzweigungspunkt der kleinste der drei Schnittwinkel von jeweils zwei anliegenden Segmenten verwendet, worin ebenfalls Informationen über die Verzweigungswinkel enthalten sind. Für jedes Kriterium wird ein normierter Fehler bestimmt. Der Fehler  $n_{S,V}$  für die Segmentlängen und Verzweigungswinkel wird mit den Originalkurven normiert, indem die Summe der absoluten Differenzen  $\Delta v(i) = h'(i) - h(i)$  aller Werte  $v_i$ ,  $i \in N$ , der diskreten Verteilungsfunktionen (Abb. 9) von original  $h'(i)$  und konstruierten Neuronen  $h(i)$ , durch die Summe der Werte der Verteilung der Originaldaten  $h'(i)$  dividiert wird,

$$n_{S,V} = \frac{\sum_{i=1}^m |h'(i) - h(i)|}{\sum_{i=1}^m h'(i)}, \quad m \in N. \quad (30)$$

Es ist auch möglich, dass die Anzahl der tatsächlichen Verzweigungs- und Endpunkte  $k_{B,T}$  von den gewünschten Endergebnissen  $k'_{B,T}$  abweicht, wenn der Wachstumsalgorithmus nicht alle gesetzten Punkte trifft. Hier lässt sich der Fehler  $n_{B,T}$  wieder über den Quotient der absoluten Differenz der Anzahl von original und konstruierten Neuronen durch die Originalanzahl.

$$n_{B,T} = \frac{|k - k'|}{k'}. \quad (31)$$

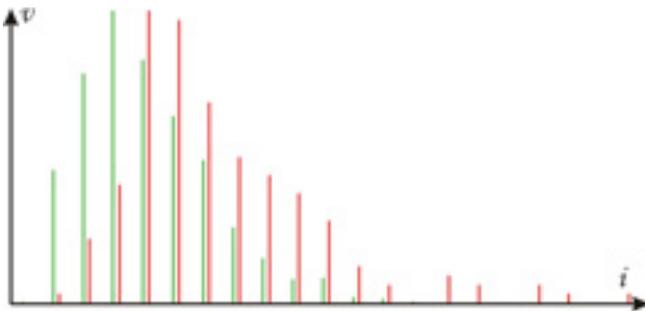


Abb. 9: Verteilung der normierten Längen der Segmentabschnitte aus original 2D-Bildern (grün) und auf 2D projizierten konstruierten Neuronen (rot).



Abb. 10: Rotation eines konstruierten Neurons (Interneuron, Axon) um jeweils  $\alpha = \pi / 3$ .

Der Gesamtfehler  $n_{ges}$  ist dann

$$n_{ges} = n_S + n_V + n_B + n_T. \quad (32)$$

Die Intervallgrenzen werden nach einer Mindestanzahl von Zufallsparametern nach den jeweils  $m$  besten Parametersätzen angepasst, sodass sich die Intervalle immer weiter verkleinern und der Fehler einem Minimum entgegen läuft. Schwierig wird diese Methode, falls das gefundene Minimum nur ein lokales und kein globales ist.

## 5 Ergebnisse und Diskussion

Die Ergebnisse zeigen, dass eine Überlagerung vieler Neuronen zu im Mittel achsensymmetrischen Verteilungen (zur y-Achse) führt, wenn man die Position des Zellkerns relativ zum Barrel unbeachtet lässt. Somit ist der Ansatz, bei fehlenden Daten von Rotationssymmetrie um die y-Achse auszugehen, gerechtfertigt. Etwas schwierig ist bei der Glättung der Funktionen (Kap. 4.3.1) abzuschätzen, welches Intervall zu einer charakteristischen Verteilung der Maxima führt, da deren Anzahl sich über die Intervallgröße beeinflussen lässt. Eine größere Anzahl von auswertbaren Neuronenabbildungen würde dieses Problem verhindern. Schon aus den Dichteplots (Abb. 11) lassen sich interessante neue Aussagen über Neuronenklassen in den Barrels machen. So verraten die Plots (A-D) wie die Verzweigungs- und Endpunkte der Neuronencluster (E, F) verteilt sein müssen.

### 5.1 Qualitative Analyse

Eine mögliche Fehlerquelle bei der Analyse ist die Lokalisierung von Verzweigungs- und Endpunkten. Ein Vergleich der Randverteilungen eines Neurons aus verschiedenen Ansichten zeigt jedoch, dass auch bei schlechtester Bildauflösung hier ein maximaler Fehler von 10% entsteht (Kap. 4.3.4) und damit besonders bei besser aufgelösten Bildern keine Probleme zu erwarten sind. Eine weitere Fehlerquelle ist, dass der Wachstumsalgorithmus nicht immer alle vorgegebenen Punkte erreicht. Indem beide Dichten bei der Parameterbestimmung

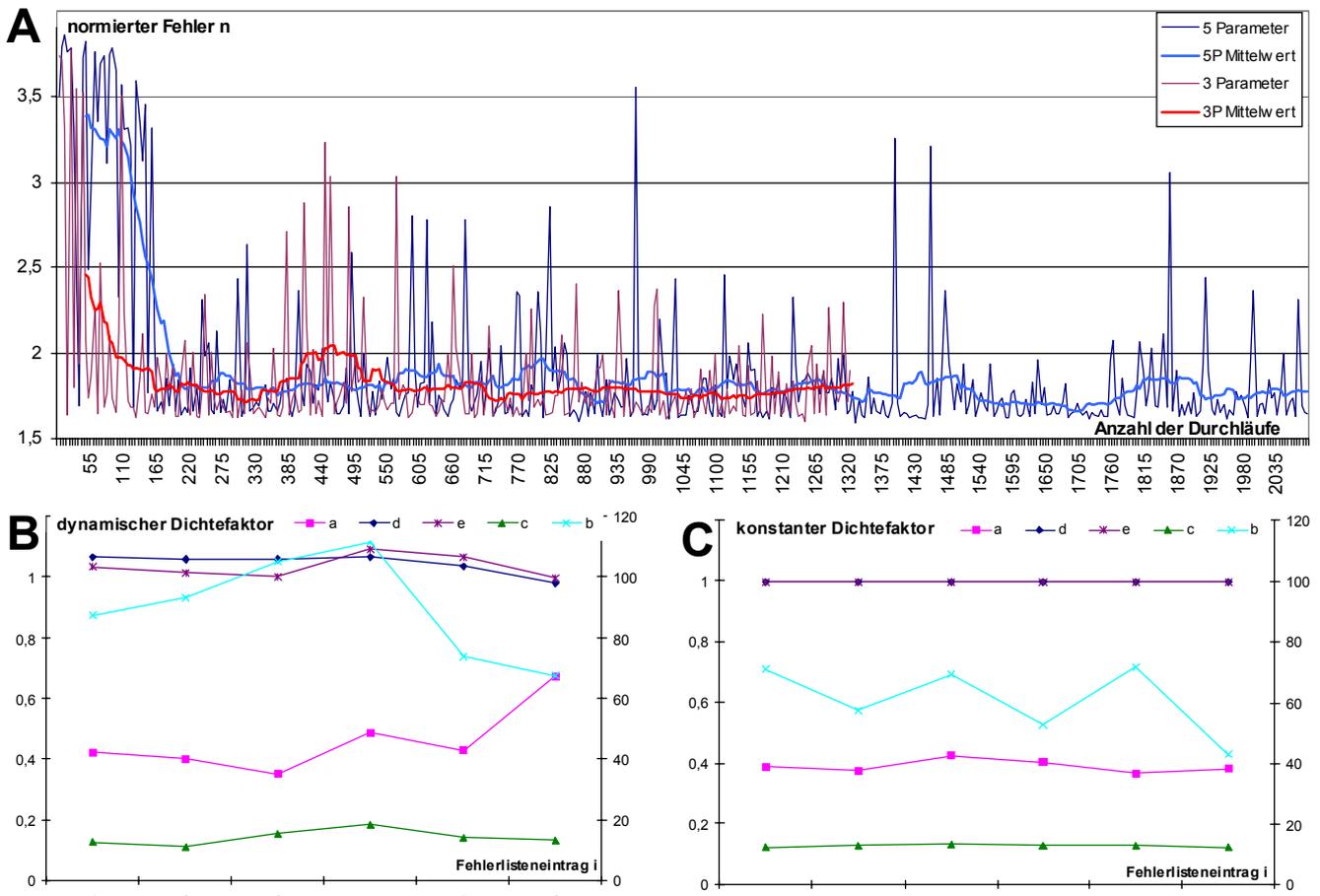
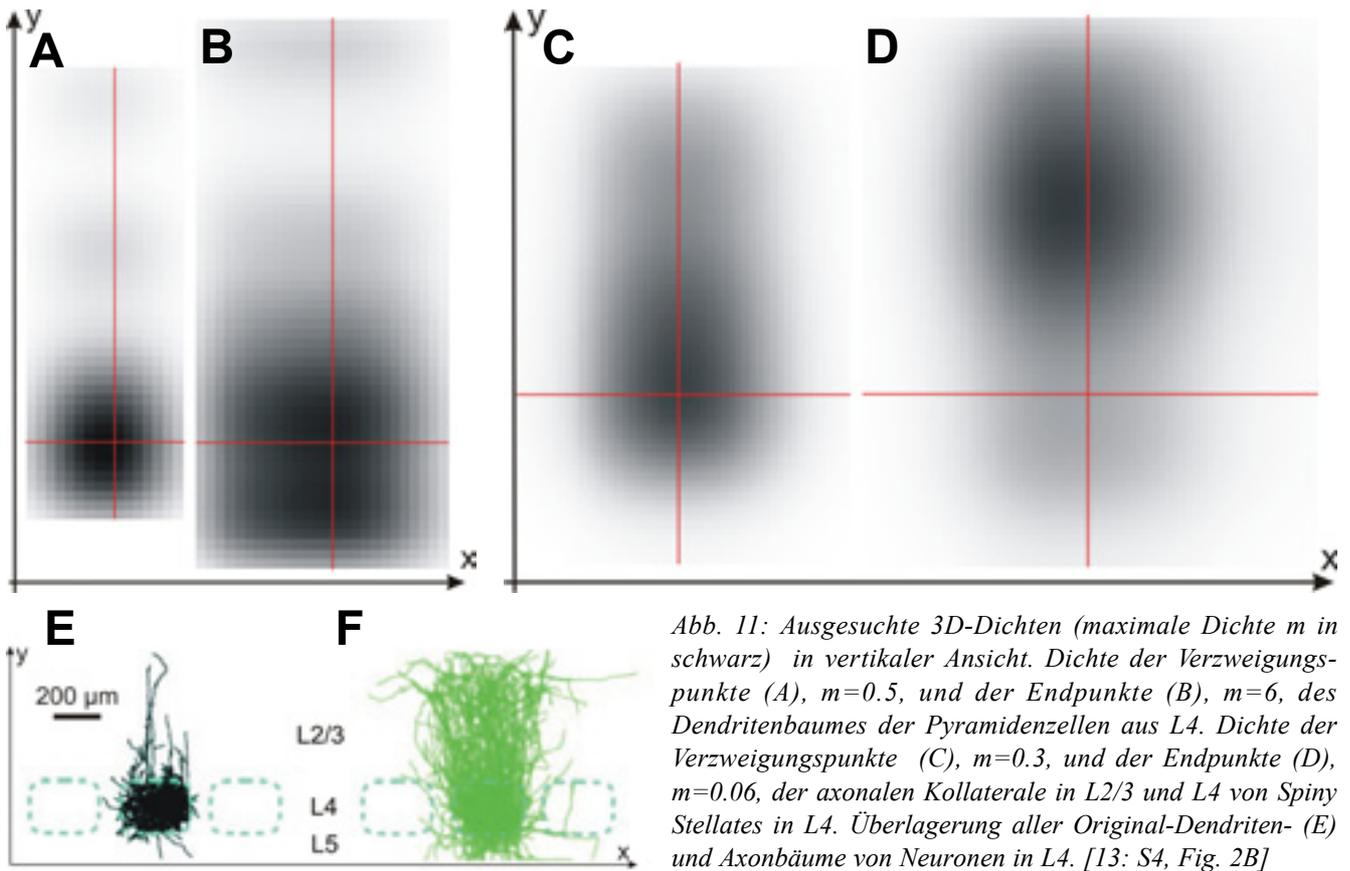


Abb. 12: Verlauf der normierten Fehler (A) bei der Parameterabschätzung mit der Monte-Carlo-Methode am Neuronenmodell. Es sind zwei Kurven mit konstanten Faktoren  $d=1, e=1$  für die Dichtefunktionen (rot) und mit (dynamischen) Zufallsfaktoren (rot) abgebildet. Vergleich der Parameter bei dynamischem (B) und konstantem (C) Dichtefaktor für die ersten sechs Listeneinträge bei aufsteigend geordnetem Fehler (s. Abb. 13).

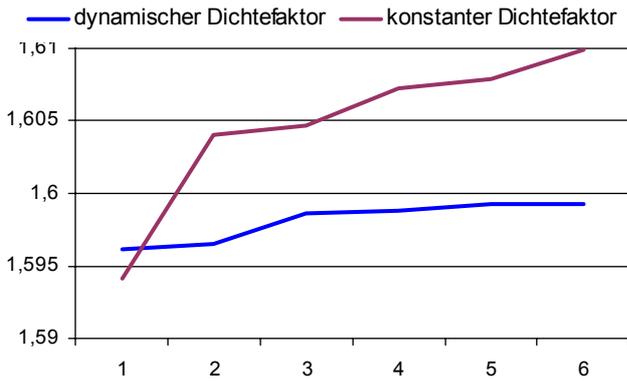


Abb. 13: Vergleich der Fehlerkurven von dynamischen und statischen Dichtefaktoren

einen Faktor aus dem Intervall  $[0.8, 1.2]$  anstelle eines festen Faktors  $d=1, e=1$  zugewiesen bekommen, ist im Vergleich mit Ergebnissen bei konstanten Faktoren eine Aussage über den auftretenden Fehler möglich. Im Fehlerverlauf (Abb. 12 A) zeigt sich, dass sich die Ergebnisse bei drei Parametern wesentlich schneller stabilisieren, als bei fünf Parametern. Außerdem weichen die einzelnen Parameter nur mit einer mittlere Abweichung von 13% voneinander ab (vgl. Abb. 12 B + C). Es ist jedoch zu bemerken, dass die dynamischen Dichtefaktoren sich maximal 10% über dem statischen Wert  $w=1$  einpendeln. Die leichte Verringerung des Fehlers ( $<1\%$ , vgl. Abb. 13) ist zu gering um den beträchtlichen Mehraufwand an Rechenleistung zu rechtfertigen. Es ist somit sinnvoll  $d=1$  und  $e=1$  anzunehmen.

### 5.1.1 Dichtefunktionen

Das die verwendete Methode zur Bestimmung der Dichtefunktionen nicht bei allen Neuronentypen zu guten Ergebnis-

sen führt, ist am Beispiel der in Abb. 14 gezeigten Interneuronen gut zu erkennen. Während der Ansatz über die Randverteilungen auch mit radiusabhängiger Funktion zu säulenförmigen Dichtefunktionen (D, E) führt, zeigt die Glättung der 2D-Verteilung (C) die tatsächliche optimale Dichteverteilung. Somit wäre es sinnvoll, weitere Ansätze zur Ermittlung der Dichtefunktionen zu testen. Die bekannten Verteilungen der Punkte (vgl. Abb. 14F) führen zu der Annahme, dass sich die Dichten als Überlagerung mehrerer 3D-Gauß-Verteilungen  $f(k)$  darstellen lassen

$$f(k) = \frac{1}{(2\pi)^{3/2} |\Sigma|^{1/2}} \cdot e^{\left(-\frac{1}{2}(k-\mu)^T \Sigma^{-1} (k-\mu)\right)},$$

mit dem Zufallsvektor  $k = (X \ Y \ Z)^T$ , dem Erwartungsvektor  $\mu = (\mu_x \ \mu_y \ \mu_z)^T$ , der Determinante  $|\Sigma|$  und der Kovarianzmatrix

$$\Sigma = \begin{pmatrix} \sigma_x^2 & \rho_{xy}\sigma_x\sigma_y & \rho_{xz}\sigma_x\sigma_z \\ \rho_{yx}\sigma_y\sigma_x & \sigma_y^2 & \rho_{yz}\sigma_y\sigma_z \\ \rho_{zx}\sigma_z\sigma_x & \rho_{zy}\sigma_z\sigma_y & \sigma_z^2 \end{pmatrix}$$

Somit sind für jede 3D-Normalverteilung neun Parameter zu bestimmen, wobei der Erwartungsvektor  $\mu$  die Position des Maximums bestimmt. Außerdem müssen Vektoren für die Standardabweichung  $\sigma$  und die Korrelationskoeffizienten  $\rho$  angegeben werden. Auf diese Weise lassen sich die Dichten – wenn auch mit erheblichem Rechenaufwand – z.B. über einen genetischen Algorithmus durch Abgleich mit den 2D-Originalbildern ermitteln. Es somit nicht mehr nötig, die Daten auf die

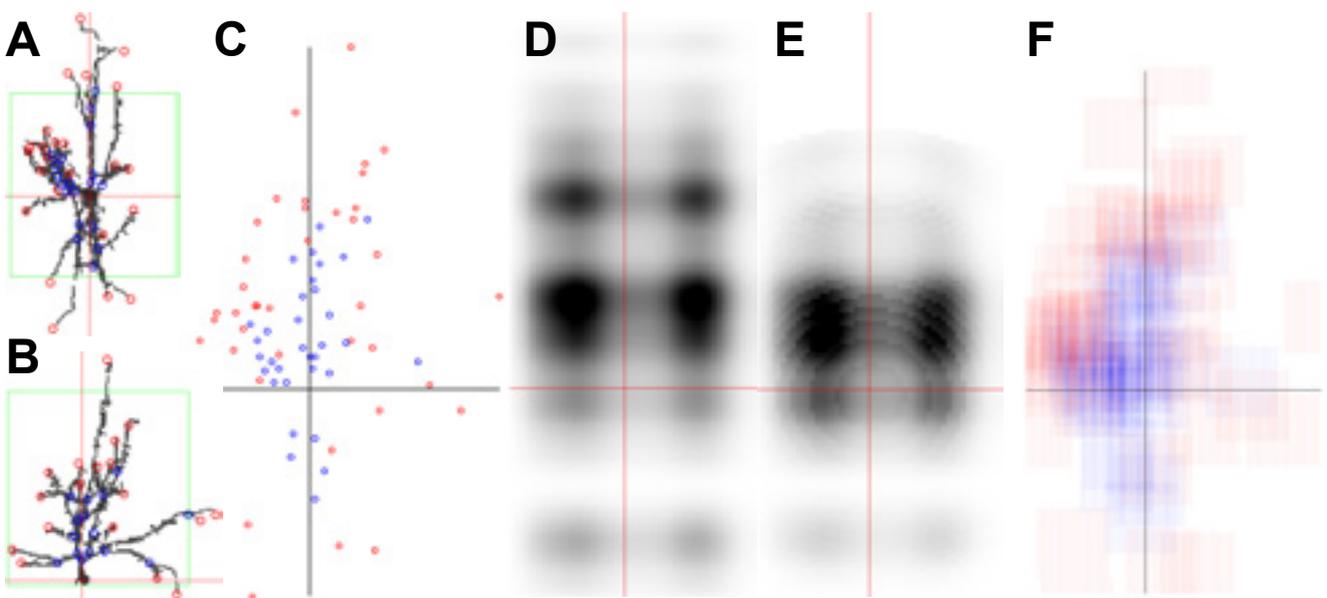


Abb. 14: (A+B) Dendritenkonfiguration von analysierten Interneuronen aus L4 in Vertikalansicht. [14, S.3, Fig. 1]. (C) Überlagerung der Verteilungen von Verzweigungs- und Endpunkten in 2D. Daraus berechnet sind die Dichtefunktion als Produkt der Randverteilungen und entlang der Achsen (D) und mit zusätzlicher radiusabhängiger Funktion. Gegenübergestellt ist die geglättete Verteilung (F), die ohne Projektion auf die Achsen direkt aus der 2D-Darstellung (C) berechnet wurde.

Achsen zu projizieren, sondern es können direkt die kompletten 2D-Verteilungen verwendet werden.

### 5.1.2 Wachstumsalgorithmen

In Abb. 9 ist ein weiteres Problem zu erkennen. Es ist bei dem verwendeten Modell nicht möglich, die Maxima der Verteilungen der Segmentlängen  $h_s(i)$  zu überlagern. Die konstruierten Neuronen weisen stets etwas zu lange Segmentabschnitte auf. Hierfür kommen zwei Ursachen in Frage. Zum einen müssen im Algorithmus oft längere Segmente verwendet werden um eine geschlossene Baumstruktur zu erhalten. Zum anderen ist zwar im Mittel die Dichte von Verzweigungen und Endpunkten relativ gleichmäßig verteilt. Bei einem einzelnen Neuron ist es jedoch so, dass Verzweigungs- und Endpunkte jeweils zu einem Kollaterale gehören und dann oft näher zusammenliegen, als dieses im Mittel zu erwarten wäre. Um dieses Problem zu testen und eventuell zu lösen, muss in der Fortführung der Arbeit ein weiterer Wachstumsalgorithmus

	Fehler	a	b	c
Modell	1,598	0,391	95,290	13,207
Interneuron	1,530	0,312	88,437	9,558
Pyramidenzelle	0,746	0,386	78,143	12,570
Spiny Stellate	0,811	1,014	109,199	13,366

Tab. 2: kleinster Fehler und geschätzte Parameter (konstante Dichtefaktoren) für das Modellneuron und die Neuronen im Rat Barrel Kortex, L4

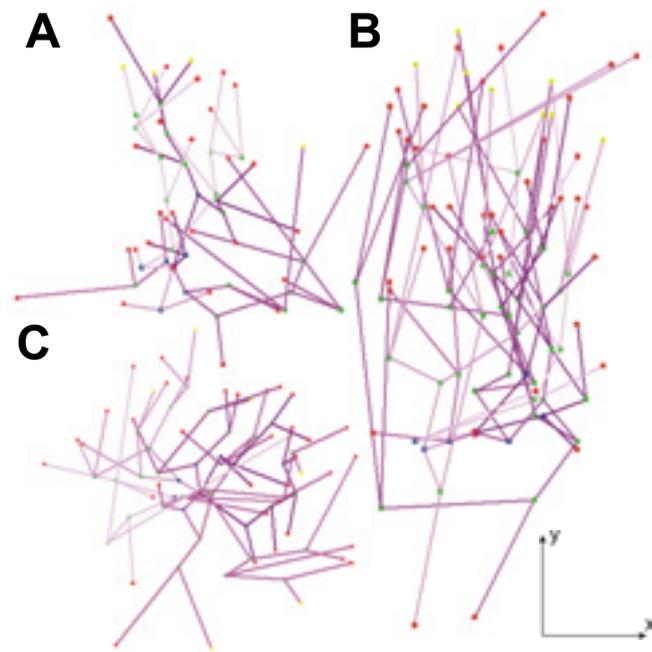


Abb. 15: Zufällig gewählte Beispiele für Axone von drei analysierten Neuronenklassen: (A) Pyramidenzellen, (B) Spiny Stellates, (C) Interneuronen. Markiert ist jeweils der Zellkern (großer roter Kreis, die ersten Verzweigungspunkte (blau-grün), alle übrigen Verzweigungspunkte (grün), Endpunkte (rot-grün) und Verzweigungspunkte, die in der Rekonstruktion unverbunden geblieben sind (gelb-grün).

getestet werden, der Verzweigungs- und Endpunkte erst beim Wachstum der Kollaterale positioniert und so lokale Häufungen der Punkte ermöglicht.

## 5.2 Vergleich der Neuronenklassen

Die Baumstrukturen der verschiedenen Neuronenklassen (Abb. 15) sind nicht nur optisch klar zu unterscheiden. Die Parameterschätzung hat gezeigt, dass auch in den Parametern deutliche Unterschiede festzustellen sind. So fällt beispielsweise beim Interneuron auf, dass der Faktor  $c$  deutlich geringer ist, als bei den anderen. Dieses entspricht der Tatsache, dass die Baumstruktur von Interneuronen aus eher kurze Segmentabschnitten besteht, da Interneuronen sehr dichte Axonstrukturen aufweisen und ihre Ausdehnung auf den Barrel beschränkt ist. Außerdem sind die Werte der Spiny Stellates auffällig, da diese in allen Parametern höher liegen als die anderen Neuronen. Die Ursache hierfür ist die sehr viel weitläufigere Struktur der Spiny Stellates mit z.T. großen Segmentlängen.

## 6 Ausblick

Mit der Arbeit ist zum jetzigen Zeitpunkt die Konstruktion von einzelnen Neuronen möglich, doch zum vollständigen Neuronencluster fehlt noch ein weiterer Schritt. Dazu wird es nötig sein, die Dichten abhängig von der Position des Neurons im Barrel anzupassen und auch die Verteilungen der Zellkerne im Barrel zu bestimmen. Außerdem müssen Regeln für die Verbindungswahrscheinlichkeiten zwischen zwei Neuronentypen gefunden werden, die Abhängig von Typ und Abstand von zwei Astabschnitten sein sollte. Es besteht, wie gezeigt wurde, sowohl bei den Dichtefunktionen als auch beim Wachstumsalgorithmus, die Möglichkeit, die Ergebnisse zu verbessern.

Weiterhin steht der ursprünglich angedachte Vergleich mit anderen Neuronenclustern noch aus. Die Datengrundlage ist auf jeden Fall ausreichend für eine Analyse anderer prominenter Gehirnareale der Ratte, wie dem Thalamus, oder auch dem Vergleich mit Katzen oder Affen. Besonders reizvoll ist ein Vergleich mit der Verknüpfungsstruktur nicht zentraler, sondern in Ganglien angeordneter Nervensysteme, wie bei der Meeresschnecke *Aplysia*. Zuletzt bleibt ein Test der Physiologie der Modellcluster unter Verwendung der Kabeltheorie (Kap. 2.2) als Weiterführung des Projektes. Die Möglichkeiten, die das Projekt weiterhin bietet, sind so zahlreich, dass größter Neugier zum Trotz stets mehr Fragen aufgeworfen werden und mehr Herausforderungen entstehen, als beantwortet und gelöst werden könnten.

## Danksagung

Zuallererst möchte ich meinem Betreuungslehrer Thomas Biedermann danken, der mir in vielen sehr interessanten und hilfreichen Diskussionen immer weiterhelfen konnte, wenn ich selber nicht weiter wusste, und dann Susanne für die gute Verpflegung mit Kaffee und das „Erdulden“ der ständigen Besuche. Außerdem vielen Dank an meine Mutter und an Kater für das Korrekturlesen und seine seelische und manchmal auch fachliche Unterstützung während ich an dem Projekt gearbeitet habe und an die vielen anderen Leute, die sich neben Schule und Beruf zum Teil sehr intensiv mit meiner Arbeit auseinandergesetzt haben. Dies sind insbesondere Christoph Kirst, Alexander Hasenfuß und Prof. Dr. Barbara Hammer. Zuletzt noch mal ein Dankeschön an alle Jufos, die ich im letzten Jahr kennen gelernt habe und mit denen ich unglaublich viel Spaß hatte. Ihr seid die schönste Motivation, immer wieder teilzunehmen.

## Quellen

- [1] C Koch, I Segev: „Methods in Neuronal Modeling – From Synapses to Networks“ in TJ Sejnowski, TA Poggio (Hrsg): „Computational Neuroscience“, First MIT Press Paperback Edition 1991, Copyright 1989 MIT
- [2] P Dayan, LF Abbott: „Theoretical Neuroscience – Computational and Mathematical Modeling of Neural Systems“ in TJ Sejnowski, TA Poggio (Hrsg): „Computational Neuroscience“, MIT Press, Copyright 2001 MIT
- [3] M Maravall, IYY Koh, WB Lindquist, K Svoboda: "Experience-dependent Changes in Basal Dendritic Branching of Layer 2/3 Pyramidal Neurons During a Critical Period for Developmental Plasticity in Rat Barrel Cortex", *Cerebral Cortex* June 2004; 14:655–664
- [4] JK Pasternak, TA Woosley: "The number, size and spatial distribution of neurons in lamina IV of the mouse Sml neocortex", 1975; *J. Comp. Neurol.* 160, 291-306
- [5] J Lübke, V Egger, B Sakmann, D Feldmeyer: "Columnar Organization of Dendrites and Axons of Single and Synaptically Coupled Excitatory Spiny Neurons in Layer 4 of the Rat Barrel Cortex", July 15, 2000; *The Journal of Neuroscience*, 20(14):5300–5311
- [6] M Brecht, B Sakmann: "Dynamic representation of whisker deflection by synaptic potentials in spiny stellate and pyramidal cells in the barrels and septa of layer 4 rat somatosensory cortex", 2002; 543; 49-70; originally published online Jun 28, 2002; *J. Physiol.*
- [7] D Feldmeyer, J Lübke, RA Silver, B Sakmann: "Synaptic connections between layer 4 spiny neurone- layer 2/3 pyramidal cell pairs in a juvenile rat barrel cortex: physiology and anatomy of interlaminar signalling within acortical column", 2002; *J. Physiol.* 538;803-822
- [8] KJ Bender, J Rangel, and DE Feldman: „Development of Columnar Topography in the Excitatory Layer 4 to Layer 2/3 Projection in Rat Barrel Cortex“, September 24, 2003; *The Journal of Neuroscience*, 23(25):8759–8770, 8759
- [9] C Tailby, LL Wright, AB Metha, MB Calford: "Activity-dependent maintenance and growth of dendrites in adult cortex", March 22, 2005; *PNAS*, vol. 102 no. 12, 4631–4636
- [10] Y Wang, M Toledo-Rodriguez, A Gupta, C Wu, G Silberberg, J Luo, H Markram: "Anatomical, physiological and molecular properties of Martinotti cells in the somatosensory cortex of the juvenile rat", 2004; *J Physiol* 561.1, pp 65-90
- [11] D Feldmeyer, B Sakmann: "Synaptic efficacy and reliability of excitatory connections between the principal neurones of the input (layer 4) and output layer (layer 5) of the neocortex", 2000; 525;31-39 *J. Physiol.*
- [12] CCH Petersen, B Sakmann: "The Excitatory Neuronal Network of Rat Layer 4 Barrel Cortex", October 15, 2000; *The Journal of Neuroscience*, 20(20):7579–7586
- [13] CCH Petersen and B Sakmann: "Functionally Independent Columns of Rat Somatosensory Barrel Cortex Revealed with Voltage-Sensitive Dye Imaging", November 1, 2001; *The Journal of Neuroscience*, 21(21):8435–8446
- [14] QS, JR Huguenard, DA Prince: "Barrel Cortex Microcircuits: Thalamocortical Feedforward Inhibition in Spiny Stellate Cells Is Mediated by a Small Number of Fast-Spiking Interneurons", January 25, 2006; *The Journal of Neuroscience*, 26(4):1219–1230, 1219
- [15] D Feldmeyer, J Lübke and B Sakmann: "Efficacy and connectivity of intracolumnar pairs of layer 2/3 pyramidal cells in the barrel cortex of juvenile rats", DOI: 10.1113/jphysiol.2006.105106 published online Jun 22, 2006; *J. Physiol.*b
- [16] D Schubert, R Kötter K Zilles, HJ Luhmann, JF Staiger: "Cell Type-Specific Circuits of Cortical Layer IV Spiny Neurons", April 1, 2003; *The Journal of Neuroscience*, 23(7):2961–2970, 2961

- [17] D Schubert, JF Staiger, N Cho, R Kötter, K Zilles, HJ Luhmann: "Layer-Specific Intracolumnar and Transcolumnar Functional Connectivity of Layer V Pyramidal Cells in Rat Barrel Cortex", May 15, 2001; *The Journal of Neuroscience*, 21(10):3580–3592
- [18] ID Manns, B Sakmann M Brecht: "Sub- and suprathreshold receptive field properties of pyramidal neurons in layers 5A and 5B of rat somatosensory barrel cortex", 2004; *J. Physiol* 556.2, pp 601-622
- [19] Y Wang, A Gupta, M Toledo-Rodriguez, CZ Wu, H Markram: "Anatomical, physiological and molecular properties of Nest Basket cells in the Developing Somatosensory Cortex", Apr 2002; *Cerebral Cortex*, 12:395-410; 1047-3211/02
- [20] HAK Masterbroek, JE Vos: "Plausible Neural Network for Biological Modelling", Kluwer Academic Publishers, 2001
- [21] M Abeles: *Corticonics: Neural circuits of the cerebral cortex*, Cambridge University Press, 1991
- [22] F. Ventriglia: „Neural modeling and neural networks“, Pergamon Press, 1994
- [23] RJ MacGregor: „Neural and Brain Modeling“, in RF Thompson: "Neuroscience: a series of Monographs and Texts", Academic Press, Inc., 1987
- [24] „Neurowissenschaft: Vom Molekül zur Kognition“, Dudel (Hrsg), Springer-Verlag, Berlin, 2001, 2. Auflage
- [25] H. Hanser, C. Scholtyssek (Red): „Lexikon der Neuronwissenschaft: in vier Bänden“, Spektrum akademischer Verlag, 2000
- [26] M Kofler: „Visual Basic 6: Programmieretechniken, Datenbanken, Internet“, Addison-Wesley-Longman, Bonn 1998
- [27] Bronsten: „Taschenbuch der Mathematik“, Verlag Harri Deutsch, 4. überarbeitete und erweiterte Auflage, 1999