

Simulation neuronaler Aktionspotentiale in Hinblick  
auf Zellform und Physiologie sowie deren Ableitung  
mittels extrazellulärer Mikroelektroden

Dissertation

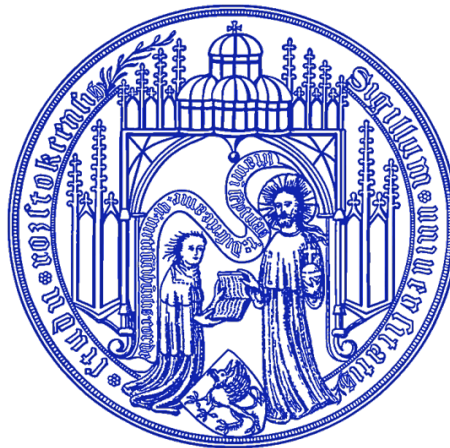
zur

Erlangung des akademischen Grades

Doktor-Ingenieur (Dr.-Ing.)

der Fakultät für Informatik und Elektrotechnik

der Universität Rostock



**vorgelegt von**

Robert Bestel, geboren am 09.03.1984 in Cottbus

Rostock, 25.04.2018

Tag der Einreichung: 25.04.2018

Tag der Verteidigung: 19.11.2018

**Gutachter:**

Prof. Dr. Ursula van Rienen, Universität Rostock

Prof. Dr. Christiane Thielemann, Hochschule Aschaffenburg

Prof. Dr. Gillian Queisser, Temple University

# Vorwort

Die vorliegende Arbeit entstand im Rahmen meiner Tätigkeit als wissenschaftlicher Mitarbeiter im BioMEMS-Labor der Hochschule Aschaffenburg in enger Kooperation mit der Arbeitsgruppe von Professor Dr. Ursula van Rienen an der Fakultät für Informatik und Elektrotechnik der Universität Rostock. Möglich wurde diese Arbeit durch Finanzierungen aus dem Zentrum für Wissenschaftliche Services (ZeWiS) der Hochschule Aschaffenburg und des BMBF-Projektes NeuroInterface. Auszüge dieser Arbeit wurden bereits in der Fachpresse publiziert, weitere Teile der Arbeit befinden sich derzeit im Publikationsprozess.

Zu aller erst möchte ich mich sehr bei Professor Dr. Christiane Thielemann vom BioMEMS-Labor der Hochschule Aschaffenburg bedanken. Obwohl zu Beginn dieser Arbeit meine Kenntnisse im Bereich der Modellierung und Simulation bestenfalls als rudimentär beschrieben werden konnten, gab sie mir das Vertrauen und die Unterstützung, dieses Projekt zu verfolgen. Dank ihrer Betreuung und ihrer Geduld war es mir möglich, mich im Laufe der Jahre sowohl fachlich als auch als Individuum weiter zu entwickeln. Vielen, vielen Dank dafür!

In nicht geringerem Maße gilt mein Dank auch Professor Dr. Ursula van Rienen von der Fakultät für Informatik und Elektrotechnik der Universität Rostock. Aus meiner Sicht ist es alles andere als selbstverständlich, dass man einem unbekanntem Hochschulabsolvent das Vertrauen gibt, ein solches Thema erfolgreich zu bearbeiten. Ihre Betreuung ermöglichte es mir, mich auf dem Gebiet der Theoretischen Elektrotechnik sowie der Modellierung und Simulation einzuarbeiten. Vielen, vielen Dank für Ihre Unterstützung und Ihr Vertrauen!

Sehr bedanken möchte ich mich auch bei Dr. Revathi Appali für ihre Hilfe, vor allem in der Anfangszeit des Projekts und während der Entwicklung der entscheidenden, grundlegenden Modelle.

Besonderer Dank gebührt zudem den Mitgliedern der BioMEMS-AG. Berit Körbitzer und Florian Emmerich halfen mir regelmäßig bei grundlegenden Fragestellungen im Bereich der Elektrotechnik. Dr. Christoph Nick und Manuel Ciba gaben mir Hilfestellung, um die Eigenschaften der elektrischen Kopplung zwischen Neuron und Elektrode sowie die daraus

resultierenden Signale besser zu verstehen. Und für biologische Fragestellungen standen mir stets Dr. Margot Mayer, Dr. Johannes Frieß und Tim Köhler zur Seite.

Abgesehen davon gilt mein Dank generell allen Mitgliedern der BioMEMS-AG. Danke für die gute Stimmung und die moralische Unterstützung, vor allem in Zeiten, wo es mal nicht so rund lief.

Speziell bedanken möchte ich mich zudem noch bei Julia Obmann und Berit Körbitzer, die es auf sich nahmen, das nachfolgende Buchstaben-Konglomerat Korrektur zu lesen und zu verbessern.

Zu guter Letzt sind da noch meine Eltern, die mich immer unterstützt haben und stets für mich da waren. Ohne sie, wäre ich heute nicht der, der ich bin. Vielen, vielen Dank!

# Zusammenfassung

Die extrazelluläre Ableitung der elektrischen Aktivität neuronaler *in vitro* Kulturen ist eines der Standardverfahren zur Erforschung von Nervenzellnetzwerken. Sie ermöglicht eine Vielzahl von Analysen, wie z.B. die Untersuchung von Kommunikationsmustern innerhalb neuronaler Netzwerke sowie deren Änderung aufgrund äußerer Stimuli.

Eine detaillierte Analyse der Messdaten wird jedoch dadurch erschwert, dass bei der Ableitung mit Hilfe extrazellulärer Elektroden eine Vielzahl unterschiedlicher Signalformen auftreten, deren Ursache bisher weitestgehend ungeklärt ist. Zur Erfassung abgeleiteter Zellsignale nutzen Detektionsalgorithmen Parameter, wie z.B. die Signalamplitude, die Flankensteilheit oder das Frequenzspektrum. Da jedoch das Spektrum der Formen potentiell auftretender Zellsignale nicht vollständig bekannt ist und der Ursprung der verschiedenen Signalformen nicht genau nachvollzogen werden kann, sind die entsprechenden Wertebereiche solcher Parameter zu großen Teilen unbekannt. Folglich können die notwendigen Entscheidungskriterien von Detektionsalgorithmen nur vage definiert werden, wodurch eine verlässliche Detektion zum Teil signifikant behindert wird. Dies schränkt die Aussagekraft nachfolgender Analysen ein, da eine vollständige Erfassung der auftretenden Zellaktivität innerhalb der gemessenen Signale nicht gewährleistet werden kann.

Um den Grund für die unterschiedlichen Signalformen sowie die zugrundeliegenden Einflussgrößen zu ermitteln, wird im Rahmen dieser Arbeit eine detaillierte Simulationsstudie durchgeführt. Hierfür wird ein dreidimensionales Neuronenmodell in einer *in vitro* Umgebung entwickelt und die Kopplung zwischen Nervenzelle und einer extrazellulären Messelektrode nachgebildet. Das Modell wird auf Basis der Finiten-Elemente-Methode mit Hilfe der Simulationssoftware COMSOL Multiphysics® 5.4 erstellt und gelöst.

Im Rahmen der Simulationsstudie werden zunächst die Einflüsse der geometrischen und elektrophysiologischen Parameter des Neurons auf die resultierende Potentialverteilung im extrazellulären Raum analysiert. Im Anschluss daran werden die sich ergebenden Signalformen bei der extrazellulären Ableitung der elektrischen Aktivität an verschiedenen Stellen des simulierten Neurons ermittelt und der jeweilige Einfluss verschiedener Parameter der Zell-Elektroden-Kopplung analysiert. Zudem wird die Auswirkung von sich überlagernder Aktivität zweier benachbarter Neuronen untersucht.

Die Ergebnisse zeigen, dass der Verlauf des sich ausbildenden Elektrodensignals signifikant von der Position der Elektrode in Bezug zur Zellgeometrie abhängig ist. Zudem ergibt sich ein deutlicher Einfluss der Zell-Elektroden-Kopplung auf die Amplitude des abgeleiteten Signals. Zusammengefasst bieten die Ergebnisse der Simulationsstudie eine stimmige Erklärung für die hohe Variabilität der Signalverläufe bei extrazellulären Ableitungen der elektrischen Aktivität neuronaler *in vitro* Kulturen.

# Abstract

Measuring the electric activity of neuronal *in vitro* cultures via extracellular electrodes has become a standard method for investigating the behavior of neuronal cells. It is an essential technique, allowing for the analysis of communication patterns inside neuronal networks and for the effects of various stimuli on those patterns.

Yet, data analysis of extracellular recordings still faces the great challenge that a large number of different signal shapes occur in measurements using extracellular electrodes. The origin of the different signal shapes remains mostly unclear, which significantly limits the efficiency of detection algorithms. These algorithms generally use parameters, such as amplitude, edge steepness or frequency spectrum in order to discriminate between neuronal signals and noise artefacts inside electrode recordings. However, as the range of possible signal shapes is yet uncertain, so is the range of such parameters. In consequence, the criteria of detection algorithms cannot be defined properly, which can severely hamper their ability to reliably detect neuronal signals inside measured data. This has a negative impact on the validity of subsequent analysis steps, as these rely on accurate signal detection.

In order to investigate this issue and to determine the relevant factors responsible for the variety of detectable signal shapes, a detailed simulation study is conducted in this work. For this purpose, a computational model of an electrically active neuron in an *in vitro* environment is created. Furthermore, a mathematical description of an extracellular recording electrode is implemented into the model to investigate the impact of various parameters that define the electrical coupling between cell and electrode. In order to create a three-dimensional description of both intra- and extracellular space, the finite element method is utilized for modelling. Simulations are carried out using the software COMSOL Multiphysics® 5.4.

Initial models of the conducted simulation study are focussed on determining the impact of geometrical and electrophysiological properties of the neuron on the resulting potential distribution in the surrounding extracellular space. Based on these findings, the corresponding electrode signals derived at various electrode positions along the neuronal geometry are analysed and discussed. Moreover, the effect of several parameters describing

the neuron-electrode coupling is investigated. Finally, the superposition of electric activity of two adjacent neurons and its effect on the resulting signal shape is analysed.

The main finding of this work is a significant dependence of the derived signal shape on the position of the recording electrode with respect to the neuron. In addition, it is found that the parameters of the cell-electrode coupling primarily affect the amplitude of the electrode signal, but have a comparatively small effect on the shape of the signal.



# Inhaltsverzeichnis

<b>Vorwort</b>	<b>III</b>
<b>Zusammenfassung</b>	<b>V</b>
<b>Abstract</b>	<b>VII</b>
<b>Abkürzungs- und Symbolverzeichnis</b>	<b>XI</b>
<b>1 Einleitung</b>	<b>1</b>
1.1 Übersicht neuronaler Simulationsmodelle . . . . .	4
1.2 Zielsetzung und Aufbau der Arbeit . . . . .	5
<b>2 Elektrophysiologie neuronaler Zellen</b>	<b>7</b>
2.1 Elektrische Signalerzeugung . . . . .	8
2.2 Funktionaler Aufbau . . . . .	10
2.3 Elektrische Signalweiterleitung . . . . .	11
2.4 Geometrische Eigenschaften . . . . .	13
2.5 Extrazelluläre Ableitung neuronaler Zellsignale mittels MEA . . . . .	16
<b>3 Modellierung neuronaler Zellen</b>	<b>21</b>
3.1 Mathematische Beschreibung neuronaler Signalgenerierung . . . . .	22
3.1.1 Das Hodgkin-Huxley-Differentialgleichungssystem . . . . .	23
3.1.2 Charakteristik und Stabilitätseigenschaften . . . . .	27
3.1.3 Anpassung des Hodgkin-Huxley-Modells an die Ionenkanalkinetik von Säugetierneuronen . . . . .	32
3.2 Mathematische Beschreibung neuronaler Signalweiterleitung . . . . .	37
3.2.1 Differentialgleichungssystem der Kabeltheorie . . . . .	38
3.2.2 Elektro-quasistatisches Differentialgleichungssystem . . . . .	42
3.2.3 Gegenüberstellung der Differentialgleichungssysteme . . . . .	45
3.3 Modellierung der extrazellulären Umgebung . . . . .	47
3.3.1 Extrazellulärer Raum . . . . .	47
3.3.2 Extrazelluläre Messelektroden . . . . .	49

---

<b>4</b>	<b>Modellierung und Simulation mit der Finiten-Elemente-Methode</b>	<b>53</b>
4.1	Diskretisierung mittels finiter Elemente . . . . .	53
4.2	Lösung linearer Differentialgleichungen . . . . .	58
4.3	Lösung nichtlinearer Differentialgleichungen . . . . .	59
4.4	Lösung zeitabhängiger Differentialgleichungen . . . . .	61
4.5	Implementierung und Simulation . . . . .	63
<b>5</b>	<b>3D-Simulation neuronaler Zellen</b>	<b>67</b>
5.1	Simulation eines zylindrischen Axons . . . . .	68
5.1.1	Signalweiterleitung und extrazelluläres Potential . . . . .	71
5.1.2	Einfluss inhomogener Ionenkanalverteilung . . . . .	74
5.1.3	Vergleich von EQS- und CE-Ansatz . . . . .	81
5.1.4	Einfluss des Hodgkin-Huxley-Modells für Säugetierneuronen . . . . .	83
5.2	Simulation einer vereinfachten Neuronengeometrie . . . . .	86
5.2.1	Signalweiterleitung und extrazelluläres Potential . . . . .	89
5.2.2	Vergleich von EQS- und CE-Ansatz . . . . .	92
5.2.3	Simulation eines adhärenenten Neurons . . . . .	94
5.2.4	Einfluss des Hodgkin-Huxley-Modells für Säugetierneuronen . . . . .	97
<b>6</b>	<b>Simulation der Neuron-Elektroden Kopplung</b>	<b>101</b>
6.1	Elektrodensignale auf Basis einer vereinfachten Neuronengeometrie . . . . .	101
6.1.1	Einfluss der Elektrodenposition . . . . .	103
6.1.2	Einfluss der Zell-Elektroden-Kopplung . . . . .	107
6.2	Elektrodensignale auf Basis realistischer Neuronengeometrien . . . . .	112
6.3	Überlagerung der Signale benachbarter Neuronen . . . . .	117
<b>7</b>	<b>Zusammenfassung und Ausblick</b>	<b>121</b>
	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>125</b>
	<b>Anhang</b>	<b>134</b>

# Abkürzungs- und Symbolverzeichnis

## Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Bedeutung
AIS	Axon initiales Segment
AP	Aktionspotential
BDF	implizites Zeitschrittverfahren ( <i>Backward-Differentiation-Formula</i> )
CE	Kabelgleichung ( <i>cable equation</i> )
EQS	Elektro-Quasistatik
FEM	Finite-Elemente-Methode
MEA	Mikroelektroden-Array

## Symbolverzeichnis

Symbol	Bedeutung
$A$	Mantelfläche der Zellmembran in $\text{m}^2$
$a$	Radius des Axons bzw. der Neuronengeometrie in $\text{m}$
$\mathbf{B}$	magnetische Flussdichte in $(\text{T})$
$C_{El}$	Kapazität der Messelektrode und der elektrischen Doppelschicht in $\text{F}$
$C_m$	Kapazität der Zellmembran in $\text{F}$
$c_m$	spezifische Kapazität der Zellmembran in $\text{F}/\text{m}^2$
$C_{shunt}$	Verlustkapazität der Leiterbahnen des MEA in $\text{F}$
$\mathbf{D}$	elektrische Flussdichte in $(\text{A s})/\text{m}^2$
$\mathbf{E}$	elektrische Feldstärke in $\text{V}/\text{m}$
$E_{ion}$	Nernst- bzw. Umkehrpotential des Ions in $\text{mV}$
$F$	Faradaykonstante in $\text{A s}/\text{mol}$
$g_{ion}$	spezifische Leitfähigkeit der Zellmembran für ein Ion in $\text{S}/\text{m}^2$
$\mathbf{H}$	magnetische Feldstärke in $\text{A}/\text{m}$
$m, n, h$	einheitenlose Gatingvariablen
$m_\infty, n_\infty, h_\infty$	einheitenlose Gatingvariablen im stationären Zustand

Symbol	Bedeutung
$\mathbf{n}_{i,e}$	Normalenvektor der Zellmembran in den intra-/extrazellulären Raum
$I_m$	Transmembranstrom in A
$I_c$	kapazitiver Stromanteil des Transmembranstroms in A
$I_{ion}$	ionenabhängiger Stromanteil des Transmembranstroms A
$\mathbf{j}$	elektrische Stromdichte in A/m <sup>2</sup>
$j_{i,e}$	elektrische Stromdichte in den intra-/extrazellulären Raum in A/m <sup>2</sup>
$j_{ion}$	Ionenstromdichte an der Zellmembran A/m <sup>2</sup>
$j_c$	kapazitive Stromdichte an der Zellmembran in A/m <sup>2</sup>
$j_{links, rechts}$	Stromdichte im intrazellulären Raum in A/m <sup>2</sup>
$Q_{10}$	einheitenloser empirischer Temperaturkoeffizient
$P_{ion}$	Permeabilität eines Ions in m/s
$R$	universelle Gaskonstante in kgm <sup>2</sup> / s <sup>2</sup> molK
$R_{Amp}$	Eingangswiderstand des Messverstärkers in $\Omega$
$R_m$	Membranwiderstand in $\Omega$
$R_{El}$	Widerstand der Messelektrode und der elektrischen Doppelschicht $\Omega$
$R_{seal}$	Abdichtwiderstand zwischen Zelle und Messelektrode in $\Omega$
$R_{spread}$	elektrischer Widerstand im extrazellulären Raum in $\Omega$
$r_m$	spezifischer Membranwiderstand in $\Omega\text{m}^2$
$r_i$	spezifischer Widerstand des intrazellulären Raums in $\Omega\text{m}^2$
$r_{ion}$	spezifischer Widerstand der Zellmembran für ein Ion in $\Omega\text{m}^2$
$s$	einheitenloser Steigungsfaktor der Sigmoidfunktion
$T$	Temperatur in K
$[X]$	Ionenkonzentration in mol/l
$z_{ion}$	einheitenlose Äquivalentzahl des Ions
$\varphi_{i,e}$	intra-/extrazelluläres Potential in V
$\varepsilon_0$	elektrische Feldkonstante in As / Vm
$\alpha_{m,n,h}, \beta_{m,n,h}$	empirische Verteilungsfunktionen der Gatingvariablen $m, n, h$
$\delta_{Konv}$	einheitenloser Konvergenzparameter
$\varepsilon_r$	einheitenlose, relative Permittivität
$\varepsilon_{i,e}$	Permittivität des intra-/extrazellulären Raums in As / Vm

---

Symbol	Bedeutung
$\mu$	magnetische Permeabilität in Vs / Am
$\rho$	elektrische Ladungsdichte in As / m <sup>3</sup>
$\sigma_{i,e}$	elektrische Leitfähigkeit des intra-/extrazellulären Raums in S/m <sup>2</sup>
$\Phi_{level}$	Lösung des FEM-Modells bei spezifischer Diskretisierungsauflösung
$\Phi_{ref}$	numerische Referenzlösung des FEM-Modells
$\varphi_m$	Transmembranpotential in V
$\varphi_{m^*}$	Transmembranpotential in mV
$\{\varphi_m^*\}$	einheitenloser Wert des Transmembranpotentials
$\theta_c$	einheitenloser Temperaturfaktor der Gatingvariablen $m, n, h$
$\theta_g$	einheitenloser Temperaturfaktor für die Leitfähigkeiten $g_{ion}$

---



# 1 Einleitung

Es bedarf keiner großen gedanklichen Anstrengung, um zu dem Schluss zu gelangen, dass das Gehirn wohl das essenziellste Organ des Menschen ist. Dessen Größe und Leistungsfähigkeit grenzt uns nicht nur von anderen Lebewesen ab, sondern ist auch ein entscheidender Faktor, der die Individualität jedes Einzelnen definiert. Dabei verbirgt sich hinter dem Begriff *Gehirn* ein hoch komplexes Netzwerk aus Milliarden von Nervenzellen, die über elektrische und chemische Signale miteinander kommunizieren.

Die stetig voranschreitende Forschung hat es ermöglicht, das zentrale Organ des Menschen immer besser zu verstehen. So kann das Gehirn beispielsweise in spezielle Bereiche gegliedert werden, z.B. Kortex, Thalamus oder Hippocampus, die für unterschiedliche Funktionen und Aufgaben innerhalb des Körpers verantwortlich sind [Siegel, Sapru, 2010]. Auf der anderen Seite ist es möglich, die elektrische Signalerzeugung und Signalweiterleitung einer Nervenzelle mit Hilfe mathematischer Modelle nachzubilden und dadurch die Kommunikation innerhalb des neuronalen Netzwerks des Gehirns besser nachzuvollziehen (vgl. z.B. [Hodgkin, Huxley, 1952; Rall, 1962]).

Darüber hinaus erlauben es experimentelle Messmethoden, wie z.B. das Elektroenzephalogramm (EEG) oder das *Electrocorticogram* (ECoG), die elektrische Aktivität in einzelnen Bereichen des Gehirns zu erfassen und dadurch einen Einblick in die kognitiven Prozesse zu erhalten (siehe z.B. [Moruzzi, Magoun, 1949; Dement, Kleitman, 1957; Delorme et al., 2002] und [Engel et al., 2005; Sanchez et al., 2008; Truccolo et al., 2011]). In umgekehrter Weise ist es mit Hilfe von tiefer Hirnstimulation (engl. *Deep Brain Stimulation*, *DBS*) möglich, die Prozesse in einer bestimmten Hirnregion über implantierte Stimulationselektroden zu beeinflussen und dadurch die Symptome neurologischer Krankheiten wie Parkinson, Epilepsie oder chronischer Depression zu therapieren [Schachter, Saper, 1998; Loddenkemper et al., 2001; Sackheim et al., 2001; Benabid, 2003; Schlaepfer et al., 2007; Witt et al., 2008].

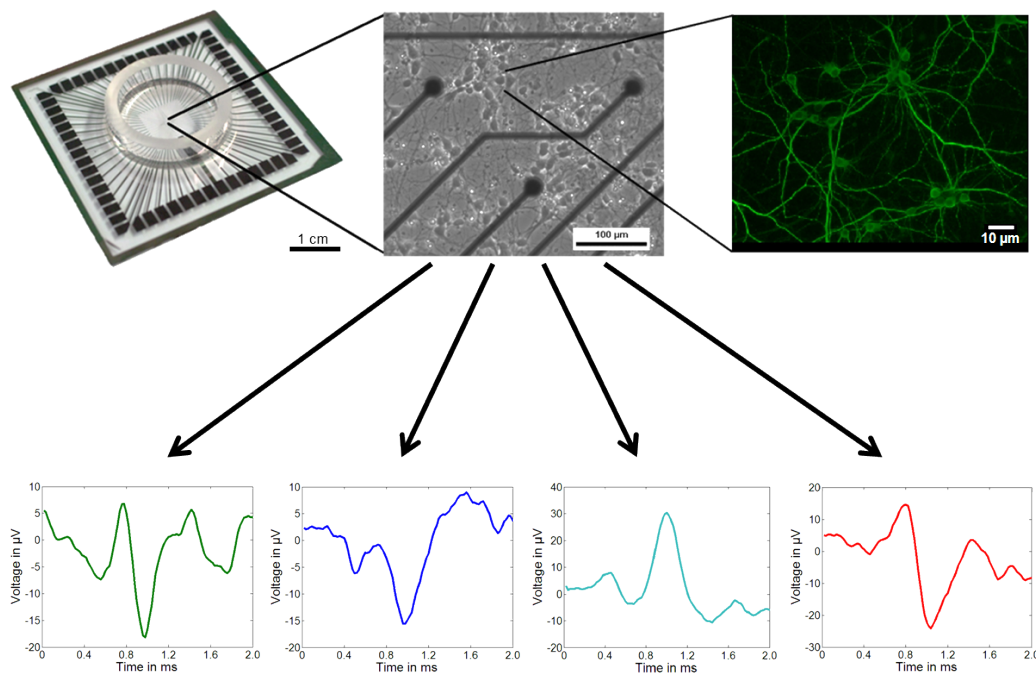
Trotz all dieser Erkenntnisse ist jedoch unser Verständnis des Gehirns weiterhin unvollständig. Vor allem das Zusammenspiel der Prozesse einzelner Nervenzellen bzw. Teile des Netzwerks mit der Funktion der verschiedenen Hirnareale sowie der Kommunikation der Areale untereinander ist bisher nur in begrenztem Maße verstanden. Dies führt u.a. dazu, dass bei der Behandlung neurologischer Krankheiten mit Hilfe von DBS zwar die Krankheitssymptome erfolgreich gehemmt werden können, jedoch gleichzeitig verschiedenste Nebenwirkungen bis hin zu Verhaltensänderungen hervorgerufen werden [Sackheim et al., 2001; Boon et al., 2007; Frank et al., 2007].

Eine der größten Herausforderungen bei der Untersuchung des Gehirns ist die Komplexität des neuronalen Netzwerks, die eine genauere Analyse bzw. Diagnose signifikant erschwert. Unter anderem führt die Dichte des Netzwerks dazu, dass die elektrische Messung der Hirnaktivität nur mit eingeschränkter Präzision erfolgen kann und meist nicht nur die Signale einer spezifischen Nervenzelle, sondern vieler Zellen in der Umgebung einer Messelektrode erfasst werden. Da die verschiedenen Zellsignale im Nachhinein nicht mehr ohne

weiteres voneinander getrennt werden können, beeinträchtigt dies die Auswertung und Interpretation gemessener Daten im Rahmen bestimmter Fragestellungen deutlich.

In diesem Zusammenhang wurde mit *in vitro* Zellkulturen eine experimentelle Alternative innerhalb der Forschung etabliert. Durch die Kultivierung von Nervenzellen auf Mikroelektroden-Array Chips (MEA) können nicht nur die Komplexität des Netzwerks deutlich reduziert, sondern auch Faktoren wie Umgebungstemperatur oder die Zusammensetzung des extrazellulären Mediums der Kultur direkt gesteuert bzw. beeinflusst werden. Die verringerte Komplexität des Netzwerks und die Reduktion der Einflussfaktoren erleichtert die Analyse der elektrischen Zellaktivität, die mit Hilfe von Messelektroden am Boden des MEA abgeleitet werden können, und ermöglicht somit eine gezieltere Untersuchung des Verhaltens des neuronalen Zellnetzwerks.

Doch selbst bei diesen reduzierten Zellkultursystemen treten Effekte auf, die eine Auswertung der erhaltenen Messdaten erschwert. Messsignale verschiedener MEA-Elektroden eines Arrays weisen oft Zellsignale mit unterschiedlicher Form und Ausprägung auf und in manchen Fällen können sogar verschiedene Signalformen an einer einzelnen Elektrode gemessen werden (siehe Abb. 1.1).



**Abbildung 1.1:** Aufbau und Messsignale einer neuronalen *in vitro* Kultur auf einem MEA. a) Über extrazelluläre Elektroden auf dem Boden der zylinderförmigen Kavität des MEA kann die elektrische Aktivität der Nervenzellen abgeleitet werden. Die Neuronen bilden dabei eigenständig ein zweidimensionales Netzwerk aus, das z.B. durch eine Antikörperfärbung der Kultur gegen das Mikrotubuli-assoziierte Protein zwei (MAP2) sichtbar gemacht werden kann, welches im Zellkern sowie in den Dendriten der Zellen lokalisiert ist. b) Obwohl der Prozess der Signalgenerierung innerhalb einer Zelle grundsätzlich gleichförmig stattfindet, können sich die gemessenen Signalformen teilweise deutlich unterscheiden.

In der Folge erschwert dieser Effekt die Identifizierung der abgeleiteten Zellsignale, da nicht eindeutig geklärt werden kann, ob es sich bei einer Signalform um ein abgeleitetes Zellsignal oder beispielsweise um Mess- oder Rauschartefakte handelt.



Für diese Problemstellung wurden verschiedene Algorithmen auf Basis unterschiedlicher Ansätze entwickelt (vgl. [Lieb et al., 2017]). Die Komplexität der Verfahren reicht hierbei von einer einfachen Schwellwertbetrachtung auf Basis der Signalamplitude, über eine komplexere Detektion auf Basis mehrerer, z.B. frequenzabhängiger Parameter, bis hin zu aufwändigen Vergleichsverfahren (engl. *template matching*). Hierbei können jedoch die zur Detektion bzw. zur Erstellung von Vergleichsmustern notwendigen Entscheidungskriterien nur grob abgeschätzt werden, da weder das Spektrum der möglichen Zellsignale innerhalb extrazellulärer Ableitungen noch die Gründe für das Auftreten der verschiedenen Signalformen bekannt sind. Dadurch wird die Präzision dieser Detektionsalgorithmen deutlich beeinträchtigt, wodurch die Aussagekraft darauf aufbauender Analysen eingeschränkt wird.

Das Auftreten von unterschiedlichen Signalformen bei abgeleiteten Zellsignalen ist vor allem deshalb erstaunlich, da die Generierung eines elektrischen Signals bei jedem Neuron innerhalb der Kultur gleichförmig verläuft und folglich ähnliche Signalverläufe im Rahmen der extrazellulären Ableitung zu erwarten wären. Mögliche Ursachen hierfür könnten Unterschiede in der Zellgeometrie oder -elektrophysiologie, aber auch eine unterschiedlich ausgeprägte elektrische Kopplung zwischen Neuron und MEA-Elektrode sein. Ob jedoch diese Faktoren das Phänomen ausreichend erklären können und inwieweit es ein Zusammenspiel zwischen den einzelnen Einflussgrößen gibt, ist bisher noch nicht eindeutig geklärt.

Das Problem bei dieser Fragestellung ist, dass eine experimentelle Erfassung dieser Faktoren nicht ohne weiteres möglich ist. Zwar können grundsätzlich Daten zur Geometrie und Elektrophysiologie eines Neurons sowie zur Zell-Elektroden-Kopplung ermittelt werden, jedoch ist deren Erfassung in Verbindung mit einer elektrischen Ableitung der Zellsignale nur sehr begrenzt realisierbar.

Ein alternativer Ansatz zur Analyse dieses Phänomens, ist die Nachbildung der zugrundeliegenden Prozesse mit Hilfe eines Simulationsmodells. Durch stetige Weiterentwicklung sind computergestützte Simulationen mittlerweile in der Lage, die Signalerzeugung und -ausbreitung eines oder mehrerer Neuronen in komplexen, dreidimensionalen neuronalen Geometrien zu beschreiben und zudem die resultierenden elektrischen Potentiale im extrazellulären Raum zu bestimmen. Der Vorteil dieses Ansatzes ist, dass die geometrischen und elektrophysiologischen Parameter eines Neuronenmodells systematisch variiert und dadurch deren Einfluss auf das abgeleitete Elektrodensignal detailliert untersucht werden kann. Ein Abgleich mit gemessenen Signalverläufen ermöglicht zudem eine Überprüfung der Plausibilität und der Aussagekraft des Modells und kann potentiell zu einer sukzessiven Verfeinerung des Modells genutzt werden.

Perspektivisch ergibt sich daraus die Möglichkeit, abgeleitete Zellsignale mit Hilfe von Modellsimulationen nachzubilden und dadurch Aufschluss über Eigenschaften der gemessenen Neuronen zu erhalten, die ansonsten nur schwer bestimmbar sind. Eine solche Verknüpfung von Messung und Simulation wäre dabei nicht auf *in vitro* Kulturen beschränkt, sondern könnte auch auf Messungen im menschlichen Körper angepasst werden, da eine extrazelluläre Ableitung von neuronalen Signalen *in vivo* auf ähnlichen physikalischen Prinzipien beruht.

## 1.1 Übersicht neuronaler Simulationsmodelle

Die Vorteile einer modellbasierten Untersuchung der elektrischen Prozesse neuronaler Zellen hat zur Entwicklung verschiedener Simulationsmodelle geführt, die zur Klärung spezifischer Fragestellungen herangezogen werden. Die Einführung der Kabeltheorie ermöglichte es, die neuronale Signalausbreitung innerhalb von vereinfachten neuronalen Geometrien nachzubilden (vgl. [Rall, 1962]). Die Weiterentwicklung dieses quasi-eindimensionalen Ansatzes führte zur Entwicklung der Software NEURON [Hines, Carnevale, 1997], die es erlaubt erlaubt komplexe Neuronengeometrien bis hin zu kleineren neuronalen Netzwerken zu simulieren. Die Software berücksichtigt zudem das elektrische Potential des extrazellulären Raums in der Umgebung der modellierten Zellen, so dass z.B. der Einfluss extrazellulärer Stimuli auf die elektrische Aktivität der Neuronen simuliert werden kann (vgl. [McIntyre et al., 2002]). Des Weiteren kann durch die Verwendung der *point source* bzw. *line source approximation* das aus der Aktivität der Zellen entstehende extrazelluläre Potential angenähert werden. Basierend auf diesem Ansatz konnten mit Hilfe von NEURON Modelle entwickelt werden, die z.B. die lokale Potentialverteilung im extrazellulären Raum [Gold et al., 2006], die Ausbildung ausgedehnterer lokaler Feldpotentiale [Einevoll et al., 2013] oder den wechselseitigen Einfluss benachbarter Neuronen über ephaptische Potentiale nachbilden und analysieren [Holt, Koch, 1999].

Darüber hinaus kann die quasi-eindimensionale Modellierung des Neurons direkt mit einer dreidimensionalen Beschreibung des extrazellulären Raums gekoppelt werden, um die Auswirkung von Inhomogenitäten des extrazellulären Bereichs im Umkreis der Zelle detaillierter erfassen zu können [Bauer et al., 2013]. Zudem können ortsabhängige Ionenströme mit diesem gekoppelten 1D/3D-Modell simuliert und z.B. die Verteilung von Kalziumionen nahe eines elektrisch aktiven Neurons nachgebildet und untersucht werden [Grein et al., 2014].

Der Vorteil einer vergleichsweise moderaten Rechenintensität ermöglicht es, räumlich ausgedehnte Geometrien und Netzwerke mehrerer Neuronen mit Hilfe der Kabeltheorie simulieren zu können. Im Gegenzug ist bei diesem Ansatz jedoch die Annäherung an reale Neuronengeometrien eingeschränkt und vor allem für unregelmäßige Formen nur begrenzt anwendbar.

Um die Geometrie eines Neurons genauer nachbilden zu können, hat sich deshalb ein alternativer Modellansatz auf Basis der elektro-quasistatischen Näherung etabliert. Dieser Ansatz ermöglicht Modelle, die sowohl intra- als auch extrazellulären Raum dreidimensional beschreiben und somit auch die Signalausbreitung in unregelmäßigen Neuronengeometrien simulieren können. Dies ermöglicht Modelle, mit denen die entstehende Potentialverteilung im extrazellulären Raum mit einem höheren Detailgrad approximiert werden kann [Agudelo-Toro, Neef, 2013]. Durch die genauere Beschreibung der Neuronengeometrie kann zudem die Auswirkung ephaptischer Potentiale [Xylouris, Wittum, 2015] oder die entstehenden Ionenkonzentrationen im extrazellulären Raum detaillierter berechnet und untersucht werden [Pods et al., 2013].

Eine explizite Simulation der elektrischen Kopplung zwischen Neuron und extrazellulärer Elektrode erfolgte dagegen bisher lediglich mit sehr vereinfachten Modellen. Ein bereits

realisierter Ansatz ist die Modellierung von Zelle und Elektrode sowie der entsprechenden elektrischen Verbindung in Form eines elektrischen Ersatzschaltbilds [Martinoia et al., 2004; Massobrio et al., 2016; Nick et al., 2017]. Dies erlaubt zwar eine Nachbildung der elektrischen Eigenschaften der Elektrode und der sich bildenden elektrischen Doppelschicht an der Schnittstelle von Elektrode und extrazellulärem Raum, jedoch können ortsabhängige Eigenschaften der Kopplung nur sehr begrenzt berücksichtigt werden.

Eine Simulation, die die Ortsabhängigkeit der Neuron-Elektroden Kopplung mitberücksichtigt, kann mit Hilfe des 1D/3D-Modellansatzes auf Basis der Kabeltheorie erfolgen. Zur Bestimmung des resultierenden Elektrodensignals kann hierbei die *method of images* (MOI) verwendet werden [Ness et al., 2015]. Der Vorteil dieser Modellierung ist wiederum eine verhältnismäßig geringe Rechenintensität bei der Lösung des Modells, jedoch reduziert sich die Genauigkeit des MOI-Ansatzes, wenn der Abstand zwischen Zelle und Elektrode geringer ist als  $1\ \mu\text{m}$ .

Auch in vollständig dreidimensionalen Modellen wurde die Implementierung extrazellulärer Elektroden adressiert und dabei sowohl das Verhalten von extrazellulären Stimulationselektroden [Joucla et al., 2014] untersucht als auch erste Simulationen mit extrazellulären Messelektroden durchgeführt [Moulin et al., 2008; Appali et al., 2015]. Diese Modelle litten dabei jedoch unter der vergleichsweise hohen Rechenintensität, die für deren Lösung notwendig ist, weshalb die neuronale Geometrie und Elektrophysiologie nur mit reduziertem Detailgrad modelliert werden konnte.

Die bisherigen Modelle bieten eine Vielzahl erfolgversprechender Ansätze, die für ein detailliertes Modell der extrazellulären Ableitung eines neuronalen Signals in einer *in vitro* Umgebung in Frage kommen. Die stetig steigende Rechenkapazität heutiger Simulationshardware bietet hierbei die Möglichkeit, die bestehenden Simulationsmodelle zu erweitern und spezifische Modellparameter zu verfeinern.

## 1.2 Zielsetzung und Aufbau der Arbeit

Das Ziel dieser Arbeit ist es, ein detailliertes Simulationsmodell eines elektrisch aktiven Neurons in einer *in vitro* Umgebung zu erzeugen und die Ableitung des neuronalen Signals mit einer extrazellulären Messelektrode nachzubilden. Dabei liegt der Fokus auf der Analyse des Einflusses von Neuronengeometrie und -elektrophysiologie sowie der elektrischen Kopplung zwischen Zelle und Elektrode auf den resultierenden Verlauf des Elektrodensignals. Um einen möglichst hohen Detailgrad der Modelle gewährleisten zu können, wird sowohl das Neuron als auch der umgebende extrazelluläre Raum dreidimensional nachgebildet. Die zeit- und ortsabhängigen Lösung der Differentialgleichung für das elektroquasistationäre Problem erfolgt mit Hilfe der Finiten-Elemente-Methode (FEM).

Nach einer kurzen Einführung in die Theorie der elektrischen Signalerzeugung und Signalweiterleitung eines Neurons in Kapitel 2, wird die mathematische Beschreibung dieser Prozesse unter Berücksichtigung der bisher verwendeten Methoden und Modellierungsansätze erläutert. Zudem wird die mathematische Verknüpfung von intra- und extrazellulärem Raum sowie die Implementierung der extrazellulären Messelektrode dargelegt.

Im Anschluss daran wird in Kapitel 4 die Überführung der Differentialgleichung in ein numerisch lösbares FEM-Modell beschrieben.

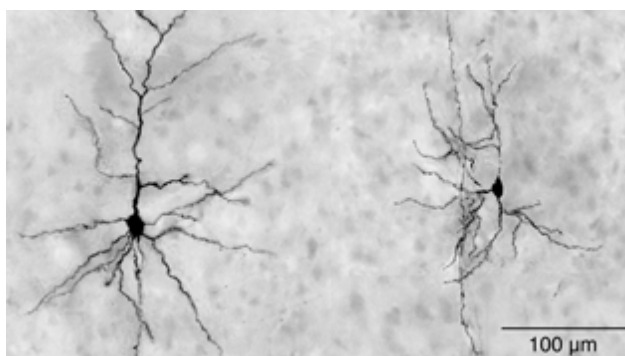
Auf Basis des entwickelten Modells wird in Kapitel 5 zunächst der Einfluss der geometrischen und elektrophysiologischen Eigenschaften auf die resultierende Potentialverteilung im extrazellulären Raum einer *in vitro* Umgebung analysiert. Ausgehend von einer vereinfachten Geometrie eines Axons wird dabei als erstes der Einfluss elektrophysiologischer Parameter der Zelle mit Hilfe parametrischer Studien untersucht. Darauf aufbauend wird der modellierte Detailgrad der Neuronengeometrie sukzessive erhöht, um den Einfluss relevanter Geometrieparameter bestimmen zu können.

Anschließend wird in Kapitel 6 ein extrazellulär abgeleitetes Elektrodensignal simuliert und die Abhängigkeit des resultierenden Signalverlaufs von der Lage der Messelektrode und der elektrischen Kopplung zwischen Neuron und Elektrode analysiert. In diesem Zusammenhang wird die modellierte Form des Neurons weiter an eine realistische Neuronengeometrie angenähert und zudem die Messung der Signale zweier benachbarter Neuronen über eine einzelne Elektrode simuliert.

## 2 Elektrophysiologie neuronaler Zellen

Die Hauptfunktion des Nervensystems ist die Erfassung, Weiterleitung und Verarbeitung von Informationen innerhalb des Körpers. Es besteht aus unterschiedlichen Arten von Nervenzellen, die jeweils für einzelne Teilaufgaben zuständig sind [Bear et al., 2009]. Sensorneuronen dienen der Informationserfassung, indem sie beispielsweise mechanische, optische oder akustische Reize in elektrische Signale umwandeln. Diese werden von Interneuronen in das Gehirn weitergeleitet und dort verarbeitet. Eventuelle Reaktionen auf einen solchen Reiz, z.B. ein Schließen der Augenlider bei hoher Lichtintensität, werden wiederum mit Hilfe von Motorneuronen an die entsprechenden Muskeln übermittelt.

Die Struktur eines Neurons hängt dabei von der jeweiligen Aufgabenstellung ab. Während beispielsweise Sensorneuronen eine geringe Verknüpfung mit anderen Neuronen aufweisen, da sie erfasste Reize lediglich an das Gehirn weiterleiten, bilden die Interneuronen im Gehirn ein komplexes Netzwerk aus (vgl. [Bear et al., 2009]). Dieses Netzwerk ist zudem aus verschiedenen Neuronentypen aufgebaut, die wiederum unterschiedliche Funktionen übernehmen. Zum Beispiel besteht das neurale Netz innerhalb der Hirnrinde, dem Kortex, hauptsächlich aus zwei Neuronentypen [Mitra, 1955]. Während Pyramidalneuronen vertikale Verbindungen zwischen den einzelnen Schichten des Kortex sowie zu tieferliegenden Regionen des Gehirns bilden, erfolgt die Quervernetzung dieser Verbindungen mit Hilfe von sternförmigen Interneuronen, auch Sternzellen genannt (siehe Abb. 2.1).



**Abbildung 2.1:** Mikroskopaufnahmen zweier kortikaler Neuronen aus einem Gewebeschnitt des sensorischen Kortex der Ratte zeigen die strukturellen Unterschiede zwischen verschiedenen Neuronentypen. Während Pyramidalneuronen (links) meist eine längliche Struktur aufweisen, breiten sich die Zellfortsätze von Sternzellen (rechts) meist radial vom Zellkern aus [Feldmeyer et al, 2002].

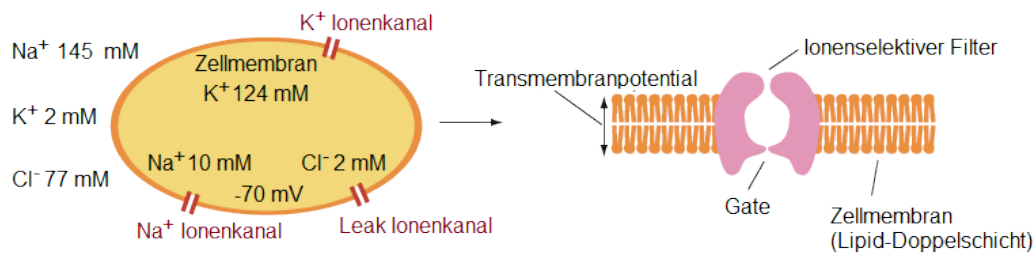
Neben der Zellgeometrie sind auch die elektrophysiologischen Eigenschaften eines Zelltyps von dessen Funktion abhängig. Dieser übergeordnete Begriff umfasst dabei sämtliche Parameter, über die die elektrische Aktivität des Neurons beeinflusst wird (vgl. [Connors et al., 1982; Izhikevich, 2007; Scanziani, Häusser, 2009]). Dies beinhaltet zum einen die Art und Anzahl der Ionenkanäle, die bei der elektrischen Signalerzeugung der Zelle beteiligt sind sowie die entsprechenden elektrischen Ruhe-, Schwell-, und Aktionspotentiale

des Neurons. Zum anderen umfasst der Begriff auch die Verteilung der unterschiedlichen Ionenkanaltypen entlang der Geometrie der Zelle.

Der grundlegende funktionale Aufbau sowie der generelle Prozess der elektrischen Signalerzeugung ist jedoch bei allen Nervenzellen identisch. Im Folgenden wird zunächst der generelle Prozess der Signalgenerierung innerhalb einer Nervenzelle beschrieben. Im Anschluss wird der funktionale Aufbau und darauf aufbauend die elektrische Signalweiterleitung innerhalb eines Neurons erläutert.

## 2.1 Elektrische Signalerzeugung

Bei sämtlichen Zellen sind der intra- und extrazelluläre Raum durch die Zellmembran getrennt. Diese besteht aus einer Lipid-Doppelschicht mit einer Dicke von ca. 10 nm und hat bei Neuronen die Besonderheit, dass verschiedene Ionenkanäle und -pumpen in der Membran integriert sind [Bear et al., 2009]. Sowohl das intra- als auch das extrazelluläre Medium sind Elektrolytflüssigkeiten, die sich jedoch in Zusammensetzung und Ionenkonzentration unterscheiden (siehe Abb. 2.2).



**Abbildung 2.2:** Verteilung verschiedener Ionentypen im intra- und extrazellulären Raum (nach [Doi et al., 2010]).

Während das intrazelluläre Medium vor allem von  $K^+$ -Ionen dominiert ist, sind im extrazellulären Medium vorrangig  $Na^+$ -Ionen enthalten. In geringerer Konzentration sind zudem weitere Ionen, z.B.  $Cl^-$ ,  $Ca^{2+}$  und  $HCO_3^-$ , in beiden Medien enthalten. Die Lipid-Doppelschicht ist für diese Ionen nur geringfügig permeabel, jedoch können Ionen über die verschiedenen Ionenkanäle zwischen beiden Medien ausgetauscht werden. Die einzelnen Kanäle sind lediglich für eine spezifische Ionenart permeabel und im Ruhezustand des Neurons weitgehend geschlossen. Auf Basis des sich ergebenden Konzentrations- und Ladungsgradienten ergibt sich ein elektrochemisches Gleichgewicht zwischen intra- und extrazellulären Raum. Die daraus resultierende elektrische Spannung, die an der Zellmembran abfällt, wird als Transmembranpotential bezeichnet. Sie setzt sich aus den Teilspannungen der einzelnen Ionenarten zusammen, die mit Hilfe der Nernst-Gleichung ermittelt werden können [Sterratt et al., 2011]

$$E_{ion} = \frac{RT}{z_{ion}F} \ln \frac{[X]_{ex}}{[X]_{in}}. \quad (2.1)$$

Das Nernstpotential  $E_{ion}$  einer spezifischen Ionenart berechnet sich auf Basis der Ionenkonzentration im intrazellulären Raum  $[X]_{in}$  sowie im extrazellulären Raum  $[X]_{ex}$ . Zudem wird der Wert sowohl durch die Äquivalentzahl des Ions  $z_{ion}$  als auch die Umgebungstemperatur  $T$  in Kelvin beeinflusst. Die Parameter  $R$  und  $F$  bezeichnen die universelle Gaskonstante und die Faradaykonstante. In Tabelle 2.1 sind die intra- und extrazellulären Konzentrationen sowie die sich ergebenden Nernstpotentiale der relevanten Ionenarten für ein Säugetierneuron bei einer Temperatur von  $37^\circ\text{C}$  bzw.  $310\text{K}$  zusammengefasst.

Das resultierende Transmembranpotential  $\varphi_m$  eines Neurons im Ruhezustand kann mit der Goldman-Gleichung ermittelt werden [Siegel, Sapru, 2010]

$$\varphi_m = \frac{RT}{F} \ln \frac{P_{Na}[Na^+]_{ex} + P_K[K^+]_{ex} + P_{Cl}[Cl^-]_{in}}{P_{Na}[Na^+]_{in} + P_K[K^+]_{in} + P_{Cl}[Cl^-]_{ex}}. \quad (2.2)$$

Innerhalb der Goldman-Gleichung werden lediglich Ionen mit einer Äquivalentzahl  $z_{ion}$  von eins berücksichtigt. Der Parameter  $P_{ion}$  mit der Einheit  $\text{m/s}$  beschreibt die Permeabilität der entsprechenden Ionenart durch die Membran des Neurons. Die negative Ladung der  $\text{Cl}^-$  Ionen wird dadurch kompensiert, dass der Wert der intrazellulären Ionenkonzentration im Zähler und der Wert der extrazellulären Ionenkonzentration im Nenner des Bruchs von Gleichung (2.2) berücksichtigt werden. Im Ruhezustand ergibt sich für ein Säugetierneuron bei einer Temperatur von  $37^\circ\text{C}$  ein Transmembranpotential  $\varphi_m \sim -70\text{mV}$ . Wird Gleichung (2.2) auf lediglich eine Ionenart reduziert, ergibt sich aus der Goldman-Gleichung die ihr zugrunde liegende Nernst-Gleichung (2.1).

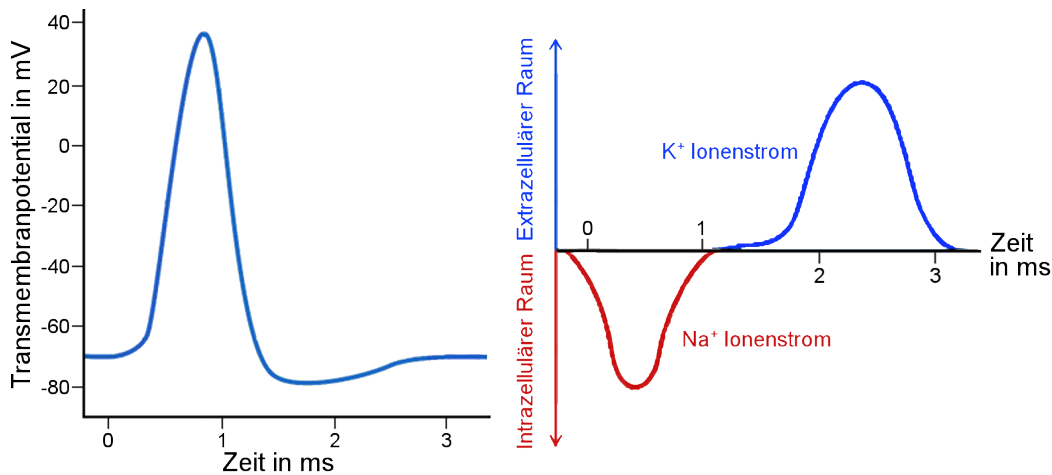
**Tabelle 2.1:** Ionenkonzentrationen und Nernstpotentiale eines Säugetierneurons [Siegel, Sapru 2010]

	Intrazelluläre Konzentration in mmol/l	Extrazelluläre Konzentration in mmol/l	Nernstpotential in mV
$\text{Na}^+$	15	150	62
$\text{K}^+$	100	5	-80
$\text{Cl}^-$	13	150	-65
$\text{Ca}^{2+}$	$2 \times 10^{-4}$	2	123

Ein Neuron im Ruhezustand kann durch verschiedene Reize zur Generierung eines elektrischen Signals angeregt werden, das als Aktionspotential bezeichnet wird. Während die Ionenkanäle an der Membran des Neurons im Ruhezustand vorrangig geschlossen sind, können interne oder externe Stimuli zur Öffnung der Kanäle führen. Die meisten Neuronen verfügen über unterschiedlich gesteuerte Ionenkanäle, die beispielsweise für elektrische oder mechanische Reize sensitiv sind oder über chemische Neurotransmitter moduliert werden können [Longstaff, 2005].

Spannungsabhängige Ionenkanäle, die sich bei einer Änderung des Transmembranpotentials öffnen bzw. schließen, sind dabei von entscheidender Bedeutung bei der Aktionspotentialgenerierung. Wird das Transmembranpotential durch einen ausreichend starken Stimulus von  $-70\text{mV}$  auf  $-50\text{mV}$  angehoben, öffnen sich spannungsabhängige  $\text{Na}^+$ -Ionenkanäle in der Zellmembran. Dies führt zu einer Änderung der Permeabilität der

Membran für  $\text{Na}^+$ -Ionen, wodurch sich auf Basis von Gleichung (2.2) ein neuer Gleichgewichtszustand ergibt. Dieser liegt bei geöffneten  $\text{Na}^+$ -Ionenkanälen nahe dem Nernstpotential  $E_{\text{Na}}$  bei ca. 55 mV [Bear et al., 2009]. Durch die geöffneten Kanäle strömen Natriumionen aus dem extrazellulären Raum in das Innere der Zelle und führen zu deren Depolarisation (siehe Abb. 2.3).



**Abbildung 2.3:** Verlauf eines neuronalen Aktionspotentials sowie der Verlauf der  $\text{Na}^+$ - und  $\text{K}^+$ -Ionenströme während der Generierung (nach [Siegel, Sapru, 2010]).

Kurz vor Erreichen des neuen Gleichgewichtspotentials beginnen sich die  $\text{Na}^+$ -Ionenkanäle wieder zu schließen. Zudem führt der Anstieg des Transmembranpotentials zur Öffnung spannungsabhängiger  $\text{K}^+$ -Ionenkanäle, die jedoch träger reagieren als die  $\text{Na}^+$ -Ionenkanäle zuvor. Daraufhin versiegt der Strom von Natriumionen in das Innere der Zelle, während zeitgleich Kaliumionen aus dem Zellinneren in den extrazellulären Raum strömen. Dadurch sinkt das Transmembranpotential und strebt nun in Richtung des Nernstpotentials  $E_K$  von ca.  $-77$  mV, wodurch die Zelle wieder repolarisiert wird. Kurz vor Erreichen des Nernstpotentials  $E_K$  schließen sich auch die  $\text{K}^+$ -Ionenkanäle und das Transmembranpotential erreicht wieder den ursprünglichen Wert des Ruhezustands.

Der Generierungsprozess des Aktionspotentials dauert bei Säugetier-Neuronen ca. 1-2 ms und wird von einer anschließenden Refraktärphase begleitet [Siegel, Sapru, 2010]. In der absoluten Refraktärphase, die ca. 1 ms lang ist, kann das Neuron nicht zur Erzeugung eines weiteren Aktionspotentials angeregt werden. In der darauffolgenden relativen Refraktärphase kann dies lediglich durch verstärkte Stimuli erfolgen, wobei die notwendige Intensität des Stimulus kontinuierlich mit der Zeit sinkt. In allen Phasen sind zudem Ionenpumpen aktiv, die in die Zelle geströmte Natriumionen mit Kaliumionen aus dem extrazellulären Raum austauschen. Dadurch werden nach Abschluss der Refraktärphase die Ionenkonzentrationen des Ruhezustands erreicht.

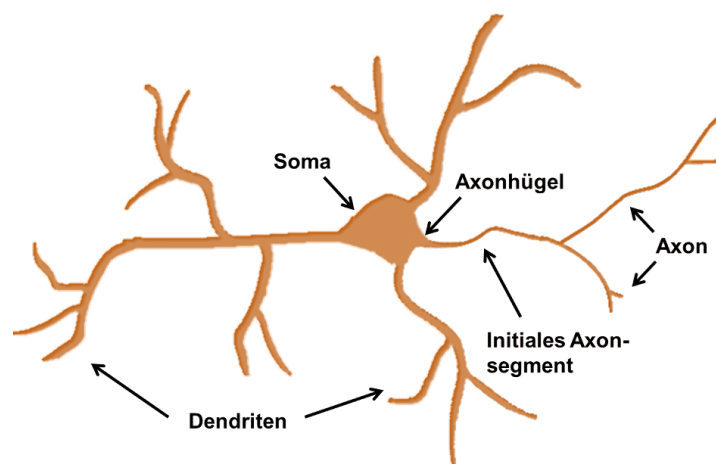
## 2.2 Funktionaler Aufbau

Die Generierung eines Aktionspotentials findet nicht innerhalb des gesamten Neurons zeitgleich statt. Es entsteht meist in einem definierten Bereich in der Nähe des Zellkörpers



und breitet sich anschließend in benachbarte Regionen des Neurons aus. Um die Ausbreitung bzw. Weiterleitung eines Aktionspotentials verstehen zu können, ist eine genauere Betrachtung der Zellgeometrie bzw. des strukturellen Aufbaus eines Neurons notwendig. Dieses kann in mehrere Teilbereiche gegliedert werden, die jeweils eine spezifische Aufgabe bei der Generierung und Weiterleitung eines Aktionspotentials haben.

Wie bei allen Zellen ist der zentrale Bestandteil eines Neurons der Zellkörper, auch Soma genannt. Das Soma ist das Zentrum der Zelle und beinhaltet Zellkern sowie Zellorganellen (siehe Abb. 2.4).



**Abbildung 2.4:** Prinzipieller Aufbau eines Neurons. Dendriten sind die Informationseingänge der Nervenzelle und leiten ankommende Signale benachbarter Neuronen zum Soma. Dadurch resultierende Ausgangssignale werden am Axonhügel bzw. innerhalb des initialen Axonsegments erzeugt. Über das Axon und dessen Verzweigungen, die wiederum mit Dendriten anderer Neuronen verbunden sind, wird das Ausgangssignal an nachfolgende Nervenzellen weitergeleitet.

Ist die Summe groß genug, um das Transmembranpotential über die Anregungsschwelle von ca.  $-50$  mV anzuheben, erfolgt die eigentliche Generierung des Aktionspotentials am benachbarten initialen Axonsegment, an dessen Membran die Dichte von Ionenkanälen am höchsten ist [Palay et al., 1968; Stuart et al., 1997; Lai and Jan, 2006]. Das Aktionspotential breitet sich im Anschluss entlang den Verzweigungen des Axons aus. Über Synapsen ist es wiederum mit Dendriten benachbarter Neuronen verbunden, so dass eine Übertragung des Aktionspotentials in nachfolgende Bereiche des Neuronennetzwerks erfolgen kann [Bear et al., 2009].

## 2.3 Elektrische Signalweiterleitung

Da das intrazelluläre Medium eine elektrisch leitfähige Flüssigkeit ist, breitet sich ein generiertes Aktionspotential passiv in benachbarte Bereiche des Zellinneren aus. Auch das die Zelle umgebende extrazelluläre Medium ist eine elektrisch leitende Flüssigkeit, welche lediglich durch die 10 nm dicke Lipid-Doppelschicht der Zellmembran vom intrazellulären Raum elektrisch getrennt ist. Da die Ionenkanäle der Zellmembran auch im nichtaktiven Zustand nicht völlig undurchlässig sind, ergibt sich keine ideale elektrische Isolation zwischen intra- und extrazellulärem Raum. Dies führt zu sowohl kapazitiven

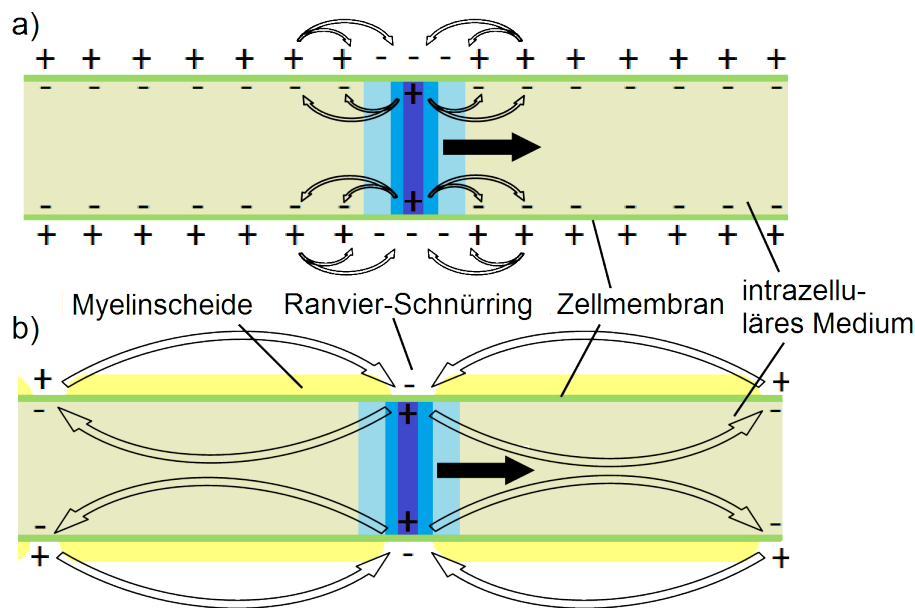
als auch resisitiven Leckströmen, die eine signifikante Verringerung der Amplitude des sich innerhalb des Neurons passiv ausbreitenden Aktionspotentials (AP) zur Folge haben. Um eine verlustfreie Propagation des AP gewährleisten zu können, muss es daher stetig erneuert werden (siehe Abb. 2.5a). Bei dieser Form der AP-Weiterleitung, die als kontinuierliche Erregungsleitung bezeichnet wird, werden nachfolgende Bereiche des Neurons durch die passive Ausbreitung des generierten AP depolarisiert [Bear et al., 2009]. Sobald das Transmembranpotential die Anregungsschwelle erreicht hat, wird das AP in diesem Bereich neu generiert, indem spannungsabhängige Ionenkanäle aktiviert werden. Das dadurch aufgefrischte AP breitet sich wiederum passiv aus und sorgt somit erneut für die Depolarisierung nachfolgender Bereiche. Durch diese sequentielle Fortpflanzung des AP erfolgt dessen Weiterleitung auch über längere Distanzen Verringerung der Amplitude des AP.

Die kontinuierliche Erregungsleitung findet in Dendriten, Soma, Axonhügel und initialem Axonsegment (engl. axon initial segment, AIS), sowie bei kurzen Axonsegmenten statt [Bear et al., 2009]. Der Prozess führt dazu, dass die Amplitude des AP auch nach einer Verzweigung konstant bleibt, da die Zweige das AP unabhängig voneinander neu generieren. Grundsätzlich ist die kontinuierliche Erregungsleitung ungerichtet, wodurch ein Aktionspotential vom AIS auch über das Soma in Richtung Dendriten propagieren kann. Dieses Phänomen wird als *backpropagation* bezeichnet [Rapp et al., 1996; Bernard, Johnston, 2003; Buskila et al., 2013]. Allerdings kann dieser Effekt nur dann auftreten, wenn die entsprechenden Bereiche sich nicht in der Refraktärphase befinden, d.h. in den vorangegangenen Millisekunden nicht bereits an der AP-Weiterleitung teilgenommen haben.

Die Ausbreitungsgeschwindigkeit der kontinuierlichen Erregungsleitung variiert zwischen 0.1 m/s und 10 m/s und ist u.a. vom Durchmesser des intrazellulären Raums abhängig [Bear et al., 2009]. Je größer der Durchmesser ist, desto höher ist der elektrische Leitwert in Ausbreitungsrichtung und desto schneller erfolgt die Depolarisierung nachfolgender Bereiche des Neurons. Dies bedeutet allerdings, dass Ausbreitungsgeschwindigkeiten über 10 m/s nur mit Hilfe von vergleichsweise großen Neuriten erreicht werden können. Da dies jedoch die Dichte des neuronalen Netzwerks beschränken und dadurch dessen Leistungsfähigkeit beeinträchtigen würde, hat sich bei Säugetieren eine alternative Form, die saltatorische Erregungsleitung, entwickelt (siehe Abb. 2.5b).

Hierbei wird die Zellmembran durch Oligodendrozyten, eine Form der Gliazellen, umhüllt [Bear et al., 2009]. Es bildet sich eine elektrisch isolierende Schicht, die Myelinschicht oder Myelinscheide genannt wird. Durch die zusätzliche Isolation verringert sich die elektrische Kapazität an der Zellmembran, während der elektrische Widerstand signifikant ansteigt. Es ergeben sich deutlich geringere Leckströme als bei der passiven Ausbreitung eines Aktionspotentials, so dass die Amplitude des AP über eine längere Ausbreitungsstrecke aufrecht erhalten werden kann.

Allerdings ist auch die saltatorische Erregungsleitung nicht vollständig verlustfrei, weshalb das AP auch bei dieser Form der Erregungsleitung ab einer gewissen Strecke erneuert werden muss. Aus diesem Grund ist die Myelinschicht in Abständen von 100  $\mu\text{m}$  bis zu 1 mm durch sogenannte Ranviersche Schnürringe unterbrochen.



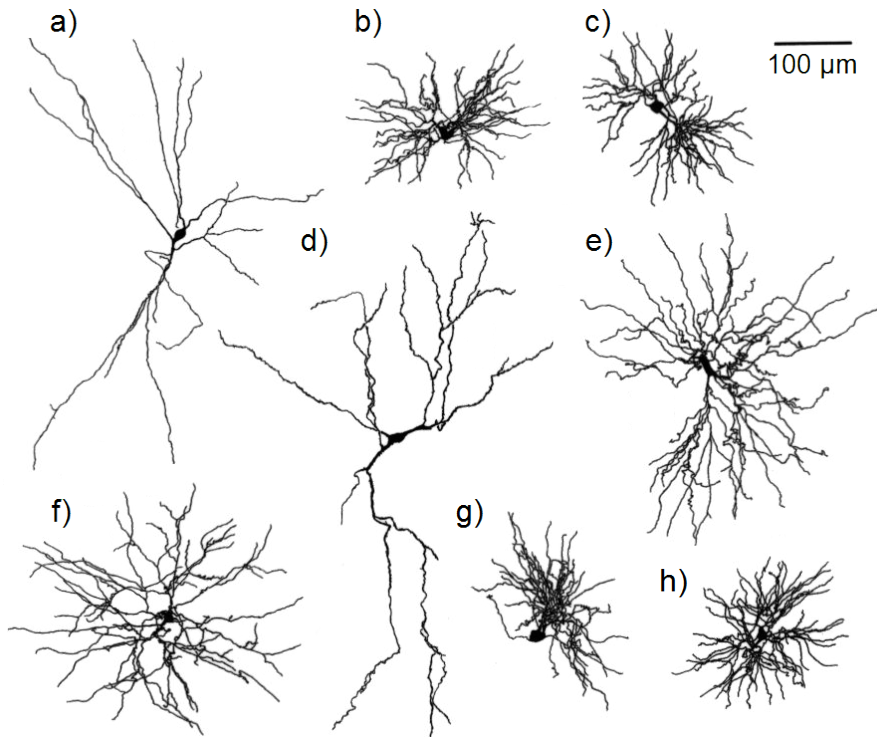
**Abbildung 2.5:** Verschiedene Arten der axonalen Erregungsleitung. a) Bei der kontinuierlichen Erregungsleitung wird das Aktionspotential ständig neu erzeugt, um eine Weiterleitung entlang des Axons zu ermöglichen. b) Bei der saltatorischen Erregungsleitung sind weite Bereiche des Axons durch Myelinscheiden vom extrazellulären Medium elektrisch isoliert, wodurch das Signal an diesen Stellen mit hoher Geschwindigkeit rein passiv weitergeleitet werden kann (nach [Netter, 1987]).

An diesen Stellen verfügt die Zellmembran über eine sehr hohe Dichte von spannungsabhängigen Ionenkanälen, die analog zur kontinuierlichen Erregungsleitung das propagierende AP neu generieren, sobald die dafür notwendige Anregungsschwelle überschritten wird. Mit der saltatorischen Erregungsleitung können Ausbreitungsgeschwindigkeiten von bis zu 100 m/s erreicht werden, ohne dafür den Durchmesser des intrazellulären Raums erhöhen zu müssen [Debanne et al., 2011]. Im menschlichen Körper tritt diese Form der AP-Weiterleitung vor allem bei längeren Axonen bzw. Nervenfasern auf, i.d.R. ab einer Länge von ca. 100  $\mu\text{m}$ .

## 2.4 Geometrische Eigenschaften

Das Gehirn besteht aus einer Vielzahl verschiedener Neuronentypen, die sich in ihren geometrischen und elektrophysiologischen Eigenschaften unterscheiden können. Zwar ist der in Abschnitt 2.2 beschriebene funktionale Aufbau für sämtliche Nervenzellen gültig, die Anzahl und der Vernetzungsgrad der Neurite sowie deren Länge und Durchmesser kann jedoch deutlich variieren (siehe Abb. 2.6).

Der große Unterschied zwischen den einzelnen Zelltypen macht es notwendig, einen spezifischen Neuronentyp auszuwählen, damit dessen Eigenschaften innerhalb des hier verwendeten FEM-Modells akkurat nachgebildet werden können. Hierbei ist zudem zu beachten, dass die Häufigkeit eines Zelltyps abhängig von der jeweiligen Hirnregion ist und viele Zelltypen lediglich in spezifischen Abschnitten auftreten [Dowling, 2001].



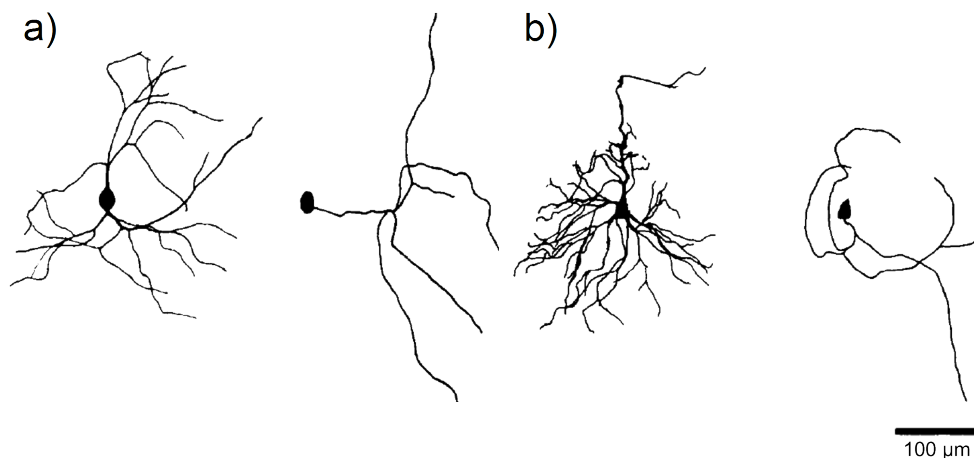
**Abbildung 2.6:** Camera Lucida Abbildungen neuronaler Zellen in einem Hirnschnitt des Thalamus der Ratte. Die Neuronen des lokalen Zellgewebes weisen deutlich variierende geometrische Eigenschaften auf. Angefangen von ausgedehnten, multipolaren Neuronen (a und d), erstreckt sich die Bandbreite über pinselförmig (engl. tufted) vernetzte Zellen (b, c, g und h) bis hin zu radial verzweigten Sternzellen (e und f) (nach [Smith et al., 2006]).

Im Rahmen dieser Arbeit wurde deshalb die Hirnregion der Hirnrinde bzw. des Kortex ausgewählt. Dies hat den Vorteil, dass geometrische und morphologische Daten der Zellen in dieser Region in ausreichendem Maße in der Fachliteratur vorhanden sind, da der Kortex eine der am häufigsten thematisierten Hirnregion ist (siehe [Ascoli, 2006]). Des Weiteren ist die *in vitro* Kultivierung kortikaler Neuronen der Ratte innerhalb des BioMEMS-Labors der Hochschule Aschaffenburg etabliert, wodurch Vergleichsdaten zu Geometrie und elektrischer Aktivität zur Verfügung stehen.

Nach Auswahl der Hirnregion muss der neuronale Zelltyp spezifiziert werden, um eine möglichst akkurate Annäherung der Modellmorphologie an die reellen Charakteristika zu ermöglichen. Auch das Netzwerk innerhalb des Kortex besteht aus verschiedenen Neuronentypen, jedoch stellen Pyramidalneuronen mit ca. 80 % den weitaus größten Anteil der im Kortex enthaltenen Zellen dar (vgl. [Koene et al, 2009]). Da die im BioMEMS-Labor verwendete Zellkultur (Lonza Group AG, Basel, Schweiz) keine Monokultur eines spezifischen Zelltyps, sondern eine kortikale Mischkultur ist, kann das Verhältnis auch auf diese Kulturen übertragen werden. Folglich sind Pyramidalneuronen am besten geeignet, um Vergleichsdaten zu ermitteln, und somit die bestmögliche Modellgrundlage.

Die exakte Bestimmung der geometrischen Eigenschaften eines Pyramidalneurons ist jedoch nur in begrenztem Rahmen möglich, da jede einzelne Zelle eine unterschiedliche

Vernetzung aufweisen und dementsprechend sowohl Form als auch Größe eines Neurons stark variieren kann (siehe Abb. 2.7).



**Abbildung 2.7:** Vergleich der Form zweier Pyramidalneuronen in a) und b). Die Struktur des Dendritenbaums der Zelle ist jeweils im linken Bild, der Verlauf des Axons der Zelle im jeweils rechten Bild dargestellt [Kriegstein, Dichter, 1983].

Nichtsdestotrotz können für diesen Neuronentyp ein paar allgemeine Charakteristika bestimmt werden. Grundsätzlich verfügt jedes Pyramidalneuron über drei voneinander getrennte Dendritenstrukturen, die der Zelle die pyramidenähnliche Form geben.

Des Weiteren können zumindest Wertebereiche für die Größe der Soma sowie die Durchmesser von Dendriten und Axon bestimmt werden (siehe Tabelle 2.2).

**Tabelle 2.2:** Typische geometrische Größen eines Pyramidalneurons

	[Larkman, Mason, 1990]	[Trevelyan, Jack, 2002]	[Peters et al, 1969]	[Ropireddy et al, 2011]
Länge Soma	18,4-24,5 µm	13,2-18,5 µm	-	-
Breite Soma	14,7-18,1 µm	11,0-12,4 µm	-	-
Durchmesser Axon	-	< 0,5 µm	0,6-1,2 µm	0,1-1 µm
Durchmesser Dendrit	0,6-2,1 µm	-	-	0,3-3 µm

Die Länge und Breite des Soma liegt im Bereich von ca. 13-24 µm bzw. 11-18 µm. Die Werte für den Axondurchmesser betragen 0, 1-1, 2 µm, während der Durchmesser der Dendriten einen Wertebereich von 0, 3-3 µm aufweist. Somit scheint die Varianz der Maße vor allem auf die Variabilität der Neuronengeometrie zurückzuführen zu sein.

Zudem zeigt sich, dass der Durchmesser des Axons grundsätzlich kleiner ist als der Durchmesser von Dendriten. Des Weiteren ist die Varianz der Werte für Dendriten merklich höher als für die Axondurchmesser. Die charakteristische Länge und Breite des Soma lassen hingegen auf kugelförmige bzw. ellipsoide Strukturen schließen.

Abschließend gilt es, die Form der AP-Weiterleitung innerhalb des Axons zu diskutieren, um eine stimmige AP-Ausbreitung innerhalb des Simulationsmodells nachbilden zu können. Da das Prinzip von kontinuierlicher und saltatorischer Erregungsleitung völlig

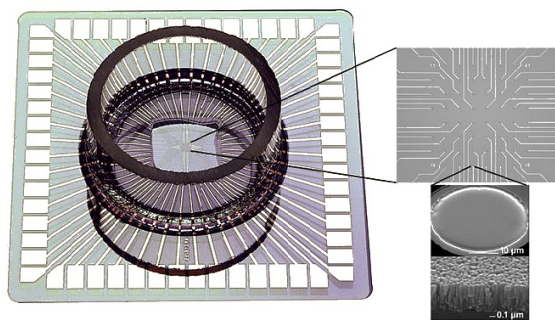
verschieden ist (vgl. Kapitel 2.3), ergeben sich folglich auch unterschiedliche Ionenströme bzw. Potentialverteilungen im Bereich des Axons.

Werden wiederum neuronale *in vitro* Zellkulturen innerhalb des BioMEMS-Labors als Referenz herangezogen, kann von nicht myelinisierten Axonen ausgegangen werden. Grundlage für eine Myelinisierung ist das Auftreten von Oligodendrozyten, eine Form der Gliazellen, innerhalb der Neuronenkultur. Gliazellen sind ein Teil des Nervenzellgewebes, die zwar nicht an der eigentlichen Signalverarbeitung und Weiterleitung beteiligt sind, jedoch unterstützende Funktionen übernehmen, wie z.B. die Versorgung der Neuronen sowie das Bilden einer Stützstruktur. In diesem Zusammenhang werden die Myelinschichten entlang des Axons durch Oligodendrozyten aufgebaut, die dieses in mehreren Lagen umhüllen [Bunge et al., 1961; Bear et al., 2009]. Nach Auskunft des Herstellers (Lonza Group AG, Basel, Schweiz) ist innerhalb der verwendeten Zellkultur nur eine geringe Anzahl von Oligodendrozyten vorhanden, deren Vermehrung durch Zugabe chemischer Faktoren inhibiert wird. Eine Überprüfung mit Hilfe einer entsprechenden Fluoreszenzfärbung bestätigte dies (vgl. [Mayer, 2017]). Somit wird im Rahmen des FEM-Modells von einer kontinuierlichen Erregungsleitung innerhalb des Axons ausgegangen.

## 2.5 Extrazelluläre Ableitung neuronaler Zellsignale mittels Mikroelektroden Arrays

Um die elektrische Aktivität eines Neurons erfassen zu können, haben sich im Laufe der letzten Jahrzehnte verschiedene Messmethoden etabliert. Einer der ersten Versuche die elektrischen Ströme und das daraus resultierende Aktionspotential von Nervenzellen zu quantifizieren wurden von [Hodgkin, Huxley, 1952] mit Hilfe der Voltage-Clamp-Technik durchgeführt. Diese Methode basiert auf pipettenförmigen Elektroden, die an die Membran bzw. in das Innere der Zelle eingebracht werden und dadurch die Messung der Transmembranströme bzw. des Transmembranpotentials ermöglichen. Darauf aufbauend wurde die Patch-Clamp-Technik entwickelt, bei der mittels Sogwirkung ein starker mechanischer Kontakt zwischen Zellmembran und Elektrode aufgebaut wird, wodurch auch kleine Transmembranströme im  $\mu\text{A}$ -Bereich messbar sind. Der Messaufbau dieser beiden Methoden erlaubt jedoch im Regelfall lediglich die Messung der elektrischen Aktivität einer einzelnen Zelle und führt zudem bei den meisten Messungen zum anschließenden Zelltod.

Um die elektrischen Signale mehrerer Zellen eines neuronalen Netzwerks parallel und über einen längeren Zeitraum messen zu können, wurden Mikroelektroden Array-Chips (MEA) entwickelt (siehe Abb 2.8). Hierbei handelt es sich meist um einen rechteckigen Glaschip mit einer Kavität zur Zellkultivierung. Nach der Aussaat adherieren die Zellen auf dem Boden der Kavität, auf dessen Oberfläche ein Feld aus Mikroelektroden angeordnet ist. Jede der Elektroden ist über eine Leiterbahn mit Kontaktpads am Rand des Chips verbunden, über die die abgeleiteten Zellsignale an weiterverarbeitende Systeme übertragen werden.



**Abbildung 2.8:** Beispiel eines Mikroelektroden Arrays (nach [Multichannel Systems, 2017a]).

Die Kavität selbst wird während der Kultivierung mit einem Nährmedium gefüllt, das die Zellkultur mit notwendigen Nährstoffen versorgt und die elektrischen Eigenschaften des Elektrolyten im extrazellulären Raum des lebenden Organismus nachbildet. Im Rahmen der Messung der elektrischen Zellaktivität ist das Medium innerhalb der Kavität mit Hilfe einer vergrößerten Referenzelektrode auf Massepotential gelegt.

Befindet sich eine Zelle auf oder in unmittelbarer Umgebung einer Messelektrode, führen Veränderungen des Transmembranpotentials zu einem messbaren Spannungssignal. Der Abstand zwischen den Elektroden eines konventionellen MEA liegt typischerweise im Bereich von einhundert bis zu mehreren hundert Mikrometern. Der Durchmesser einer Elektrode variiert je nach Chip-Typ und -Hersteller zwischen  $10\ \mu\text{m}$  und  $50\ \mu\text{m}^1$ . Die Dichte des Elektrodenfelds ist bei solchen MEA zum einen dadurch limitiert, dass die Amplitude der aufgenommenen Signale bzw. das Signal-Rausch-Verhältnis mit kleineren Elektroden-Durchmesser abnimmt. Zum anderen ist auch der Abstand zwischen den Elektroden nur begrenzt reduzierbar, da jede Elektrode über Leiterbahnen zu den Kontaktpads geführt werden muss (vgl. Abbildung 2.8). Zudem kann die Größe der Leiterbahnen nicht beliebig verringert werden, da dadurch die Leitungswiderstände erhöht und folglich die Signalamplituden verringert werden.

Um diese Einschränkungen zu umgehen haben sich in den letzten Jahren HD-MEA entwickelt, die im Gegensatz zu gewöhnlichen MEA-Chips eine höhere Elektrodenanzahl bzw. Elektroden-dichte erreichen. Dies kann durch die Verwendung von aktiven, CMOS-Transistor-basierten MEA-Chip Architekturen erreicht werden. Zwar basieren diese MEA-Chips ebenfalls auf Metallelektroden, jedoch wird deren Signal direkt auf dem Chip mit Hilfe mehrerer Transistoren verstärkt, bevor es an die weiterverarbeitenden Systeme weitergeleitet wird<sup>2</sup>. Zudem können die Signale mehrerer Elektroden durch Multiplexing über eine einzelne Leiterbahn übertragen werden (vgl. [3Brain, 2017]).

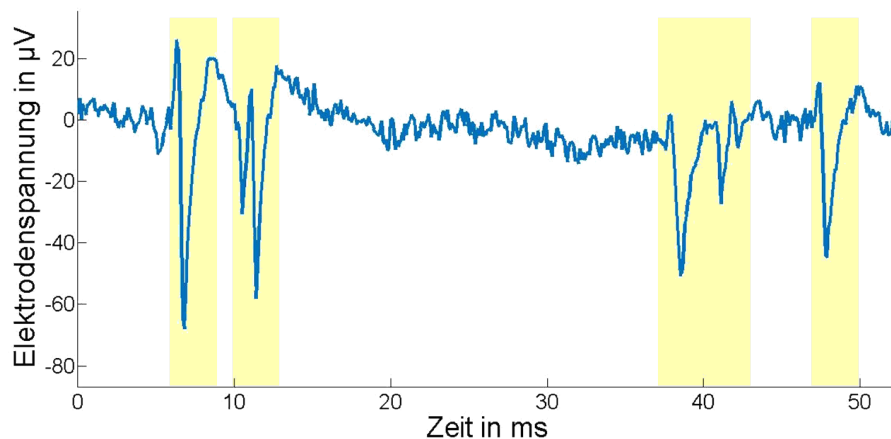
Als Referenz für die Modellierung der Messelektroden innerhalb der FEM-Simulationen wurde der in Abbildung 2.8 gezeigte MEA-Chip 60MEA200/30iR-Ti von Multichannel Systems verwendet, da dieser einer der Standardsysteme für die Ableitung der Zellsignale von *in vitro* Kulturen ist und dessen elektrische Eigenschaften innerhalb des Bio-MEMS-Labors eingehend charakterisiert wurden (vgl. [Nick, 2015]).

<sup>1</sup>siehe z.B. Multichannel Systems MCS GmbH, Reutlingen, Germany; Axion BioSystems Inc., Atlanta, GA, USA; AutoMate Scientific Inc., Berkeley, CA, USA

<sup>2</sup>siehe z.B. 3Brain AG, Wädenswil, Schweiz; MaxWell Biosystems AG, Basel, Schweiz

Der quadratische Chip hat eine Kantenlänge von 49 mm und eine zylindrische Kavität mit einem Durchmesser von 19 mm und einer Höhe von 6 mm. Das Substrat des Chips besteht aus Quarzglas und das Elektrodenarray aus 60 planaren Messelektroden aus Titanitrit, die über Titan-Leiterbahnen mit den Kontaktpads des Chips verbunden sind. Das Array ist in einer  $8 \times 8$  Matrix mit einem Gitterabstand von  $200 \mu\text{m}$  angeordnet. Jede Elektrode hat einen Durchmesser von  $30 \mu\text{m}$  und eine elektrische Impedanz unterhalb von  $100 \text{k}\Omega$  [Multichannel Systems, 2017b].

Über die Kontaktpads ist der MEA-Chip mit einer Vorverstärkereinheit verbunden, welche die analogen Signale der Elektroden zunächst mit einem Faktor von ca. 1000 verstärkt und anschließend an einen Messrechner überträgt. Mit Hilfe einer eingebauten Messhardware werden die analogen Signale durch einen Analog-Digital-Umsetzer digitalisiert und können anschließend ausgegeben, analysiert und gespeichert werden. Die Aktionspotentiale eines Neurons auf der Elektrode äußern sich in prägnanten Spannungsspitzen innerhalb des Signals, die als Spikes bezeichnet werden (siehe Abb. 2.9).



**Abbildung 2.9:** Beispiel eines Elektrodensignals einer MEA-Elektrode. Die als Spikes bezeichneten Spannungsspitzen resultieren aus der Bildung neuronaler Aktionspotentiale nahe der MEA-Elektrode.

Näherungsweise beschreiben sie die zeitliche Ableitung des Transmembranpotentialverlaufs des gemessenen Neurons, die exakte Form der Spikes wird zudem durch die elektrische Kopplung zwischen Neuron und Messelektrode bestimmt [Robinson, 1968; Martinoia et al., 2004]. Befindet sich mehr als eine Zelle auf der Elektrode, können unterschiedliche Spike-Muster innerhalb des Elektrodensignals auftreten. Eine dadurch entstehende Überlagerung zweier Spikes kann somit zur Verzerrung der individuellen Spike-Muster führen (vgl. [Zhang et al., 2004]). In diesem Zusammenhang deutet die Variabilität der Spike-Formen innerhalb des Messsignals von Abbildung 2.9 darauf hin, dass mehr als ein aktives Neuron an der elektrischen Aktivität an der Elektrode beteiligt ist.

Des Weiteren werden die neuronalen Spikes durch die Signale mehrerer Rauschquellen überlagert. Die Störsignale können teilweise durch das technische Messsystem erklärt werden, da z.B. dessen Versorgungsspannung in die Verbindung zwischen Elektrode und Messrechner eingekoppelt wird und dadurch ein typisches 50 Hz-Rauschen im Messsignal generiert [Nick, 2015]. Zudem führt auch die neuronale Aktivität, die im näheren Umkreis der Messelektrode stattfindet, zu einem höheren biologischen Signalrauschen. Dieser



Effekt basiert auf der Tatsache, dass sich die Amplitude der neuronalen Signale mit zunehmendem Abstand zwischen Zelle und Elektrode verringert, da die elektrische Kopplung abgeschwächt wird. Werden die Signale mehrerer, nur schwach gekoppelter Neuronen überlagert, ergibt sich somit ein zusätzlicher Signalanteil, der lediglich als Rauschen im Messsignal interpretiert werden kann [Martinez et al., 2009].

Die verschiedenen Rauschquellen beeinflussen zwar die Form des abgeleiteten Elektrosignals, sind im Regelfall jedoch nicht ausschlaggebend für dessen Signalverlauf und werden deshalb im Rahmen des FEM-Modells nicht weiter berücksichtigt.

Zusammenfassend wurden in diesem Kapitel zunächst der generelle Aufbau eines Neurons sowie die grundlegenden Prozesse der neuronalen AP-Generierung und der AP-Ausbreitung behandelt. Des Weiteren wurde mit einem kortikalen Pyramidalneuron eine Modellreferenz bestimmt und dessen charakteristische Geometrieparameter ermittelt, um eine detaillierte Nachbildung des Neurons und der resultierenden Zell-Elektrodenkopplung zu ermöglichen. Als Referenzsystem für die extrazelluläre Ableitung eines AP wurde ein MEA ausgewählt und der grundlegende Prozess der extrazellulären Ableitung eines AP vorgestellt.

Auf Basis der getroffenen Auswahl wird im Folgenden die mathematische Beschreibung eines elektrisch aktiven Neurons und der extrazellulären Ableitung eines generierten AP mittels einer MEA-Elektrode im Detail erläutert.

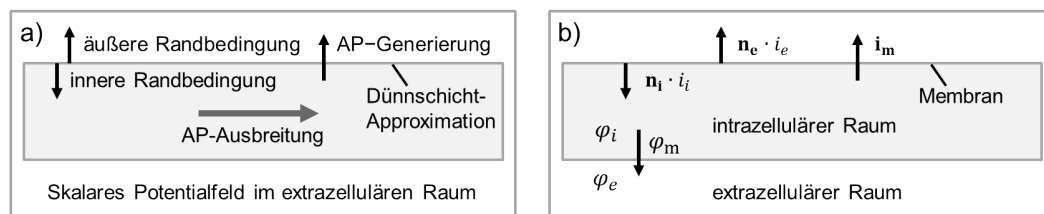


### 3 Modellierung neuronaler Zellen

Im vorangegangenen Kapitel wurden die Grundlagen zu den elektrischen und physiologischen Eigenschaften von Neuronen sowie zur extrazellulären Messung neuronaler Zellsignale beschrieben. In diesem Zusammenhang erfolgte die Auswahl geeigneter Vorlagen für das FEM-Modell, so dass die jeweiligen Eigenschaften von Neuron und extrazellulärer Umgebung stimmig nachgebildet werden können und eine experimentelle Validierung möglich wird. Auf Basis dessen werden in diesem Kapitel die mathematischen Modelle behandelt, die für die Beschreibung des Neurons, des extrazellulären Raums sowie der Kopplung zwischen Zelle und Elektrode notwendig sind.

Um die elektrische Aktivität eines Neurons zu modellieren, gilt es die beiden Teilprozesse der AP-Generierung und der anschließenden -Ausbreitung mathematisch zu beschreiben. Die Simulation extrazellulär abgeleiteter Signale erfordert zudem die Modellierung des extrazellulären Raums sowie die mathematische Verknüpfung der intra- und extrazellulären Domäne. Für eine detailgetreue Nachbildung ist des Weiteren ein dreidimensionales Modell mit möglichst realistischer Neuronengeometrie notwendig, damit die Anordnung von Neuron und Elektrode berücksichtigt werden kann. Dies ermöglicht eine exaktere Nachbildung der Zell-Elektroden Kopplung, da dadurch auch ortsabhängige Faktoren im Rahmen der Berechnung des abgeleiteten Elektrodensignals miteinbezogen werden.

Der mathematische Grundaufbau des Modells kann dabei unabhängig von dessen geometrischen und elektrischen Eigenschaften skizziert werden (siehe Abb. 3.1).



**Abbildung 3.1:** Schema und relevante Parameter des FEM-Modells eines Neurons. a) Das gesamte Modell besteht aus verschiedenen, miteinander verknüpften Teilprozessen. b) Relevante Variablen des Modells sind das intra- bzw. extrazelluläre Potential  $\varphi_{i,e}$  und das resultierende Transmembranpotential  $\varphi_m$  sowie die korrespondierenden Stromdichten  $j_{i,e}$  und  $j_m$ .

Im Rahmen der Simulation müssen die beiden Teilprozesse der AP-Generierung und -Ausbreitung innerhalb eines FEM-Modells beschrieben werden. Die eigentliche Erzeugung des AP findet an der Membran des Neurons statt, die mit Hilfe der Dünnschicht-Approximation angenähert wird [Moulin et al., 2008; Joucla et al., 2014]. Hierbei gilt es, die Ionenstromdichten  $j_{i,e}$  bzw. die daraus resultierende Transmembranstromdichte  $j_m$  zu definieren, die über Randbedingung der Membran in den intra- bzw. extrazellulären Raum fließen. Auf Basis dessen wird die Ausbreitung bzw. Weiterleitung des AP innerhalb der intrazellulären Domäne berechnet und dabei das intrazelluläre Potential  $\varphi_i$  in Abhängigkeit des Transmembranpotentials  $\varphi_m$  bestimmt. Darüber hinaus muss die sich ergebende Potentialverteilung im extrazellulären Raum  $\varphi_e$  ermittelt werden, da sich aus

der Differenz  $\varphi_i - \varphi_e$  wiederum das Transmembranpotential  $\varphi_m$  ergibt.

Für die mathematische Beschreibung des jeweiligen Prozesses kommt i.d.R. mehr als ein mathematisches Modell in Betracht. In den folgenden Abschnitten 3.1 und 3.2 werden daher mögliche Modellierungen von AP-Generierung und -Ausbreitung diskutiert. Abschnitt 3.3 behandelt die Berechnung der Potentialverteilung im extrazellulären Raum sowie die Implementierung einer extrazellulären Messelektrode zur Ableitung neuronaler Signale.

### 3.1 Mathematische Beschreibung neuronaler Signalgenerierung

Die Generierung eines Aktionspotentials basiert auf einem komplexen elektrochemischen Vorgang, bei dem ein zeitabhängiger Ionentransfer über die Zellmembran erfolgt. Ausgangspunkt der AP-Generierung ist ein Reiz, der entweder innerhalb des neuronalen Netzwerks übermittelt wird oder extern auf das betreffende Neuron wirkt. Durch die Anregung werden ionenspezifische Kanäle aktiviert, die sich in Abhängigkeit des elektrischen Potentialgradienten zwischen intra- und extrazellulären Raum öffnen bzw. schließen. Das Zusammenspiel der unterschiedlichen Ionenkanäle erzeugt in der Folge den typischen Spannungsverlauf eines Aktionspotentials (vgl. Abbildung 2.3). Um den Prozess der AP-Generierung mathematisch nachzubilden, muss die wechselseitige Interaktion zwischen den Öffnungszuständen der jeweiligen ionenspezifischen Kanäle und dem resultierenden Transmembranpotential modelliert werden.

Die einfachste Form der Beschreibung dieses Prozesses sind sogenannte *integrate-and-fire*-Modelle. Diese bestehen aus einer einzigen, gewöhnlichen Differentialgleichung, die die Änderung des Transmembranpotentials über die Zeit berechnet. Überschreitet es zu einem Zeitpunkt die Reizschwelle, z.B. ausgelöst durch einen externen Spannungsstimulus, wird ein Spannungsimpuls ausgelöst, der das generierte AP repräsentiert (vgl. [Abbott, 1999]). Nach Ablauf der Refraktärzeit kann der Prozess wiederholt und weitere AP ausgelöst werden. Darauf aufbauende Modelle, wie z.B. das *leaky integrate-and-fire*- oder das *exponential integrate-and-fire*-Modell erweitern die Beschreibung durch Berücksichtigung von passiven Leckströmen über die Zellmembran bzw. durch Implementierung einer realistischeren AP-Generierung auf Basis von Exponentialfunktionen (vgl. [Stein, 1967; Abbott, Vreeswijk, 1993; Fourcaud-Trocmé et al, 2003]). Dies verändert die Form des ausgebildeten AP, vor allem aber kann durch diese Erweiterung das Anregungsverhalten des Neurons modifiziert werden. Dadurch können z.B. kurze AP-Abfolgen, bezeichnet als *Bursts*, aber auch intrinsisch aktive Neuronen, die auch ohne Stimulus von Außen AP generieren, modelliert werden. Der Vorteil dieser reduzierten Beschreibungen ist, dass die Aktivität größerer neuronaler Netzwerke mit verhältnismäßig geringem Rechenaufwand simuliert werden kann. Die entstehende Form des AP ist jedoch lediglich eine grobe Näherung, weshalb diese Modelle für das hier erstellte FEM-Modell ungeeignet sind.

Um den Spannungsverlauf des AP nachzubilden zu können, ist eine Beschreibung der Än-

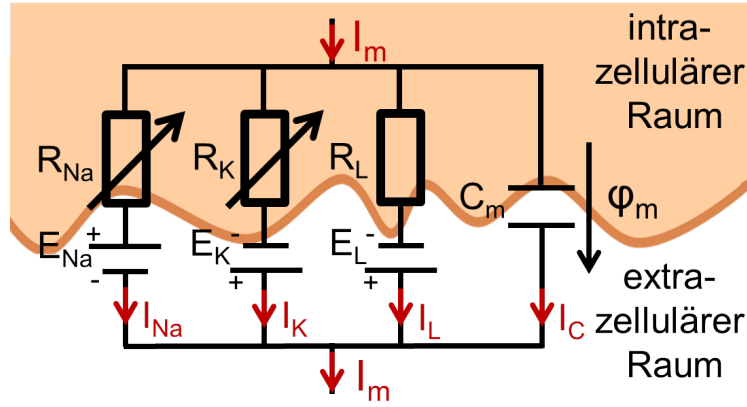
derung der Membranleitfähigkeit für die verschiedenen Ionentypen während der AP-Generierung notwendig. Das gängigste Modell, das diese Zusammenhänge beinhaltet, ist das Hodgkin-Huxley-Modell. Es berechnet das spannungsabhängige Öffnen und Schließen von  $\text{Na}^+$ - und  $\text{K}^+$ -Ionenkanälen mit Hilfe von ionenspezifischen Variablen, die die Leitfähigkeit der Membran modulieren [Hodgkin, Huxley, 1952]. Die als Gatingvariablen bezeichneten Parameter werden auf Basis von nichtlinearen Differentialgleichungen in Abhängigkeit des Transmembranpotentials berechnet. Abhängig vom Zustand der Ionenkanäle ergibt sich ein Ionenstrom, der wiederum das Transmembranpotential beeinflusst. Das resultierende Differentialgleichungssystem ermöglicht eine detaillierte Beschreibung der AP-Generierung. Allerdings ist das Modell nicht in der Lage komplexe *Burst*-Abfolgen nachzubilden. Zudem ist es vergleichsweise rechenintensiv, wodurch sowohl Größe als auch Simulationszeitraum eines darauf basierenden FEM-Modells limitiert wäre.

Einen Kompromiss zwischen Genauigkeit und Rechenintensität stellen das Fitzhugh-Nagumo- sowie das Izhikevich-Modell dar. Beide Modelle berechnen zwar die Änderung der Membranleitfähigkeit in Abhängigkeit des Transmembranpotentials, reduzieren jedoch die Komplexität des dafür verwendeten Differentialgleichungssystem [Nagumo et al., 1962; Izhikevich, 2003]. Anders als das Differentialgleichungssystem nach Hodgkin-Huxley sind beide Modelle in der Lage, AP-Abfolgen und *Bursts* zu beschreiben. Ähnlich wie die einfacheren *integrate-and-fire*-Modellen benötigt das Izhikevich-Modell jedoch eine explizite *reset* Bedingung, die das Transmembranpotential nach Auslösen des AP wieder in den Ruhezustand überführt. Im Gegensatz dazu, beschreibt das Modell von Fitzhugh-Nagumo den vollständigen AP-Generierungsprozess, nähert allerdings den Verlauf des AP mit geringerer Genauigkeit an. Insofern sind beide Modelle vor allem vorteilhaft, wenn die elektrische Kommunikation mehrerer Neuronen über einen längeren Betrachtungszeitraum simuliert werden sollen, die exakte Form des AP jedoch weniger relevant ist.

Zusammenfassend ist für das Ziel dieser Arbeit, eine detaillierte Nachbildung der extrazellulären Ableitung eines neuronalen AP, das Hodgkin-Huxley-Modell die geeignetste Option. Es beschreibt den Prozess der AP-Generierung mit der höchsten Genauigkeit, wodurch auch die daraus resultierende extrazelluläre Ableitung realistisch angenähert werden kann. Zudem ist in diesem Zusammenhang lediglich die Generierung eines einzelnen Aktionspotentials notwendig, weshalb die Reproduktion von *Bursts* innerhalb des Modells nicht erforderlich ist. Dies ermöglicht auch eine Reduktion des Betrachtungszeitraums der Simulation auf wenige Millisekunden, wodurch der hohe Rechenaufwand zur Lösung der Hodgkin-Huxley-Gleichung ausgeglichen werden kann.

### 3.1.1 Das Hodgkin-Huxley-Differentialgleichungssystem

Das Funktionsprinzip des Hodgkin-Huxley-Modells kann mit Hilfe eines elektrischen Ersatzschaltbilds der Zellmembran veranschaulicht werden (siehe Abb. 3.2). Das Modell vereint die relevanten Transmembranströme innerhalb einer elektrischen Parallelschaltung. Dies ist zum einen der kapazitive Strom  $I_C$  über die Membrankapazität  $C_m$  der Lipid-Doppelschicht.



**Abbildung 3.2:** Darstellung des Hodgkin-Huxley-Modells als elektrisches Ersatzschaltbild. Es zeigt die elektrischen Ströme, die bei der Ausbildung eines Aktionspotentials über die Membran fließen.

Zum anderen sind dies die  $\text{Na}^+$ - bzw.  $\text{K}^+$ -Ionenströme  $I_{\text{Na}}$  und  $I_{\text{K}}$ , die in die Zelle bzw. in das extrazelluläre Medium fließen und mit Hilfe einer Reihenschaltung aus Spannungsquelle und variablem Widerstand dargestellt sind. Vervollständigt wird das Ersatzschaltbild durch den Term  $I_{\text{L}}$ , der aus den Komponenten  $E_{\text{L}}$  und  $R_{\text{L}}$  resultiert. Er umfasst Leckströme über die Lipid-Doppelschicht und Ionenströme von weniger relevanten Ionenart, wie z.B.  $\text{Cl}^-$ -Ionen. Unter Verwendung des Kirchhoffschen Knotensatzes kann ein grundlegender Zusammenhang zwischen den Strömen hergestellt werden [Hodgkin, Huxley, 1952]

$$I_m(\varphi_m, t) = I_C(\varphi_m, t) + I_{\text{ion}}(\varphi_m, t) = I_C(\varphi_m, t) + I_{\text{Na}}(\varphi_m, t) + I_{\text{K}}(\varphi_m, t) + I_{\text{L}}(\varphi_m, t). \quad (3.1)$$

Der Transmembranstrom  $I_m$  ist folglich die Summe aus dem kapazitiven Strom  $I_C$  und dem resultierenden Ionenstrom  $I_{\text{ion}}$ , der sich wiederum aus der Summe der Ionenströme  $I_{\text{Na}}$ ,  $I_{\text{K}}$  und  $I_{\text{L}}$  ergibt. Per Definition nach Hodgkin und Huxley fließen sämtliche Ströme aus dem Inneren der Zelle nach außen. Dies führt dazu, dass der  $\text{Na}^+$ -Ionenstrom  $I_{\text{Na}}$  negative Werte annimmt. Um Gleichung (3.1) in eine Form zu bringen, die unabhängig von den geometrischen Eigenschaften eines Neurons ist, kann der Strom  $I_m$  sowie dessen Teilströme in flächenunabhängige Stromdichten mit der Einheit  $\text{A}/\text{m}^2$  umgewandelt werden. Zudem können die einzelnen Teilströme durch Terme ersetzt werden, die deren Abhängigkeit vom Transmembranpotential  $\varphi_m$  beschreiben. Der resultierende Strom  $I_m$  ist zu allen Zeitpunkten gleich null, da die Summe der jeweiligen Ionenströme durch die entsprechende Änderung des Transmembranpotentials ausgeglichen werden. Mit Hilfe dieser Umformungen, ergibt sich aus Gleichung (3.1) eine gewöhnliche Differentialgleichung erster Ordnung

$$c_m \frac{d\varphi_m^*}{dt} = -\frac{1}{r_{\text{Na}}(\varphi_m^*, t)}(\varphi_m^* - E_{\text{Na}}) - \frac{1}{r_{\text{K}}(\varphi_m^*, t)}(\varphi_m^* - E_{\text{K}}) - \frac{1}{r_{\text{L}}}(\varphi_m^* - E_{\text{L}}). \quad (3.2)$$

Da das Hodgkin-Huxley-Modell nicht auf SI Basiseinheiten basiert, geht das Transmembranpotential als Variable  $\varphi_m^*$  mit der Einheit mV in Gleichung (3.2) ein. Die Größen  $E_{\text{Na}}$ ,  $E_{\text{K}}$  und  $E_{\text{L}}$  stellen das Nernstpotential der Ionenarten in mV dar. Der Parameter  $c_m$  entspricht der spezifischen Kapazität der Membran in  $\text{F}/\text{m}^2$ ,  $r_{\text{Na}}$ ,  $r_{\text{K}}$  und  $r_{\text{L}}$  beschreiben die spezifischen Widerstände der Membran für die einzelnen Ionenarten in  $\Omega\text{m}^2$ .

Um die zeitliche Änderung der Öffnungszustände der Ionenkanäle und die dadurch resultierende Widerstandsänderung der Membran mathematisch beschreiben zu können, führten Hodgkin und Huxley die Gatingvariablen  $m(\varphi_m^*, t)$ ,  $n(\varphi_m^*, t)$  und  $h(\varphi_m^*, t)$  ein. Die Variable  $n$  beschreibt das Öffnen und Schließen der  $K^+$ -Ionenkanäle. Um das Verhalten der  $Na^+$ -Kanäle nachzubilden, sind zudem die zwei Variablen  $m$  und  $h$  notwendig. Während  $m$  vor allem das schnelle Öffnen der Kanäle bei entsprechender Anregung modelliert, dient die Variable  $h$  dazu, das schnelle Schließverhalten besser abzubilden. Mit Hilfe von Experimenten an Axonen des Riesentintenfisches wurde daraus die Grundgleichung des Hodgkin-Huxley-Modells entwickelt [Hodgkin, Huxley, 1952]

$$c_m \frac{d\varphi_m^*}{dt} = g_{Na} m^3 h (\varphi_m^* - E_{Na}) + g_K n^4 (\varphi_m^* - E_K) + g_L (\varphi_m^* - E_L). \quad (3.3)$$

Die Parameter  $g_{Na}$ ,  $g_K$  und  $g_L$  mit der Einheit S/m<sup>2</sup> sind der Kehrwert des jeweiligen spezifischen Widerstands aus Gleichung (3.2). Durch die Einführung der Gatingvariablen sind diese Parameter konstant und stellen die maximale Leitfähigkeit bei vollständig geöffneten Ionenkanälen dar. Die zeit- und spannungsabhängige Änderung der einheitenlosen Gatingvariablen wird für jede Variable durch eine gewöhnliche Differentialgleichung berechnet

$$\frac{dk}{dt} = \alpha_k(\varphi_m^*) (1 - k) - \beta_k(\varphi_m^*) k \quad \text{mit } k = h, m, n. \quad (3.4)$$

Die Variable  $k$  steht hierbei stellvertretend für  $h$ ,  $m$  und  $n$ , während  $\alpha_k$  bzw.  $\beta_k$  spannungsabhängige Größen darstellen, deren Werte aus speziellen Normalverteilungen abgeleitet werden. Diese Verteilungen wurden durch empirische Messwerte von Hodgkin und Huxley an Axonen des Riesentintenfisches modelliert. Sie wurden für den Potentialbereich von Säugetierneuronen adaptiert und es ergeben sich damit die folgenden Gleichungen [Izhikevich, 2007]:

$$\alpha_m = \frac{0.1(\{\varphi_m^*\} + 40)}{1 - e^{-0.1(\{\varphi_m^*\} + 40)}} \quad (3.5)$$

$$\alpha_n = \frac{0.01(\{\varphi_m^*\} + 55)}{1 - e^{-0.1(\{\varphi_m^*\} + 55)}} \quad (3.6)$$

$$\alpha_h = 0.07 e^{-0.05(\{\varphi_m^*\} + 65)} \quad (3.7)$$

$$\beta_m = 4 e^{-0.0556(\{\varphi_m^*\} + 65)} \quad (3.8)$$

$$\beta_n = 0.125 e^{-0.0125(\{\varphi_m^*\} + 65)} \quad (3.9)$$

$$\beta_h = \frac{1}{1 + e^{-0.1(\{\varphi_m^*\} + 35)}}. \quad (3.10)$$

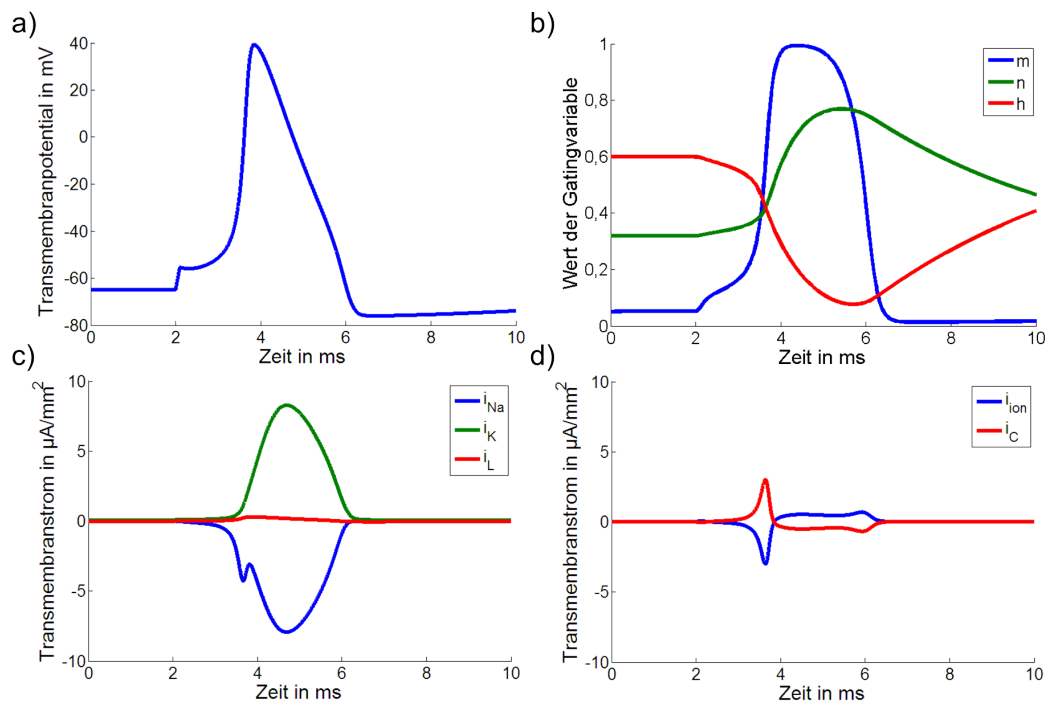
Das Transmembranpotential  $\varphi_m^*$  geht in die Gleichungen (3.5-3.10) als einheitenlose Größe  $\{\varphi_m^*\}$  ein. Zusammen mit Gleichung (3.3) und (3.4) entsteht ein zeitabhängiges Differentialgleichungssystem mit vier Differentialgleichungen, das unter Verwendung der elektrophysiologischen Parameter eines Säugetierneurons gelöst werden kann (siehe Tabelle 3.1).

Da das Modell mit den Parametern aus Tabelle 3.1 nicht ohne Reiz ein AP ausbildet,

**Tabelle 3.1:** Parameter des Hodgkin-Huxley-Modells [Dayan, Abbott, 2001; Izhikevich, 2007]

Parameter	Wert
Spezifische Membrankapazität $c_m$	0,01 F/m <sup>2</sup>
Nernstpotential $E_{Na}$ für Na <sup>+</sup> -Ionen	50 mV
Nernstpotential $E_K$ für K <sup>+</sup> -Ionen	-77 mV
Nernstpotential $E_L$ für Ionen des Leckstroms	-54 mV
Spezifische Leitfähigkeit $g_{Na}$ der Membran für Na <sup>+</sup> -Ionen	1200 S/m <sup>2</sup>
Spezifische Leitfähigkeit $g_K$ der Membran für K <sup>+</sup> -Ionen	360 S/m <sup>2</sup>
Spezifische Leitfähigkeit $g_L$ der Membran für Ionen des Leckstroms	3 S/m <sup>2</sup>
Ruhepotential des Neurons	-65 mV
Ausgangswert der Gatingvariable $m$	0,05
Ausgangswert der Gatingvariable $n$	0,32
Ausgangswert der Gatingvariable $h$	0,6

muss ein externer Stimulus generiert werden. Die Anregung kann beispielsweise in Form einer externen Stromdichte erfolgen, die als zusätzliche Komponente auf der rechten Seite von Gleichung (3.2) eingefügt wird. Ein rechteckförmiger Stimulus mit einer Amplitude von 1  $\mu\text{A}/\text{mm}^2$  und einer Dauer von 0,1 ms reicht aus, um das Transmembranpotential über die Erregungsschwelle zu heben und ein AP auszulösen (siehe Abb. 3.3a).



**Abbildung 3.3:** Neuronales Aktionspotential sowie korrespondierende Transmembranströme des Hodgkin-Huxley-Modells. a) Nach Anregung durch einen Stromdichteimpuls zum Zeitpunkt  $t = 2$  ms generiert das Modell ein AP. b) Die Gatingvariablen des Modells beschreiben das zeitversetzte Öffnen und Schließen der Ionenkanäle. c) Die daraus resultierenden Ionenstromdichten, führen zunächst zur Depolarisation und anschließend zur erneuten Repolarisation des Neurons. d) Die Summe aller Ionenströme wird dabei durch die kapazitive Stromdichte kompensiert.

Als Reaktion auf den Stimulus bildet sich ein AP mit einer Amplitude von 40 mV aus.



Nach der Anregung des Generierungsprozesses, steigt der Wert der Gatingvariable  $m$  rapide an, wodurch ein  $\text{Na}^+$ -Ionenstrom in das Zellinnere erzeugt wird (siehe Abb. 3.3b und 3.3c). Hierbei beschreibt ein Wert von eins die vollständige Öffnung, der Wert null ein vollständiges Schließen des entsprechenden Ionenkanaltyps. Zeitversetzt erhöht sich der Wert der Variable  $n$ , die die Öffnung der  $\text{K}^+$ -Ionenkanäle beschreibt. Kurz nach Einsetzen des  $\text{K}^+$ -Ionenstrom in den extrazellulären Raum, sinkt der Wert von  $m$  signifikant ab, so dass die Summe des erzeugten Ionenstroms nach außen gerichtet ist (siehe Abb. 3.3d). Um das schnelle Schließen der  $\text{Na}^+$ -Ionenkanäle präziser beschreiben zu können, verringert sich parallel zu  $m$  auch der Wert der Gatingvariablen  $h$ . Nach Abschluss der AP-Generierung streben die Gatingvariablen in der Refraktärphase wieder den Ruhezustand an, der ca. 15 ms nach Beginn des Prozesses erreicht wird. Wie in Gleichung (3.2) beschrieben, ist die Summe aller auftretenden Transmembranstromdichten stets null, da die kapazitive Stromdichte über die Zellmembran die Stromdichten über die Ionenkanäle kompensiert [Dayan, Abbott, 2001].

Während das Ruhepotential sowie die Amplitude des AP innerhalb des Modells mit Aktionspotentialen eines Säugetierneurons übereinstimmt (vgl. Abbildung 2.3), ist die Dauer des AP mit ca. 3 ms etwas höher. Der Grund hierfür ist, dass im zugrundeliegenden Hodgkin-Huxley-Modell nach [Izhikevich, 2007] zwar die Potentialbereiche der einzelnen Ionenkanäle für Säugetierneuronen angepasst sind, jedoch die Ionenkanalinetik, d.h. das zeit- und spannungsabhängige Öffnen und Schließen der Kanäle, weiterhin auf dem ursprünglichen Differentialgleichungssystem von Hodgkin und Huxley beruht. Dieses wurde jedoch auf Basis von Messungen an Axonen des Riesentintenfisches entwickelt, so dass sich geringfügige Abweichungen zwischen dem Ergebnis des Modells und realen AP ergeben.

Abgesehen davon stellt das Ergebnis des Modells in Abbildung 3.3 eine grundsätzlich stimmige mathematische Näherung von gemessenen AP von Säugetierneuronen dar (vgl. Abbildung 2.3). Da die Erzeugung des AP innerhalb des hier erstellten FEM-Modells nicht nur für die initiale Generierung, sondern auch im Rahmen der kontinuierlichen AP-Weiterleitung von signifikanter Bedeutung ist (vgl. Kapitel 2.3), ist eine detailliertere Analyse der Charakteristika des Modells notwendig. Hierbei sind vor allem die Stabilität des Ruhepotentials sowie der Reizschwelle in Abhängigkeit der gewählten elektrischen Parameter des Neurons relevant. Die Charakteristik der Reizschwelle definiert, ob ein modelliertes Neuron in der Lage ist ohne externen Reiz ein AP zu erzeugen. Die Stabilität des Ruhepotentials hingegen beeinflusst, ob eine Anregung zur Generierung eines einzelnen oder zu einer Abfolge mehrerer AP führen können.

### 3.1.2 Charakteristik und Stabilitätseigenschaften

Aufgrund der Komplexität des Differentialgleichungssystems ist eine systematische Analyse des vollständigen Modells nicht möglich. Durch gezielte Vereinfachungen können jedoch reduzierte Modelle entwickelt werden, welche eine Untersuchung der einzelnen Merkmale des Modells erlauben [Izhikevich, 2007]. Dies kann erreicht werden, indem das Sy-

stem von vier auf zwei Differentialgleichungen reduziert und dadurch die Zeitabhängigkeit von jeweils zwei der drei Gatingvariablen vernachlässigt wird. Die vereinfachten Modelle ermöglichen daraufhin eine genauere Analyse der Abhängigkeit zwischen dem Transmembranpotential und der jeweils verbliebenen Gatingvariable innerhalb des Phasenraums.

### Reduzierte Variante des Hodgkin-Huxley-Modells für die Gatingvariable $m$

Die Schwellwertcharakteristik des Hodgkin-Huxley-Modells kann durch eine Vereinfachung des Differentialgleichungssystems mit den Variablen  $m$  und  $\varphi_m^*$  untersucht werden. Die Zeitabhängigkeit der Gatingvariablen  $n$  und  $h$  aus Gleichung (3.4) wird nicht berücksichtigt und die Variablen durch die Terme  $n_\infty$  und  $h_\infty$  ersetzt (vgl. [Izhikevich, 2007; Botero et al, 2013]). Diese Terme beschreiben das Verhalten der Ionenkanäle innerhalb eines stationären Zustands, jedoch weiterhin in Abhängigkeit des Transmembranpotentials  $\varphi_m^*$  [Dayan, Abbott, 2001]. Daraus ergibt sich ein reduziertes System mit lediglich zwei verbliebenen Differentialgleichungen

$$F(\varphi_m^*, m) = c_m \frac{d\varphi_m^*}{dt} = g_{Na} m^3 h_\infty (\varphi_m^* - E_{Na}) + g_K n_\infty^4 (\varphi_m^* - E_K) + g_L (\varphi_m^* - E_L) \quad (3.11)$$

und

$$G(\varphi_m^*, m) = \frac{dm}{dt} = \alpha_m(\varphi_m^*) (1 - m) - \beta_m(\varphi_m^*) m. \quad (3.12)$$

Die spannungsabhängige Änderung der Gatingvariablen  $n_\infty$  und  $h_\infty$  wird mit Hilfe der jeweiligen Verteilungsfunktionen (3.6) und (3.9) bzw. (3.7) und (3.10) berechnet

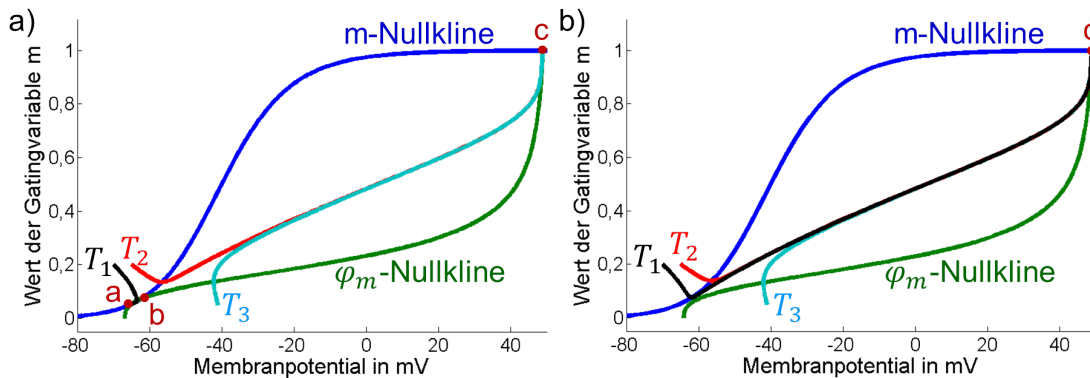
$$k_\infty = \frac{\alpha_k(\varphi_m^*)}{\alpha_k(\varphi_m^*) + \beta_k(\varphi_m^*)} \quad \text{mit } k = n, h. \quad (3.13)$$

Der erste Schritt bei der Analyse des Modellverhaltens im Phasenraum ist die Bestimmung der Nullklinen, d.h. der beiden Trajektorien im Phasenraum für die  $dm/dt = 0$  bzw.  $d\varphi_m^*/dt = 0$  gilt [Botero et al, 2013]. Für diese Fälle ist die linke Seite der Gleichungen (3.11) und (3.12) gleich null und sie können nach  $m(\varphi_m^*)$  aufgelöst werden. Dies ermöglicht zudem die Berechnung der Schnittpunkte beider Nullklinen für  $dm/dt = d\varphi_m^*/dt = 0$ , die von entscheidender Bedeutung für das Verhalten des Systems sind. Deren Charakteristik innerhalb des Phasenraums kann mit Hilfe der Jakobimatrix  $J$  ermittelt werden

$$J = \begin{pmatrix} \frac{dF}{d\varphi_m^*} & \frac{dF}{dm} \\ \frac{dG}{d\varphi_m^*} & \frac{dG}{dm} \end{pmatrix}. \quad (3.14)$$

Für ein zweidimensionales System ergibt sich eine  $2 \times 2$ -Matrix. Die beiden Eigenwerte der Matrix an den Schnittpunkten beschreiben den Verlauf der Trajektorien in deren Umgebung. Sind die Realteile beider Eigenwerte negativ, handelt es sich bei dem Fixpunkt um einen stabilen Knoten und Trajektorien in der Umgebung streben auf diesen Punkt zu [Izhikevich, 2007; Zhang et al, 2014]. Ein instabiler Knoten besitzt hingegen ein Ei-

genwertpaar mit positiven Realteilen und führt dazu, dass Trajektorien in dessen Nähe vom Punkt weg streben. Eigenwerte mit unterschiedlichen Vorzeichen charakterisieren einen Sattelpunkt, bei dem Trajektorien aus bestimmten Richtungen angezogen jedoch anschließend in eine andere Richtung wieder abgestoßen werden. Für das System aus den Gleichungen (3.11) und (3.12), mit den Parametern aus Tabelle 3.1, können drei Schnittpunkte von  $\varphi_m^*$ -Nullkline und  $m$ -Nullkline ermittelt werden (siehe Abb. 3.4a).



**Abbildung 3.4:** Analyse des Schwellwertverhaltens des Hodgkin-Huxley-Modells im Phasenraum. a) Von den drei Schnittpunkten des Systems sind  $a$  und  $c$  stabile Knotenpunkte, während Punkt  $b$  ein Sattelpunkt ist. Die Trajektorien  $T_2$  und  $T_3$  werden von Punkt  $b$  zu Punkt  $c$  gelenkt und stellen ein ausgelöstes AP dar. Trajektorie  $T_1$  wird hingegen vom Sattelpunkt wieder zu Knotenpunkt  $a$  gelenkt. b) Bei einer Änderung des Parameters  $g_{Na}$  von  $1200 \text{ S/m}^2$  auf  $1500 \text{ S/m}^2$  gehen die Fixpunkte  $a$  und  $b$  verloren. Dadurch streben sämtliche Trajektorien zum einzig verbliebenen Fixpunkt  $c$ .

Die drei Fixpunkte besitzen die Koordinaten  $a = (-65, 0,052)$ ,  $b = (-62, 0,07)$  und  $c = (49, 0,99)$ . Die Betrachtung der Eigenwerte der Jacobi-Matrix  $J$  der beiden Schnittpunkte  $a$  und  $c$  zeigt, dass beide stabile Knotenpunkte darstellen, Punkt  $b$  ist hingegen ein Sattelpunkt (vgl. [Botero et al, 2013]). In seiner Funktion entspricht der stabile Knotenpunkt  $a$  dem Ruhepotential und Knotenpunkt  $c$  dem Maximum des Aktionspotentials. Der Sattelpunkt  $b$  übt eine Schwellwertfunktion zwischen den beiden stabilen Punkten aus (vgl. Trajektorien  $T_1$ ,  $T_2$  und  $T_3$  in Abbildung 3.4a). Das bedeutet, dass Trajektorien in Abhängigkeit von ihrem Startpunkt zum depolarisierten Zustand bei  $c$  streben oder auf das Ruhepotential bei  $a$  zurückfallen, wenn die Schwelle des Systems nicht überschritten ist. Da sowohl die Inaktivierung der  $\text{Na}^+$ -Kanäle über den Parameter  $h$ , als auch die Öffnung der  $\text{K}^+$ -Kanäle mit Hilfe der Gatingvariable  $n$  vom reduzierten Modell nicht abgebildet werden, findet keine Repolarisierung statt.

Durch Änderung spezifischer Parameter aus Tabelle 3.1 kann das Verhalten des Systems jedoch deutlich beeinflusst werden. Wird die maximale Leitfähigkeit der Zellmembran für  $\text{Na}^+$ -Ionen  $g_{Na}$  von  $1200 \text{ S/m}^2$  auf  $1500 \text{ S/m}^2$  angehoben, d.h. die Dichte von  $\text{Na}^+$ -Ionenkanälen erhöht, verändert sich die Lage der Nullklinen und sowohl Knotenpunkt  $a$  als auch der Sattelpunkt  $b$  verschwinden. Dadurch verliert das System die Schwellwertfunktion und sämtliche Trajektorien streben zum verbliebenen Knotenpunkt  $c$  (Abbildung 3.4b). Derselbe Effekt tritt auf, wenn die maximale Leitfähigkeit für  $\text{K}^+$ -Ionen  $g_K$  von  $360 \text{ S/m}^2$  auf  $300 \text{ S/m}^2$  reduziert oder das Nernstpotential für  $\text{K}^+$ -Ionen  $E_K$  von

$-77$  mV auf  $-72$  mV erhöht wird. Übertragen auf das Hodgkin-Huxley-Modell bedeutet dies, dass sowohl eine Veränderung des Verhältnisses zwischen  $\text{Na}^+$ - und  $\text{K}^+$ -Ionenkanälen als auch eine Änderung des  $\text{K}^+$ -Konzentrationsgradienten zwischen intra- und extrazellulärem Medium auch ohne Stimulus zu einer AP-Generierung innerhalb des Modells führt. Dies zeigt, dass das parameterabhängige Systemverhalten im Rahmen des mathematischen Modells berücksichtigt und bei Adaptionen der elektrischen Eigenschaften der Zellmembran in Betracht gezogen werden muss, um keine unerwünschten Veränderungen des Systemverhaltens hervorzurufen.

### Reduzierte Variante des Hodgkin-Huxley-Modells für die Gatingvariable $n$

Analog zum Schwellwertverhalten des Hodgkin-Huxley-Systems kann auch die Generierung einer Abfolge von mehreren AP in Abhängigkeit der Systemparameter analysiert werden. Auch hierfür wird das ursprüngliche System auf zwei Differentialgleichungen reduziert und für diese Fragestellung die Gatingvariablen  $m$  und  $h$  als zeitinvariant angenommen [Izhikevich, 2007; Doi et al, 2010]. Die Variable  $m$  wird zu diesem Zweck auf Basis von Gleichung (3.13) durch den Ausdruck  $m_\infty$  ersetzt

$$m_\infty = \frac{\alpha_m(\varphi_m^*)}{\alpha_m(\varphi_m^*) + \beta_k(\varphi_m^*)}. \quad (3.15)$$

Die Gatingvariable  $h$  hingegen, kann in diesem Fall durch einen linearen Zusammenhang mit  $n$  angenähert werden, da beide Größen ein ähnliches Verhalten in Abhängigkeit zum Transmembranpotential aufweisen (vgl. [Izhikevich, 2007])

$$h = 0,89 - 1,1n. \quad (3.16)$$

Nach diesen Substitutionen ergibt sich das reduzierte System des Modells aus den zwei verbleibenden Differentialgleichungen

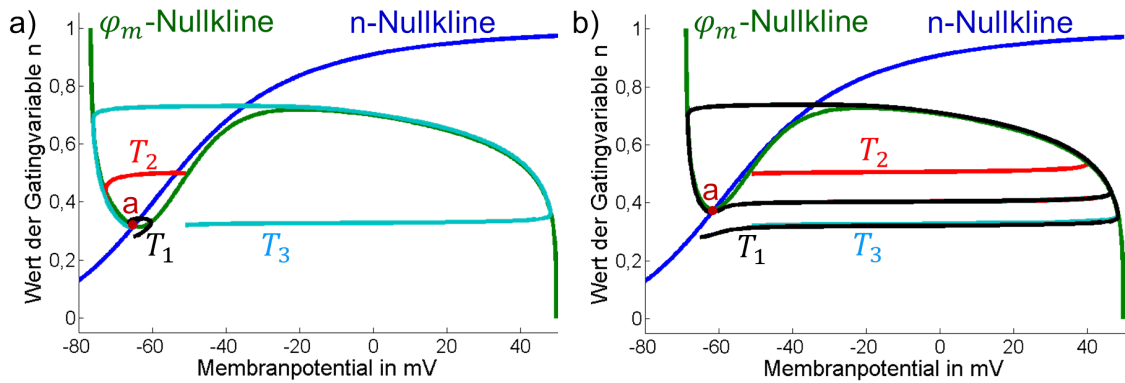
$$c_m \frac{d\varphi_m^*}{dt} = g_{\text{Na}} m_\infty^3 (0,89 - 1,1n)(\varphi_m^* - E_{\text{Na}}) + g_{\text{K}} n^4 (\varphi_m^* - E_{\text{K}}) + g_{\text{L}} (\varphi_m^* - E_{\text{L}}) \quad (3.17)$$

und

$$\frac{dn}{dt} = \alpha_n(\varphi_m^*)(1 - n) - \beta_n(\varphi_m^*)n. \quad (3.18)$$

Im nächsten Schritt werden wiederum die Nullklinen des Systems bei  $dm/dt = 0$  bzw.  $d\varphi_m^*/dt = 0$  sowie mögliche Schnittpunkte für  $dm/dt = d\varphi_m^*/dt = 0$  berechnet. Anschließend zeigen die Eigenwerte der Jacobi-Matrix  $J$  die Eigenschaften der Schnittpunkte. In diesem Fall ergibt sich lediglich ein Fixpunkt, der als stabiler Knotenpunkt charakterisiert werden kann (siehe Abb. 3.5a).

Der Schnittpunkt mit den Koordinaten  $a = (-65, 0,318)$  repräsentiert den stabilen Zustand eines Neurons bei dessen Ruhepotential von  $-65$  mV. Die Trajektorien  $T_1$  und  $T_3$ , die kein ausgelöstes Aktionspotential darstellen, streben direkt auf den Fixpunkt zu. Die Kurve der Trajektorie  $T_2$  beschreibt ein generiertes AP und endet ebenfalls in Knotenpunkt  $a$ .



**Abbildung 3.5:** Analyse des Verhaltens des Hodgkin-Huxley-Modells hinsichtlich der Generierung von AP-Abfolgen im Phasenraum. a) Mit  $a$  als einzigem Fixpunkt des Systems enden sämtliche Trajektorien an dieser Stelle, unabhängig davon ob diese wie  $T_2$  ein generiertes AP beschreiben oder wie  $T_1$  und  $T_3$  lediglich ein Ereignis unterhalb des Schwellwerts. b) Bei Adaption des Parameters  $g_{Na}$  von  $1200 \text{ S/m}^2$  auf  $2000 \text{ S/m}^2$ , verändert der Punkt  $a$  seine Charakteristik und wird zu einem instabilen Knoten. Dies führt dazu, dass sämtliche Trajektorien eine Kreisbahn beschreiben, die einer Abfolge stetig neu generierter AP entspricht.

Wie bereits im vorangegangenen Modell, führt auch in diesem Fall die Variation eines kritischen Parameters aus Tabelle 3.1 zu einer signifikanten Änderung der Systemcharakteristik. Eine Erhöhung des Werts  $g_{Na}$  von  $1200 \text{ S/m}^2$  auf  $2000 \text{ S/m}^2$  führt dazu, dass aus Fixpunkt  $a$  ein instabiler Knoten wird (siehe Abb. 3.5b). Als Folge streben die Trajektorien nicht mehr auf diesen Punkt zu, sondern von ihm weg. Dies führt dazu, dass sämtliche Trajektorien eine Kreisbahn beschreiben, die einer sich stetig wiederholenden AP-Generierung entspricht. Analog kann dieses Verhalten auch durch eine Änderung des Parameters  $g_K$  von  $360 \text{ S/m}^2$  auf  $200 \text{ S/m}^2$  oder des  $K^+$ -Nernstpotentials von  $-77 \text{ mV}$  auf  $-69 \text{ mV}$  erzeugt werden.

Für das vollständige Hodgkin-Huxley-Modell lassen sich die Ergebnisse der beiden reduzierten Modelle stimmig zusammenfassen. Wird der gängige Parametersatz aus Tabelle 3.1 verwendet, erfolgt die Ausbildung eines AP lediglich bei einer Anregung mittels einem externen Stimulus. Eine Variation der Werte kritischer Modellparameter, wie die Dichte von  $Na^+$ - und  $K^+$ -Ionenkanälen, repräsentiert durch  $g_{Na}$  bzw.  $g_K$ , sowie des Nernstpotentials für  $K^+$ -Ionen  $E_K$ , führt zu einer Änderung des Modellverhaltens. Eine Erhöhung des Verhältnisses zwischen  $Na^+$ - und  $K^+$ -Ionenkanälen oder eine Reduktion des Konzentrationsgradienten der  $K^+$ -Ionen zwischen intra- und extrazellulärem Raum resultiert in der spontanen Generierung eines AP ohne vorherigen Stimulus. Wird das Ionenkanal-Verhältnis bzw. der Konzentrationsgradient weiter modifiziert, führt dies zur Generierung einer stetigen AP-Abfolge.

Für ein FEM-Modell ist dieser Zusammenhang in mehrfacher Hinsicht relevant. Zum einen ergibt dies die Möglichkeit, die Charakteristik des modellierten Neurons gezielt zu beeinflussen und beispielsweise eine intrinsische AP-Generierung zu implementieren. Zum anderen muss das variierende Verhalten des Hodgkin-Huxley-Modells bei der Modellmorphologie berücksichtigt werden. Die einzelnen Teilbereiche eines Neurons, wie z.B. Soma,

AIS oder Axon, unterscheiden sich in der Dichte der Ionenkanäle auf der Zellmembran (vgl. [Palay et al., 1968; Stuart et al., 1997; Lai and Jan, 2006]). Bei der Modellierung der unterschiedlichen Ionenkanalverteilungen muss deshalb das Verhalten des Hodgkin-Huxley-Modells berücksichtigt werden, um eine stimmige AP-Generierung und AP-Ausbreitung garantieren zu können.

### 3.1.3 Anpassung des Hodgkin-Huxley-Modells an die Ionenkanalkinetik von Säugetierneuronen

Wie in den vorangehenden Abschnitten gezeigt, erlaubt das grundlegende Hodgkin-Huxley-Modell eine allgemein stimmige Beschreibung des Prozesses der neuronalen AP-Generierung. Jedoch sind im Detail einige Abweichungen zwischen Modell und gemessenen Verläufen erkennbar. Vor allem die Dauer des simulierten AP von 3 ms unterscheidet sich von der Dauer gemessener AP von Säugetierneuronen, die eine Länge von ca. 1 ms aufweisen (vgl. Abbildung 2.3). Zum einen ist dies auf die fehlende Berücksichtigung von Temperatureffekten innerhalb des vorgestellten Basismodells zurückzuführen. Zum anderen ist das Modell auf Basis von Experimenten an Axonen des Riesentintenfischs entwickelt worden und nicht ohne weiteres auf die Neuronen von Säugetieren anwendbar. Zwar wurden sowohl Ruhepotential als auch Nernstpotentiale des vorgestellten Differentialgleichungssystems diesbezüglich angepasst, jedoch unterscheidet sich auch die Verteilung der Ionenkanäle zwischen den verschiedenen Tierstämmen. Darüber hinaus variiert auch die Kinetik der Ionenkanäle je nach Tierspezies.

Im Folgenden werden Erweiterungen bzw. Adaptionen des Hodgkin-Huxley-Modells vorgestellt, um diese Faktoren zu berücksichtigen und dadurch eine bessere Annäherung des Simulationsmodells an gemessene AP-Verläufe zu erreichen.

#### Temperaturabhängiges Hodgkin-Huxley-Modell

Bereits bei der Konzeption des Hodgkin-Huxley-Modells wurde der Einfluss der Temperatur auf die gemessene Zellaktivität erkennbar, woraufhin eine erweiterte Version des Modells entwickelt wurde [Hodgkin et al., 1952]. Weiterführende Untersuchungen zeigten, dass nahezu sämtliche Prozesse während der AP-Generierung durch Änderung der Temperatur beeinflusst werden [Frankenhäuser, Moore, 1963; Collins, Rojas, 1982; Fohlmeister, 2015; Maldonado et al., 2015].

Bereits Gleichung 2.1 zeigt die Abhängigkeit des Nernstpotentials einer Ionenart von der Umgebungstemperatur. Anhand dieser Gleichung ergibt sich eine direkte Proportionalität zwischen der Temperatur in Kelvin und dem Nernstpotential der jeweiligen Ionenart (vgl. [Collins, Rojas, 1982; Maldonado et al., 2015]). Auf Basis dieses Zusammenhangs kann die Änderung des Nernstpotentials in Abhängigkeit zu einem Referenzwert  $T_0$  durch eine einfache Relation ermittelt werden

$$E_{ion}(T_1) = E_{ion}(T_0) \frac{T_1}{T_0}. \quad (3.19)$$

Aufgrund der damaligen experimentellen Bedingungen ist die Referenztemperatur  $T_0$  des grundlegenden Hodgkin-Huxley-Modells  $6,3^\circ\text{C}$  bzw.  $279,45\text{K}$  [Hodgkin, Huxley, 1952]. Für den Term  $E_{ion}(T_0)$  kann der entsprechende Wert aus Tabelle 3.1 für den jeweiligen Ionentyp eingesetzt werden.

Abgesehen vom Nernstpotential wird auch die Kinetik der Ionenkanäle auf der Zellmembran durch die Temperatur beeinflusst und sowohl das Öffnen als auch das Schließen der Kanäle verläuft schneller bei höheren Temperaturen [Hodgkin, Huxley, 1952; Frankenhäuser, Moore, 1963; Fohlmeister, 2015; Maldonado et al., 2015]. Um dies im Modell zu berücksichtigen, kann ein Temperaturfaktor  $\theta_{g_k}(T)$  in die jeweilige Differentialgleichung zur Berechnung der Gatingvariablen  $k$  in Gleichung (3.4) integriert werden

$$\frac{dk(T)}{dt} = \theta_{g_k}(T)(\alpha_k(\varphi_m^*)(1 - k) - \beta_k(\varphi_m^*)k) \quad \text{mit } k = m, n, h. \quad (3.20)$$

Darüber hinaus verändert sich auch die Leitfähigkeit der einzelnen Ionenkanäle, wodurch der erzeugte Ionenstrom bei gleichem Öffnungsgrad des entsprechenden Kanals mit zunehmender Temperatur ansteigt [Frankenhäuser, Moore, 1963; Fohlmeister, 2015; Maldonado et al., 2015]. Analog zur Änderung der Kinetik der Ionenkanäle kann dies mit Hilfe eines Temperaturfaktors  $\theta_{c_{ion}}(T)$  bei der Bestimmung der Leitfähigkeit  $g_{ion}$  berücksichtigt werden

$$g_{ion}(T) = \theta_{c_{ion}}(T)g_{ion}(T_0). \quad (3.21)$$

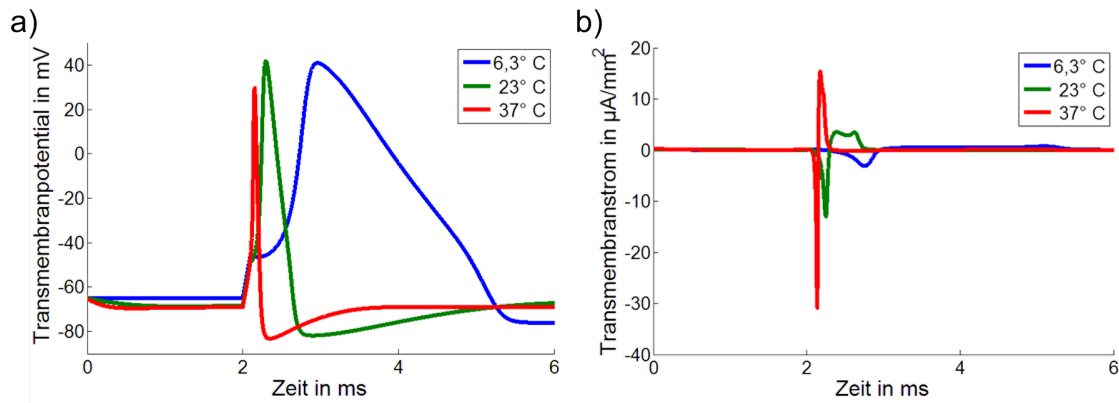
Die Referenzleitfähigkeit  $g_{ion}(T_0)$  entspricht wiederum den jeweiligen Werten aus Tabelle 3.1. Analog zur Berechnung des temperaturabhängigen Nernstpotentials in Gleichung (3.19) beträgt die Referenztemperatur  $T_0 = 6,3^\circ\text{C}$ . Die Faktoren  $\theta_g(T)$  und  $\theta_c(T)$  berechnen sich mit Hilfe entsprechender Koeffizienten  $Q_{10_g}$  bzw.  $Q_{10_c}$ . Diese Werte basieren auf experimentell ermittelten Messreihen und quantifizieren die Änderung des jeweiligen Faktors bei einem Temperaturunterschied von  $10^\circ\text{C}$  (vgl. [Matteson, Armstrong, 1982; Maldonado et al., 2015])

$$\theta_i(T) = Q_{10_i}^{\frac{T-T_0}{10}} \quad \text{mit } i = c, g. \quad (3.22)$$

Grundsätzlich werden die Koeffizienten  $Q_{10_g}$  und  $Q_{10_c}$  für jede Gatingvariable bzw. jeden Ionenkanaltyp separat ermittelt. Zudem variieren die Werte je nach untersuchtem Zelltyp und sind teilweise nur für begrenzte Temperaturspannen gültig (vgl. [Frankenhäuser, Moore, 1963; Collins, Rojas, 1982; Fohlmeister, 2015; Maldonado et al., 2015]). In erster Näherung können jedoch vereinfachte Werte mit  $Q_{10_g} = 3$  und  $Q_{10_c} = 1,5$  verwendet werden [Hodgkin et al., 1952; Frankenhäuser, 1963], die für alle Gatingvariablen bzw. Ionenkanäle gültig sind. Durch die Erweiterung des Hodgkin-Huxley-Modells zeigen sich mehrere Einflüsse der Temperatur auf den generierten AP-Verlauf (siehe Abb. 3.6).

Aufgrund der höheren Kinetik der Ionenkanäle sinkt die Dauer des generierten AP mit steigender Temperatur von ca. 3 ms bei  $6,3^\circ\text{C}$  auf 1 ms bei  $23^\circ\text{C}$  und lediglich 0,4 ms bei  $37^\circ\text{C}$  (siehe Abb. 3.5a). Dies wird zudem durch die erhöhte Leitfähigkeit der Ionenkanäle bei gleichem Öffnungsgrad unterstützt, wodurch ein deutlich höherer Ionenstrom über die Membran fließen kann (siehe Abb. 3.6b).

Die temperaturabhängige Änderung der Nernstpotentiale führt jedoch dazu, dass die Am-



**Abbildung 3.6:** Ergebnis des temperaturabhängigen Hodgkin-Huxley-Modells bei variierender Umgebungstemperatur. a) Mit steigender Temperatur verkürzt sich die AP-Dauer signifikant. Zudem sinkt hierbei die Amplitude des AP deutlich. b) Durch die schnellere AP-Generierung erhöhen sich die Amplituden der Transmembranströme bzw. -stromdichten. Diese sind bei 23°C ca. dreimal höher und bei 37°C sogar zehnmal höher als bei der Referenztemperatur von bei 6,3°C.

plitude des AP bei einer Temperatur von 37°C mit 30 mV um etwa 10 mV geringer ist als bei 6,3°C bzw. 23°C.

Durch die Ergänzung der Temperatureffekte innerhalb des Hodgkin-Huxley-Modells kann die gemessene AP-Dauer von Säugetierneuronen prinzipiell besser angenähert werden. Zudem ergeben sich bei höheren Temperaturen auch deutlich höhere Transmembranströme. Jedoch zeigt sich, dass die Parameter des grundlegenden Hodgkin-Huxley-Modells nicht für einen Temperaturbereich über 30°C geeignet sind, da die Ergebnisse des erweiterten Modells im Temperaturbereich nahe 37°C sowohl bezüglich AP-Dauer als auch AP-Amplitude weiterhin merklich von gemessenen Werten abweichen. Aus diesem Grund wird im Folgenden eine adaptierte Version des Modells vorgestellt, das einen Parametersatz verwendet, mit dem die Ionenkanalkinetik von Säugetierneuronen besser angenähert werden kann.

### Modifiziertes Hodgkin-Huxley-Modell mit Ionenkanalkinetik von Säugetierneuronen

Während der generelle Prozess der AP-Generierung bei allen Neuronen vergleichbar ist, unterscheiden sich einige Parameter, wie z.B. das entsprechende Ruhepotential oder die Verteilung der Ionenkanäle, sowohl zwischen den Neuronen verschiedener Spezies als auch zwischen verschiedenen Zelltypen [Pospischil et al, 2008]. Um die AP-Generierung eines bestimmten Zelltyps approximieren zu können, müssen folglich die elektrophysiologischen Parameter des Hodgkin-Huxley-Modells entsprechend angepasst werden.

Aus diesem Grund wurden Adaptionen des grundlegenden Hodgkin-Huxley-Modells entwickelt, die eine bessere Annäherung an AP von Säugetierneuronen ermöglichen [Mainen, Sejnowski, 1996; Yu et al., 2012].

Diese Modelle beruhen auf dem erweiterten Hodgkin-Huxley-Modell mit Berücksichtigung



der Temperatureinflüsse, unterscheiden sich jedoch vor allem in der Berechnung der Ionenkanalzustände bzw. -kinetiken. Analog zum ursprünglichen Modell, wurden auch die Gleichungen und Parameter auf Basis von experimentellen Messungen an Säugetierneuronen entwickelt. Die Grundgleichung (3.3) des Modells ist hierbei lediglich geringfügig modifiziert und der Wert des Exponenten der Gatingvariable  $n$  auf den Wert eins reduziert [Yu et al., 2012]

$$c_m \frac{d\varphi_m^*}{dt} = g_{Na} m^3 h (\varphi_m^* - E_{Na}) + g_K n (\varphi_m^* - E_K) + g_L (\varphi_m^* - E_L). \quad (3.23)$$

Die zeitliche Änderung der Öffnung der Ionenkanäle in Abhängigkeit vom Transmembranpotential wird hingegen analog zum erweiterten Hodgkin-Huxley-Modell mit Hilfe von Gleichung (3.20) bestimmt. Auch die temperaturabhängigen Nernstpotentiale sowie ionenspezifischen Leitfähigkeiten der Zellmembran werden gemäß Gleichung (3.19) bzw. (3.21) berechnet. Für die Koeffizienten  $Q_{10_g}$  und  $Q_{10_c}$  ist hingegen ein einheitlicher Wert von 2,3 definiert und die Referenztemperatur des Modells beträgt  $T_0$  23 °C bzw. 296,15 K. Die entscheidende Änderung dieses Modells sind Adaptionen in den Funktionen  $\alpha_k$  und  $\beta_k$ , deren Parameter grundlegend angepasst wurden [Yu et al., 2012]

$$\alpha_m = \frac{0.182(\{\varphi_m^*\} + 30)}{1 - e^{-1/8(\{\varphi_m^*\} + 30)}} \quad (3.24)$$

$$\alpha_n = \frac{0.01(\{\varphi_m^*\} - 30)}{1 - e^{-1/9(\{\varphi_m^*\} - 30)}} \quad (3.25)$$

$$\alpha_h = \frac{0.028(\{\varphi_m^*\} + 45)}{1 - e^{-1/6(\{\varphi_m^*\} + 45)}} \quad (3.26)$$

$$\beta_m = -\frac{0.124(\{\varphi_m^*\} + 30)}{1 - e^{1/8(\{\varphi_m^*\} + 30)}} \quad (3.27)$$

$$\beta_n = -\frac{0.002(\{\varphi_m^*\} - 30)}{1 - e^{1/9(\{\varphi_m^*\} - 30)}} \quad (3.28)$$

$$\beta_h = -\frac{0.0091(\{\varphi_m^*\} + 70)}{1 - e^{1/6(\{\varphi_m^*\} + 70)}}. \quad (3.29)$$

Des Weiteren wurde auch ein Großteil der elektrischen Parameter innerhalb des adaptierten Modells mit Hilfe von experimentellen Messungen für Säugetierneuronen neu bestimmt (siehe Tabelle 3.2).

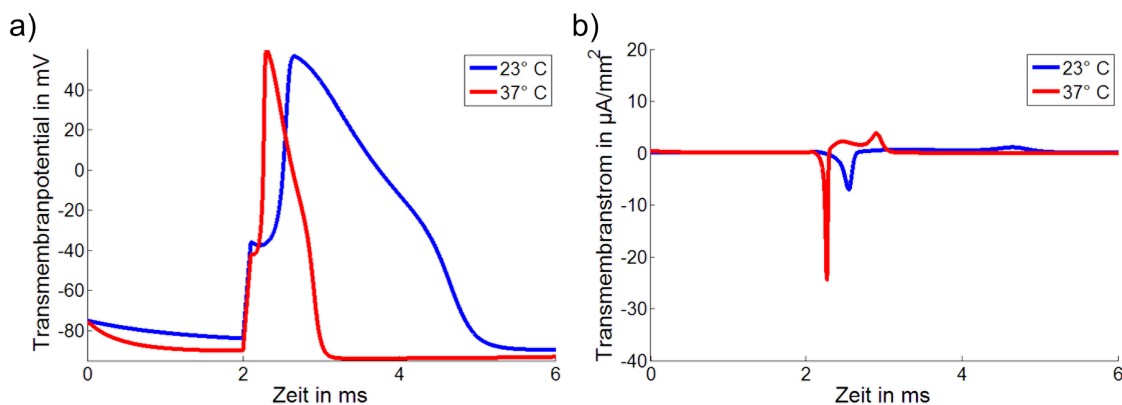
Neben einer veränderten Ionenkanalverteilung auf der Zellmembran sowie einer etwas geringfügigeren spezifischen Membrankapazität, sind auch die Werte für das Ruhepotential sowie für die einzelnen Nernstpotentiale angepasst. Konsequenterweise ändern sich dadurch die Ruhezustände der Gatingvariablen  $m$ ,  $n$ , und  $h$ . Mit Hilfe dieser Anpassungen ergibt das adaptierte Modell eine deutlich stimmigere AP-Dauer bei einer Temperatur von 37 °C (siehe Abb. 3.7).

Analog zum grundlegenden Hodgkin-Huxley-Modell beträgt auch die Dauer des AP beim adaptierten Modell ca. 3 ms bei dessen Referenztemperatur von 23 °C. Diese reduziert sich jedoch bei der für Säugetierneuronen typischen Temperatur von 37 °C auf 1,2 ms. Wie

**Tabelle 3.2:** Parameter des Hodgkin-Huxley-Modells mit für Säugetierneuronen adaptierter Ionenkanalkinetik [Mainen, Sejnowski, 1996; Yu et al., 2012]

Parameter	Wert
Spezifische Membrankapazität $c_m$	0,75 F/m <sup>2</sup>
Nernstpotential $E_{Na}$ für Na <sup>+</sup> -Ionen	60 mV
Nernstpotential $E_K$ für K <sup>+</sup> -Ionen	-90 mV
Nernstpotential $E_L$ für Ionen des Leckstroms	-70 mV
Spezifische Leitfähigkeit $g_{Na}$ der Membran für Na <sup>+</sup> -Ionen	1500 S/m <sup>2</sup>
Spezifische Leitfähigkeit $g_K$ der Membran für K <sup>+</sup> -Ionen	400 S/m <sup>2</sup>
Spezifische Leitfähigkeit $g_L$ der Membran für Ionen des Leckstroms	3,3 S/m <sup>2</sup>
Ruhepotential des Neurons	-75 mV
Ausgangswert der Gatingvariable $m$	0,01
Ausgangswert der Gatingvariable $n$	0,0156
Ausgangswert der Gatingvariable $h$	0,96

im grundlegenden Hodgkin-Huxley-Modell erhöht sich mit steigender Temperatur der im Rahmen der AP-Generierung erzeugte Transmembranstrom (siehe Abb. 3.7b).



**Abbildung 3.7:** Ergebnis des adaptierten Hodgkin-Huxley-Modells nach [Yu et al., 2012] bei variierender Umgebungstemperatur. a) Mit steigender Temperatur verkürzt sich die AP-Dauer von ca. 3 ms bei der Referenztemperatur 23 °C auf ca. 1,2 ms bei 37 °C. b) Im Gegenzug erhöhen sich die zur AP-Generierung notwendigen Amplituden der Transmembranströme bzw. -stromdichten.

Jedoch ergibt sich durch die Adaption der Ionenkanalkinetik eine deutlich bessere Näherung der AP-Dauer als auf Basis des grundlegende Modells mit Temperaturanpassung (vgl. Abbildung 3.6).

Währenddessen bleibt die Amplitude des AP nahezu konstant bei ca. 60 mV. Sowohl die resultierende Amplitude als auch die Dauer des AP sind in guter Übereinstimmung mit gemessenen Daten für Säugetierneuronen. Folglich bietet das für Säugetierneuronen adaptierte Hodgkin-Huxley-Modell nach [Yu et al., 2012] eine deutlich genauere Annäherung an den entsprechenden AP-Verlauf. Zudem bietet dieses Modell die Möglichkeit, den Einfluss von Temperaturänderungen innerhalb des FEM-Modells zu simulieren.

## 3.2 Mathematische Beschreibung neuronaler Signalweiterleitung

Das Hodgkin-Huxley-Modell ermöglicht zwar eine detaillierte Beschreibung der neuronalen AP-Generierung, jedoch aufgrund fehlender Ortsabhängigkeiten lediglich für eine Punktquelle bzw. einen einzelnen Punkt auf der Zellmembran. Um die Ausbreitung eines Aktionspotentials simulieren zu können, ist die Implementierung eines Differentialgleichungssystems notwendig, das sowohl zeit- als auch ortsabhängige Potentialänderungen berechnen kann (vgl. Abbildung 3.1). Für diese Problemstellung sind mit der Kabeltheorie und der Beschreibung auf Basis eines elektro-quasistatischen Differentialgleichungssystems zwei mögliche Ansätze verfügbar.

Das bisherige Standardmodell zur Berechnung der AP-Ausbreitung im Inneren eines Neurons basiert auf der Kabelgleichung (vgl. [Rall, 1962]). Mit ihr kann die Propagation eines AP innerhalb quasi-eindimensionaler neuronaler Geometrien, z.B. innerhalb verzweigter Dendriten- bzw. Axonstrukturen, simuliert werden. Die Gültigkeit der klassischen Kabelgleichung beschränkt sich auf zylinderförmige Geometrien, jedoch können komplexere Strukturen durch *multi-compartment*-Modelle beschrieben werden. Dieser Ansatz ist vergleichbar mit einer Diskretisierung der Modellgeometrie, bei der beispielsweise sich verjüngende Dendriten durch eine Aneinanderreihung mehrerer Zylinderstrukturen mit sukzessiv kleineren Radien angenähert werden (vgl. [Carnevale, Hines, 2006]). Zudem ermöglicht eine erweiterte Form der Kabelgleichung auch rotationssymmetrische Geometrien zu simulieren [Holt, Koch, 1999; Forster et al., 2010; Herrera-Valdez und Suslov, 2010]. Eine weitere Adaption erlaubt die Anwendung der Kabelgleichung auf dreidimensionale Neuronenmodelle [Qu et al., 2000; Fox et al., 2007].

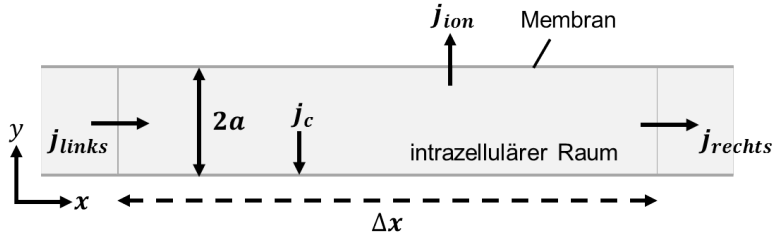
Die stetig gestiegene Rechenkapazität ermöglicht seit einigen Jahren komplexere Neuronenmodelle mit dreidimensionalen Geometrien nachzubilden. Im Zuge dessen wurde ein alternativer Ansatz zur Beschreibung neuronaler AP-Ausbreitung entwickelt, der die Propagation des AP mit Hilfe eines elektro-quasistatischen-Gleichungssystems (EQS) berechnet (vgl. [van Rienen et al., 2003; Schreiber et al., 2004; Flehr, 2007; Moulin et al., 2008; Agudelo-Toro, Neef, 2012; Grein et al., 2014; Joucla et al., 2014; Xylouris, Wittum, 2014]). Dieses Differentialgleichungssystem basiert auf Vereinfachungen der Maxwell-Gleichungen und hat gegenüber der Kabelgleichung den Vorteil, dass es als kontinuierliches räumlich-zeitliches Modell gegenüber dem Ersatzschaltmodell keinerlei Geometriebeschränkungen unterliegt. Somit können mit diesem Ansatz auch asymmetrische Strukturen, wie z.B. adherente Somata, modelliert werden.

Im Folgenden wird sowohl die Herleitung der Kabelgleichung (engl. cable equation, CE), inklusive ihrer Erweiterungen, als auch die Herleitung der EQS-Gleichungen durchgeführt. Zudem werden für beide Ansätze die notwendigen Randbedingungen diskutiert. Im Anschluss daran werden die entsprechenden Differentialgleichungssysteme miteinander verglichen, um die Unterschiede zwischen dem EQS- und CE-basierten Ansatz herauszuarbeiten. Da beide im Gegensatz zum Hodgkin-Huxley-Modell auf dem SI-Einheitensystem basieren, wird für das Transmembranpotential durchgehend die Variable  $\varphi_m$  mit der Ein-

heit 1 V und nicht die Variable  $\varphi_m^*$  mit der Einheit 1 mV verwendet. Zur Vereinfachung der nachfolgenden Terme wird die notwendige Umrechnung nicht explizit in die entsprechenden Gleichungen miteinbezogen.

### 3.2.1 Differentialgleichungssystem der Kabeltheorie

Die Herleitung des klassischen CE-Ansatzes basiert auf der Betrachtung der auftretenden Ströme innerhalb eines zylinderförmigen Axonsegments (siehe Abb. 3.8).



**Abbildung 3.8:** Schema der relevanten elektrischen Stromdichten innerhalb eines Axonsegments mit Radius  $a$  während der AP-Propagation (nach Dayan, Abbott, 2001]).

Hierzu zählen zum einen die bereits aus dem Hodgkin-Huxley-Modell bekannten Transmembranströme  $j_c$  und  $j_{ion}$ , zum anderen die Stromdichten  $j_{links}$  bzw.  $j_{rechts}$ , die entlang der  $x$ -Richtung in das entsprechende Segment hinein- bzw. aus ihm herausfließen. Da das Innere des Neurons frei von Stromquellen oder -senken ist, ergibt die Summe aller Stromdichten null

$$j_c(\varphi_m, t) + j_{ion}(\varphi_m, t) - j_{links} + j_{rechts} = 0. \quad (3.30)$$

Wird das elektrische Feld im Inneren des Neurons als wirbelfrei angenommen (siehe Beweis in Abschnitt 3.2.2), können analog zum Hodgkin-Huxley-Modell sämtliche Stromdichten als Funktion des Transmembranpotentials  $\varphi_m$  beschreiben werden

$$2\pi a \Delta x c_m \frac{\partial \varphi_m}{\partial t} + 2\pi a \Delta x j_{ion} - \frac{\pi a^2}{r_i} \frac{\partial \varphi_m}{\partial x} \Big|_{links} + \frac{\pi a^2}{r_i} \frac{\partial \varphi_m}{\partial x} \Big|_{rechts} = 0. \quad (3.31)$$

Die Stromdichte  $j$  wird mit Hilfe des Ohmschen Gesetz  $j = \sigma E$  und dem Zusammenhang  $E = -\nabla \varphi$  ersetzt. Bei einer eindimensionalen Geometrie vereinfacht sich der Gradient  $\nabla \varphi$  zu  $\partial \varphi / \partial x$ . Die Variable  $a$  definiert den Radius der Axongeometrie,  $r_i$  quantifiziert den spezifischen Widerstand des intrazellulären Mediums in  $\Omega_m$  und  $\Delta x$  beschreibt die Länge des betrachteten Segments. Nach einer Division durch den Term  $\Delta x$  können alle von  $x$  abhängigen Terme auf die rechte Seite der Gleichung gebracht werden

$$2\pi a c_m \frac{\partial \varphi_m}{\partial t} + 2\pi a j_{ion} = \frac{\pi}{r_i \Delta x} \left[ a^2 \frac{\partial \varphi_m}{\partial x} \Big|_{links} - a^2 \frac{\partial \varphi_m}{\partial x} \Big|_{rechts} \right]. \quad (3.32)$$

Wird der  $\lim_{x \rightarrow 0}$  gebildet, lässt sich der Term  $\Delta x$  durch die Ableitung  $\partial / \partial x$  ersetzen

$$2\pi a c_m \frac{\partial \varphi_m}{\partial t} + 2\pi a j_{ion} = \frac{\pi}{r_i} \frac{\partial}{\partial x} \left( a^2 \frac{\partial \varphi_m}{\partial x} \right). \quad (3.33)$$

Für eine zylinderförmige Struktur ist der Radius  $a$  konstant und kann somit auf der rechten Seite vor die Ortsableitung  $\partial/\partial x$  gezogen werden. Im Zuge der Vereinfachung werden beide Seiten mit dem Parameter  $r_m$  erweitert, der den spezifischen Widerstand der Zellmembran in  $\Omega\text{m}^2$  beschreibt. Durch die Erweiterung können Änderungen des Widerstands entlang der Zellmembran bei der Berechnung der AP-Ausbreitung nachgebildet werden. Abschließend können die material- und geometrieabhängigen Parameter als Längenkonstante  $\lambda_n$  bzw. Zeitkonstante  $\tau_n$  zusammengefasst werden. Nach entsprechender Vereinfachung beider Seiten ergibt sich die klassische Form der Kabelgleichung [ Holt, Koch, 1999; Dayan, Abbott, 2001]

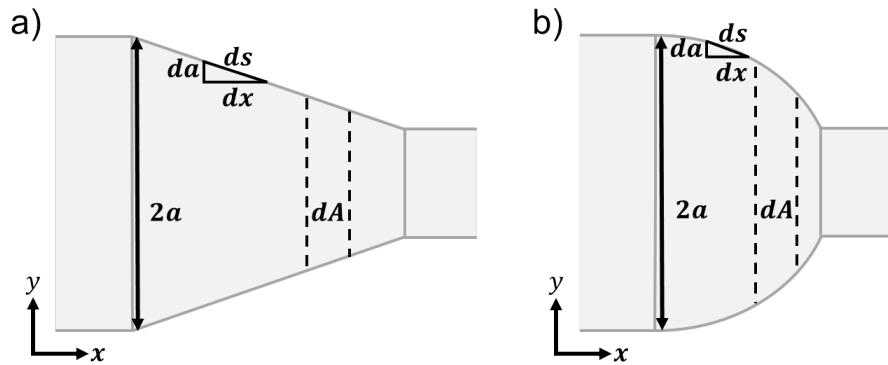
$$\tau_n \frac{\partial \varphi_m}{\partial t} + j_{ion} r_m = \lambda_n^2 \frac{\partial^2 \varphi_m}{\partial x^2}, \quad (3.34)$$

mit

$$\lambda_n = \sqrt{\frac{a r_m}{2 r_i}}, \quad (3.35)$$

$$\tau_n = c_m r_m.$$

Um eine gültige Beschreibung für Geometrien mit ortsabhängigem Radius zu erhalten, muss auf die allgemeinere Gleichung (3.33) zurückgegriffen werden. Diese kann modifiziert werden, so dass auch rotationssymmetrische Strukturen mit variablem Radius  $a(x)$  in Ausbreitungsrichtung lösbar sind. Da sich bei solchen Strukturen das Verhältnis zwischen der Membranoberfläche und dem intrazellulärem Volumen ändert, muss dies innerhalb der Gleichung erfasst werden (siehe Abb. 3.9).



**Abbildung 3.9:** Beispielhafte Schemata rotationssymmetrischer Neuron-Geometrien mit veränderlichem Radius  $a$ .

Die Änderung der Mantel- bzw. Membranoberfläche  $dA/dx$  kann bei einer ausreichend kleinen Schrittweite  $dx$  vereinfacht angenähert werden [Foster et al., 2010; Herrera-Valdez and Suslov, 2010]

$$dA = 2\pi a ds \quad \Rightarrow \quad \frac{dA}{dx} = 2\pi a \frac{ds}{dx}. \quad (3.36)$$

Mit dem Satz des Pythagoras kann der Term  $ds/dx$  durch die Änderung des Radius  $da/dx$

beschrieben werden [Foster et al., 2010; Herrera-Valdez and Suslov, 2010]

$$ds^2 = dx^2 + da^2 \quad \Rightarrow \quad \frac{ds^2}{dx^2} = 1 + \frac{da^2}{dx^2} \quad \Rightarrow \quad \frac{ds}{dx} = \sqrt{1 + \left(\frac{da}{dx}\right)^2}. \quad (3.37)$$

Innerhalb von Gleichung (3.33) muss die Änderung  $dA/dx$  bei den Transmembranströmen auf der linken Seite berücksichtigt werden

$$\left(2\pi a c_m \frac{\partial \varphi_m}{\partial t} + 2\pi a j_{ion}\right) \frac{dA}{dx} = \frac{\pi}{r_i} \frac{\partial}{\partial x} \left(a^2 \frac{\partial \varphi_m}{\partial x}\right). \quad (3.38)$$

Mit Hilfe der Gleichungen (3.36) und (3.37) kann der Term anschließend durch die Änderung des Radius  $da/dx$  ausgedrückt werden

$$\left(2\pi a c_m \frac{\partial \varphi_m}{\partial t} + 2\pi a j_{ion}\right) 2\pi a \sqrt{1 + \left(\frac{da}{dx}\right)^2} = \frac{\pi}{r_i} \frac{\partial}{\partial x} \left(a^2 \frac{\partial \varphi_m}{\partial x}\right). \quad (3.39)$$

Nach Vereinfachung ergibt sich eine mit Gleichung (3.34) vergleichbare Beschreibung

$$\left(\tau_n \frac{\partial \varphi_m}{\partial t} + j_{ion} r_m\right) \sqrt{1 + \left(\frac{da}{dx}\right)^2} = \frac{\lambda_n^2}{a^2} \frac{\partial}{\partial x} \left(a^2 \frac{\partial \varphi_m}{\partial x}\right). \quad (3.40)$$

Für bestimmte Geometrien kann der Term  $da/dx$  mit Hilfe einer mathematischen Funktion berechnet werden. Für einen Konus ist dies eine einfache Geradenfunktion  $a = mx$  (vgl. Abbildung 3.9a), für kugelförmige Geometrien kann der variierende Radius auf Basis des Kugelmittelpunkts  $(x_c, y_c, z_c)^T$  bestimmt werden (vgl. Abbildung 3.9b)

$$a^2 = (x - x_c)^2 + (y - y_c)^2 + (z - z_c)^2. \quad (3.41)$$

Sowohl die klassische Kabelgleichung (3.34) als auch deren verallgemeinerte Variante (3.40) sind jedoch nur für eindimensionale Strukturen gültig. Um eine AP-Ausbreitung innerhalb eines dreidimensionalen Neurons zu beschreiben, müssen beide Gleichungen des CE-Ansatzes auf drei Raumdimensionen erweitert werden [Qu et al., 2000; Fox et al., 2007]. Dies ergibt für Gleichung (3.34)

$$\tau_n \frac{\partial \varphi_m}{\partial t} + j_{ion} r_m = \lambda_n^2 \nabla \cdot \nabla \varphi_m \quad (3.42)$$

und analog für Gleichung (3.40)

$$\left(\tau_n \frac{\partial \varphi_m}{\partial t} + j_{ion} r_m\right) \sqrt{1 + \left(\frac{da}{dx}\right)^2} = \frac{\lambda_n^2}{a^2} \nabla \cdot (a^2 \nabla \varphi_m). \quad (3.43)$$

Die beiden Gleichungen (3.42) und (3.43) ermöglichen die Berechnung der AP-Ausbreitung innerhalb einer neuronalen 3D-Geometrie. Erstere ist hierbei für zylindrische Strukturen, z.B. Dendriten oder Axone, letztere für rotationssymmetrische Strukturen, wie z.B. ein

kugelförmiges Soma und dessen Übergänge anwendbar. Die aus dem Hodgkin-Huxley-Modell berechneten Transmembranströme werden in beiden Fällen für die Variable  $j_{ion}$  eingesetzt, wodurch letzten Endes AP-Generierung und AP-Ausbreitung verknüpft werden.

### Membran-Randbedingung des CE-basierten Modells

Die Zellmembran übernimmt zum einen die Funktion den intra- und extrazellulären Raum voneinander zu trennen, zum anderen findet hier der Prozess der AP-Generierung über die integrierten Ionenkanäle statt. Aufgrund der geringen Ausdehnung der Zellmembran, mit einer Dicke von lediglich 10 nm, ist die Berechnung des Potentialverlaufs innerhalb der Zellmembran nicht ohne weiteres möglich, da es die Komplexität der Neuronengeometrie innerhalb des FEM-Modells signifikant erhöhen würde. Um diese Problematik zu umgehen wird zur Modellierung der Zellmembran stattdessen die Methode der Dünnschichtapproximation verwendet, bei der die Membran als zwei, einander überlappende Ränder beschrieben wird [Moulin et al., 2008; Joucla et al., 2014]. Entlang dieser Grenzschicht wird das orts- und zeitabhängige Hodgkin-Huxley-System gelöst und die Ionenstromdichten bestimmt, die vom einen in den anderen Raum fließen (vgl. Abbildung 3.1). Da die Zellmembran selbst keine Stromquelle, sondern lediglich ein Gatter darstellt, ist die Summe aller hinein- bzw. herausfließenden Ströme stets gleich groß. Im Rahmen der Dünnschichtapproximation ergibt sich daraus die grundlegende mathematische Bedingung für die Grenzschicht [Moulin et al., 2008; Joucla et al., 2014]

$$\mathbf{n}_i \cdot \mathbf{j}_i = -\mathbf{n}_e \cdot \mathbf{j}_e = -j_m. \quad (3.44)$$

Die Größen  $\mathbf{n}_{i,e}$  definieren die Normalenvektoren der inneren bzw. äußeren Randbedingung. Die Stromdichte  $j_m$  quantifiziert die mit Hilfe des Hodgkin-Huxley-Modells berechnete Transmembranstromdichte aus Gleichung (3.1). Über die Vorzeichen der Terme wird die Richtung des Transmembranstroms analog zum Hodgkin-Huxley-Modell definiert, so dass positive Stromdichten einen Fluss von innen nach außen beschreiben.

Bei der Modellierung der AP-Ausbreitung mit Hilfe der Kabelgleichung ist der Ionenstrom, der in das Neuron fließt, bereits auf der linken Seite in Gleichung (3.42) und (3.43) berücksichtigt. Deshalb muss auf der inneren Seite der Membran eine Null-Randbedingung implementiert werden

$$\mathbf{n}_i \cdot \mathbf{j}_i = \mathbf{n}_i \cdot \sigma_i \nabla \varphi_i = 0. \quad (3.45)$$

Die Stromdichte  $j_i$  definiert hierbei den Gradienten des intrazellulären Potentials  $\nabla \varphi_i$  unter Berücksichtigung der spezifischen Leitfähigkeit des intrazellulären Raums  $\sigma_i$ . Im Gegensatz zur inneren Randbedingung wird der resultierende Stromfluss in den extrazellulären Raum explizit als Bedingung für den äußeren Rand definiert

$$\mathbf{n}_e \cdot \mathbf{j}_e = \mathbf{n}_e \cdot \sigma_e \nabla \varphi_e = j_m. \quad (3.46)$$

Die beiden Randbedingungen der Zellmembran auf Basis der Dünnschicht-Approximation stellen die Verbindung zwischen der intrazellulären und der extrazellulären Domäne des

FEM-Modells her. Zudem verknüpfen sie das intra- und extrazelluläre Potential  $\varphi_{i,e}$  mit dem Transmembranpotential  $\varphi_m$ .

### 3.2.2 Elektro-quasistatisches Differentialgleichungssystem

Der EQS-Ansatz zur Simulation einer neuronalen AP-Ausbreitung basiert auf den vier Maxwell-Gleichungen. Diese beinhalten das Gaußsche Gesetz:

$$\nabla \cdot \mathbf{D} = \rho, \quad (3.47)$$

das Gaußsche Gesetz für Magnetfelder:

$$\nabla \cdot \mathbf{B} = 0, \quad (3.48)$$

das Induktionsgesetz:

$$\nabla \times \mathbf{E} = -\frac{\partial \mathbf{B}}{\partial t}, \quad (3.49)$$

sowie das erweiterte Durchflutungsgesetz:

$$\nabla \times \mathbf{H} = \frac{\partial \mathbf{D}}{\partial t} + \mathbf{j}. \quad (3.50)$$

Ergänzt werden die Gleichungen (3.47)-(3.50) durch die Materialbeziehungen  $\mathbf{D} = \varepsilon \mathbf{E}$  und  $\mathbf{B} = \mu \mathbf{H}$ . Damit eine vereinfachte elektro-quasistatische Formulierung zur Beschreibung einer neuronalen AP-Ausbreitung gültig ist, müssen zwei Voraussetzungen erfüllt sein. Einerseits müssen freie Ladungen, die durch die Transmembranströme in das Neuron fließen, quasi-instantan ausgeglichen werden [Lindsay et al., 2004]. Darüber hinaus dürfen sich die vorhandenen Magnetfelder innerhalb des Simulationszeitraums nicht verändern, bzw. darf deren Vernachlässigung zu keinen signifikanten Fehlern führen [van Rienen et al., 2003; Lindsay et al., 2004].

Die erste Bedingung kann auf Basis der Kontinuitätsgleichung überprüft werden, die sich mit Hilfe des erweiterten Durchflutungsgesetzes herleiten lässt. Durch Anwendung der Divergenz wird der linke Term von Gleichung (3.50) zu null

$$\nabla \cdot \nabla \times \mathbf{H} = 0 = \nabla \cdot \frac{\partial \mathbf{D}}{\partial t} + \nabla \cdot \mathbf{j}. \quad (3.51)$$

Durch Einsetzen von Gleichung (3.47) in Gleichung (3.51) ergibt sich die Kontinuitätsgleichung des Elektromagnetismus

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} + \nabla \cdot \mathbf{j} = 0. \quad (3.52)$$

Unter Anwendung des Ohmschen Gesetzes  $\mathbf{j} = \sigma \mathbf{E}$  und mit Hilfe von Gleichung (3.47) kann der zweite Term in Gleichung (3.52) bei einer konstanten Leitfähigkeit  $\sigma$  als Ausdruck



der Ladungsdichte  $\rho$  beschrieben werden

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} + \nabla \cdot \mathbf{j} = \frac{\partial \rho}{\partial t} + \nabla \cdot \sigma \mathbf{E} = \frac{\partial \rho}{\partial t} + \sigma \nabla \cdot \frac{\mathbf{D}}{\varepsilon} = \frac{\partial \rho}{\partial t} + \frac{\sigma}{\varepsilon} \rho = 0. \quad (3.53)$$

Es ergibt sich eine gewöhnliche Differentialgleichung erster Ordnung, die eine analytische Lösung in Form einer zeitabhängigen Exponentialfunktion hat

$$\rho(t) = \rho_0 e^{\frac{t}{\tau_\rho}}. \quad (3.54)$$

Der Wert des Exponenten der Exponentialfunktion strebt in Abhängigkeit der Zeitkonstanten  $\tau_\rho$  gegen 0. Die Zeitkonstante ist ein materialabhängiger Parameter und mit  $\tau_\rho = \varepsilon/\sigma$  von der elektrischen Leitfähigkeit  $\sigma$  bzw. Permittivität  $\varepsilon$  des intrazellulären Mediums abhängig. Wird eine Leitfähigkeit von  $\sigma = 3 \text{ S/m}$  sowie eine relative Permittivität  $\varepsilon_r = 88$  angenommen, ergibt sich für  $\tau_\rho$  ein Wert von ca.  $2,5 \cdot 10^{-10} \text{ s}$ . Das Ergebnis zeigt, dass in den intrazellulären Raum eintretende Ladungen in weniger als einer Nanosekunde ausgeglichen werden. Da sämtliche Prozesse bei der Generierung bzw. Weiterleitung eines neuronalen AP im Mikrosekundenbereich stattfinden, kann folglich von einer instantanen Kompensation freier Ladungen innerhalb des Neurons ausgegangen werden.

Für die zweite Bedingung muss überprüft werden, ob auftretende Magnetfelder innerhalb des Betrachtungszeitraums der Simulation einen signifikanten Einfluss auf das Ergebnis des Systems haben oder dessen Ausprägung so gering ist, dass diese vernachlässigt werden können. Dies erfordert eine Fehlerabschätzung auf Basis des vollständigen Maxwell-Gleichungssystems unter Berücksichtigung der auftretenden Zeit- bzw. Längeneinheiten [van Rienen et al., 2003; Lindsay et al., 2004].

Im Rahmen dieser Abschätzung werden die Differentialoperatoren in den Maxwell-Gleichungen durch Differenzenquotienten mit der charakteristischen Länge  $L$  des Modells und der charakteristischen Zeiteinheit  $\tau$  ersetzt. Wird der Verschiebungsstrom  $\mathbf{j}$  in Gleichung (3.49) vernachlässigt, ergeben sich für die Gleichungen (3.47), (3.49) und (3.50) folgende Vereinfachungen:

$$\nabla \cdot \mathbf{D} = \rho \quad \Rightarrow \quad \frac{\mathbf{D}}{L} = \frac{\varepsilon \mathbf{E}}{L} \rho \quad \Rightarrow \quad \mathbf{E} = \frac{L \rho}{\varepsilon} \quad (3.55)$$

$$\nabla \times \mathbf{E} = -\frac{\partial \mathbf{B}}{\partial t} \quad \Rightarrow \quad \frac{\mathbf{E}}{L} = -\frac{\mathbf{B}}{\tau} = \frac{\mu \mathbf{H}}{\tau} \quad \Rightarrow \quad \mathbf{H} = \frac{\tau \mathbf{E}}{\mu L} \quad (3.56)$$

$$\nabla \times \mathbf{H} = \frac{\partial \mathbf{D}}{\partial t} \quad \Rightarrow \quad \frac{\mathbf{H}}{L} = \frac{\mathbf{D}}{\tau} \quad \Rightarrow \quad \mathbf{H} = \frac{L \mathbf{D}}{\tau} = \frac{\varepsilon L \mathbf{E}}{\tau}. \quad (3.57)$$

Zur Weiterentwicklung der Abschätzung des vollständigen Maxwell-Gleichungssystems werden die Gleichungen (3.55) und (3.57) zusammengeführt

$$\mathbf{H} = \frac{\varepsilon L \mathbf{E}}{\tau} = \frac{L^2 \rho}{\tau}. \quad (3.58)$$

Wird der resultierende Term in Gleichung (3.56) eingesetzt, kann diese nach der elektrischen Feldstärke  $\mathbf{E}$  aufgelöst werden

$$\frac{L^2 \rho}{\tau} = \frac{\tau \mathbf{E}}{\mu L} \quad \Rightarrow \quad \mathbf{E} = \frac{L^3 \mu \rho}{\tau^2}. \quad (3.59)$$

Die sich ergebende Gleichung (3.59) stellt eine Abschätzung der elektrischen Feldstärke  $\mathbf{E}$  auf Basis des vollständigen Maxwell-Gleichungssystems dar. Wird hingegen die zeit- und ortsabhängige Änderung des Magnetfelds nicht berücksichtigt, d.h. ein vereinfachtes elektro-quasistatisches System angenommen, wird die elektrische Feldstärke  $\mathbf{E}_{\text{EQS}}$  lediglich durch Gleichung (3.55) bestimmt. Die sich daraus ergebende Abweichung beider Abschätzungen, kann durch den Quotienten der Gleichungen (3.59) und (3.55) ermittelt werden

$$\mathbf{E}_{\text{Fehler}} = \frac{\mathbf{E}}{\mathbf{E}_{\text{EQS}}} = \frac{\frac{L^3 \mu}{\rho / \tau^2}}{\frac{L \rho}{\varepsilon}} = \frac{\varepsilon \mu L^2}{\tau^2}. \quad (3.60)$$

Eine Abschätzung mit den Werten  $\mu_r = 1$  und  $\varepsilon_r = 88$  für das intrazelluläre Medium sowie die für ein Neuron typischen Größenordnungen  $L = 10^{-4}$  m und  $\tau = 10^{-6}$  s ergibt eine resultierende Abweichung  $\mathbf{E}_{\text{Fehler}}$  von ca.  $1 \cdot 10^{-11}$ . Dies bedeutet, dass während der AP-Ausbreitung nicht nur von einer instantanen Kompensation freier Ladungen ausgegangen werden kann, sondern hierbei auch der Einfluss des magnetischen Feldes innerhalb des Neuronenmodells vernachlässigbar ist.

Da beide Bedingungen erfüllt sind, ist eine vereinfachte Beschreibung der neuronalen AP-Ausbreitung mit einem EQS-Ansatz gültig. Folglich kann die AP-Ausbreitung innerhalb des Neurons durch folgende Adaption der Kontinuitätsgleichung (3.51) beschrieben werden

$$\nabla \cdot \frac{\partial \mathbf{D}}{\partial t} + \nabla \cdot \mathbf{j} = \nabla \cdot \varepsilon_i \frac{\partial \mathbf{E}_{\text{EQS}}}{\partial t} + \nabla \cdot \sigma_i \mathbf{E}_{\text{EQS}} = \nabla \cdot \left( \varepsilon_i \frac{\partial \mathbf{E}_{\text{EQS}}}{\partial t} + \sigma_i \mathbf{E}_{\text{EQS}} \right) = 0. \quad (3.61)$$

Da kein signifikanter Einfluss des Magnetfelds besteht, kann das Vektorfeld der elektrischen Feldstärke  $\mathbf{E}_{\text{EQS}}$  als wirbelfrei angenommen werden. Dies erlaubt die Beschreibung des elektrischen Feldes als Ausdruck des intrazellulären Potentials  $\varphi_i$  über den Zusammenhang  $\mathbf{E}_{\text{EQS}} = -\nabla \varphi_i$ . Dadurch kann in Gleichung (3.61) die vektorielle Größe der elektrischen Feldstärke mittels des Skalarfeldes des intrazellulären Potentials ersetzt werden

$$\nabla \cdot \left( \varepsilon_i \nabla \frac{\partial \varphi_i}{\partial t} + \sigma_i \nabla \varphi_i \right) = 0. \quad (3.62)$$

Mit Hilfe dieser Gleichung wird die Ausbreitung eines AP innerhalb des intrazellulären Raums unter Berücksichtigung der Materialparameter  $\sigma_i$  und  $\varepsilon_i$  vollständig beschrieben. Über das intrazelluläre Potential  $\varphi_i$  ist zudem der Zusammenhang zum Transmembranpotential durch die Berechnungsvorschrift  $\varphi_m = \varphi_i - \varphi_e$  hergestellt.

### Membran-Randbedingung des EQS-Modells

Analog zum CE-basierten Modell wird die Membran des Neurons mit Hilfe der Dünnschichtapproximation als zwei sich überlappende Ränder beschrieben. Anders als in den Gleichungen (3.42) bzw. (3.43) des CE-Ansatzes beinhaltet jedoch die Gleichung (3.63) des EQS-Ansatzes nicht die Stromdichten  $j_i$ , die über die innere Seite der Membran in den intrazellulären Raum fließen. Aus diesem Grund ergibt sich für die innere Randbedingung des EQS-basierten Modells eine andere Formulierung mit

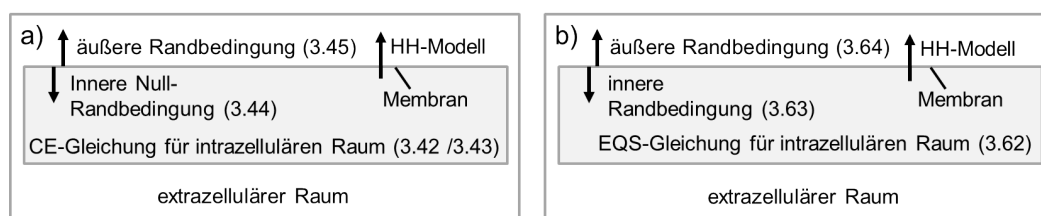
$$\mathbf{n}_i \cdot \mathbf{j}_i = \mathbf{n}_i \cdot \sigma_i \nabla \varphi_i = -j_m. \quad (3.63)$$

Die äußere Randbedingung der Zellmembran und damit die Verknüpfung zum extrazellulären Raum ist in beiden Ansätzen identisch

$$\mathbf{n}_e \cdot \mathbf{j}_e = \mathbf{n}_e \cdot \sigma_e \nabla \varphi_e = j_m. \quad (3.64)$$

### 3.2.3 Gegenüberstellung der Differentialgleichungssysteme

Auf den ersten Blick unterscheiden sich das EQS- und CE-basierte Modell grundsätzlich voneinander. Sowohl die grundlegende Gleichung im intrazellulären Raum als auch die Verknüpfung der Ansätze mit dem Hodgkin-Huxley-Modell weichen stark voneinander ab und lediglich die Verknüpfung zwischen dem intra- und extrazellulären Raum über die äußere Randbedingung ist identisch (vgl. Abbildung 3.10).



**Abbildung 3.10:** Schema der verwendeten mathematischen Gleichungen innerhalb des CE-Modells in a) und des EQS-Modells in b). Die äußere Randbedingung der Membran durch Gleichung (3.64) bzw. (3.45) ist identisch, jedoch unterscheidet sich die Beschreibung der AP-Ausbreitung im intrazellulären Raum signifikant.

Die Grundgleichung des CE-Ansatzes umfasst nicht nur den intrazellulären Raum, sondern auch die Innenseite der Membran. Folglich ergibt sich für das CE-basierte Modell eine Null-Randbedingung an der Membraninnenseite. Zudem erfolgt die Berechnung der AP-Ausbreitung nicht auf Basis des intrazellulären Potentials  $\varphi_i$ , sondern in Anlehnung an das Hodgkin-Huxley-Modell über das Transmembranpotential  $\varphi_m$ . Als Konsequenz der Verknüpfung von Membranoberfläche und intrazellulärem Volumen, muss das Verhältnis der beiden Geometrieparameter berücksichtigt werden. Während dies bei Geometrien mit konstantem Verhältnis mittels Gleichung (3.42) problemlos möglich ist, erfordert dies bei komplexeren Geometrien eine zusätzliche Bestimmung der Änderung des Oberflächen-Volumen-Verhältnisses durch die adaptierte Gleichung (3.43).

Im Gegensatz dazu werden geometrische Parameter innerhalb des EQS-Ansatzes ohne zusätzliche Schritte berücksichtigt, da sowohl die intrazelluläre AP-Ausbreitung als auch die über die Membran einfließenden Stromdichten durch getrennte Gleichungen bestimmt werden. Die entsprechende Formulierung erfolgt zunächst kontinuierlich in Raum und Zeit, bevor sie, z.B. mit Hilfe der FEM, zur numerischen Lösung diskretisiert werden.

Obwohl Struktur und Herleitung der beiden Ansätze sehr unterschiedlich sind, zeigt sich, dass das EQS-Gleichungssystem unter Annahme einer zylindrischen Axongeometrie in das CE-Gleichungssystem überführt werden kann. Die erste hierfür zu treffende Annahme ist, dass sich das intrazelluläre Medium rein resistiv verhält und kapazitive Eigenschaften vernachlässigt werden können (vgl. [Ayache, 2004]). Dadurch vereinfacht sich Gleichung (3.62) zu

$$\nabla \cdot \sigma_i \nabla \varphi_i = 0. \quad (3.65)$$

Im nächsten Schritt gilt es die Stromdichten, die über den inneren Rand der Membran in den intrazellulären Raum fließen, in die Berechnung der AP-Ausbreitung zu integrieren. Das heißt Gleichung (3.65) muss mit der inneren Randbedingung des EQS-Ansatzes (3.63) verknüpft werden. Hierfür wird zunächst ein beliebiger Abschnitt der neuronalen Geometrie mit einem Volumen  $d\Omega$  und der dazugehörigen Membranoberfläche  $d\Gamma$  definiert. Da der intrazelluläre Raum als rein resistiv und quellenfrei angenommen wird, können elektrische Ströme bzw. Stromdichten  $j_i$  im intrazellulären Raum nur durch entsprechende Transmembranstromdichten  $j_m$  erzeugt werden [Ayache, 2004]

$$\nabla \cdot j_i d\Omega = j_m d\Gamma. \quad (3.66)$$

Für jeden Abschnitt der Neurongeometrie kann zudem das Verhältnis  $S = d\Gamma/d\Omega$  zwischen Volumen und Membranoberfläche definiert werden. Wird eine zylindrische Geometrie angenommen, die ein konstantes Verhältnis  $S$  aufweist, ergibt sich durch Einsetzen von  $S$

$$\frac{1}{S} \nabla \cdot j_i = \frac{1}{S} \nabla \sigma_i \cdot \nabla \varphi_i = j_m = c_m \frac{\partial \varphi_m}{\partial t} + j_{ion}. \quad (3.67)$$

Mit Hilfe des Zusammenhangs  $\varphi_m = \varphi_i - \varphi_e$  kann im nächsten Schritt das intrazelluläre Potential  $\varphi_i$  durch das Transmembranpotential  $\varphi_m$  ersetzt werden

$$\frac{1}{S} \nabla \cdot \sigma_i \nabla (\varphi_m + \varphi_e) = c_m \frac{\partial \varphi_m}{\partial t} + j_{ion}. \quad (3.68)$$

Eine zylindrische Geometrie mit Radius  $a$  und Länge  $h$  besitzt die Mantelfläche  $O = 2\pi ah$  und das Zylindervolumen  $V = \pi a^2 h$ . Das resultierende Verhältnis  $S$  beträgt somit  $S = O/V = 2/a$ . Wird der Beitrag des extrazellulären Potentials  $\varphi_e$  vernachlässigt, ergibt das Ersetzen von  $S$  die Gleichung (vgl. [Keener, Sneyd, 1998])

$$\sigma_i \frac{1}{2/a} \nabla \cdot \nabla \varphi_m = c_m \frac{\partial \varphi_m}{\partial t} + j_{ion}. \quad (3.69)$$

In einem letzten Schritt kann die intrazelluläre Leitfähigkeit  $\sigma_i$  durch den spezifischen Widerstand  $r_i$  ersetzt und beide Seiten der Gleichung mit dem spezifischen Widerstand

der Zellmembran  $r_m$  erweitert werden. Nach Umformung entspricht das Resultat der Gleichung (3.42) des CE-Ansatzes

$$\frac{ar_m}{2r_i} \nabla \cdot \nabla \varphi_m = c_m r_m \frac{\partial \varphi_m}{\partial t} + j_{ion} r_m \quad \Rightarrow \quad \lambda^2 \nabla \cdot \nabla \varphi_m = \tau_n \frac{\partial \varphi_m}{\partial t} + j_{ion} r_m. \quad (3.70)$$

Es zeigt sich, dass der CE-Ansatz lediglich ein Spezialfall des allgemeineren EQS-Ansatzes ist. Dies gilt zumindest in eingeschränkter Form auch für die erweiterte Gleichung (3.43), welche die AP-Ausbreitung innerhalb rotationssymmetrischer Strukturen mit Hilfe des CE-Ansatzes erlaubt. Änderungen des Verhältnisses zwischen Membranoberfläche und intrazellulärem Volumen werden in Gleichung (3.43) durch räumliche Ableitung des Radius beschrieben. Innerhalb eines diskretisierten FEM-Modells ist die Genauigkeit dieser Beschreibung jedoch stark von der verwendeten Ortsdiskretisierung abhängig. Dies bedeutet, dass starke Änderungen des Radius  $a$  zu potentiellen Abweichungen zwischen EQS- und CE-Ansatz führen können. Ursachen für mögliche Abweichungen zwischen beiden Ansätzen sind darüber hinaus die Vernachlässigung des extrazellulären Potentials sowie der Permittivität des intrazellulären Raums innerhalb des CE-Ansatzes.

## 3.3 Modellierung der extrazellulären Umgebung

Um die Messung der elektrischen Aktivität eines Neurons mittels extrazellulärer Elektroden zu modellieren, muss die bei der Aktivität entstehende Potentialverteilung im extrazellulären Raum mathematisch beschrieben werden. Aufgrund der Geometriebeschränkungen des CE-Ansatzes ist dieser nicht zur Beschreibung des extrazellulären Raums geeignet. Allerdings kann sowohl für das CE- als auch für das EQS-basierte Modell eine elektro-quasistatische Beschreibung innerhalb des extrazellulären Raums implementiert werden. Als Modellierungsgrundlage für die elektrischen Eigenschaften des extrazellulären Mediums sowie für die Randbedingungen des extrazellulären Raums wird der in Abschnitt 2.5 vorgestellte MEA-Chip herangezogen. Innerhalb des FEM-Modells wird jedoch lediglich ein kleiner Ausschnitt in der Umgebung einer einzelnen Elektrode modelliert, da eine Simulation des vollständigen MEA-Elektrodenfeldes entweder zu einem extrem hohen Rechenaufwand oder zu nicht vertretbaren Einschränkungen in der räumlichen Auflösung des FEM-Modells führen würde.

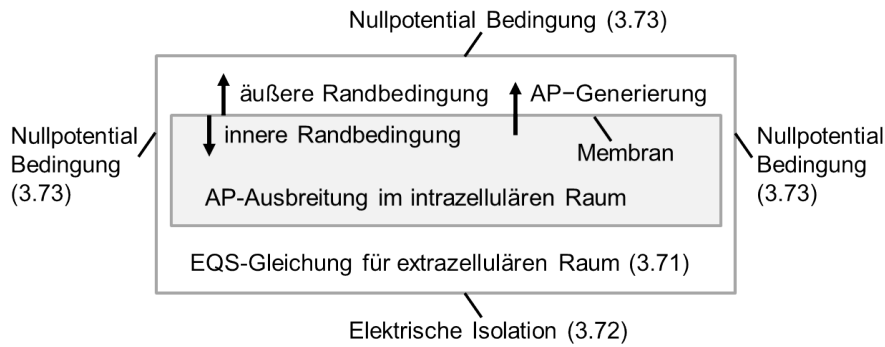
### 3.3.1 Extrazellulärer Raum

Das verwendete Nährmedium einer neuronalen *in vitro* Kultur auf einem MEA-Chip ist der extrazellulären Flüssigkeit im lebenden Organismus nachempfunden. Es ist eine mit Ionen versetzte, wässrige Elektrolytlösung, die vergleichbare elektrische Eigenschaften wie das Medium im intrazellulären Raum aufweist. Folglich kann auch die Verteilung des extrazellulären Potentials auf Basis von Gleichung (3.63) beschrieben werden [Moulin et

al., 2008; Agudelo-Toro and Neef, 2013; Joucla et al., 2014]

$$\nabla \cdot \left( \varepsilon_e \nabla \frac{\partial \varphi_e}{\partial t} + \sigma_e \nabla \varphi_e \right) = 0. \quad (3.71)$$

Wie für den intrazellulären Raum bestimmen die Parameter  $\varepsilon_e$  und  $\sigma_e$  die Permittivität und die elektrische Leitfähigkeit des extrazellulären Mediums. Da auch dieser Teil des Raums grundsätzlich quellenfrei ist und elektrische Ströme lediglich über entsprechende Randbedingungen in den Raum fließen können, ergeben die Terme in Gleichung (3.71) in Summe null. Die Verknüpfung zum intrazellulären Raum ergibt sich über die äußere Randbedingung der Zellmembran durch Gleichung (3.45) bzw. (3.64). Dadurch wird der über die Membran generierte Transmembranstrom in den extrazellulären Raum des Modells übertragen. Abgesehen von dieser Randbedingung müssen auch die äußeren Ränder des Modells definiert werden (siehe Abb. 3.11).



**Abbildung 3.11:** Schema der verwendeten Gleichungen zur Beschreibung des extrazellulären Raums

Der Großteil des Bodens des MEA-Chips besteht aus einem nicht leitenden Glassubstrat, so dass für den unteren Rand des extrazellulären Raum eine elektrisch isolierende Randbedingung definiert werden kann

$$\mathbf{n}_e \cdot \mathbf{j}_e = \mathbf{n}_e \cdot \sigma_e \nabla \varphi_e = 0. \quad (3.72)$$

Die übrigen Ränder an der Außenseite des Modells stellen den Übergang des simulierten Ausschnitts zum Rest der Kavität des MEA-Chips dar. Das Medium innerhalb der Kavität wird über eine Referenzelektrode auf ein Nullpotential gelegt. Aufgrund der Leitfähigkeit des Mediums kann am Übergang zwischen dem modellierten Ausschnitt und dem übrigen extrazellulären Raum der Kavität näherungsweise ein angelegtes Massepotential von 0 V angenommen werden [Moulin et al., 2008]

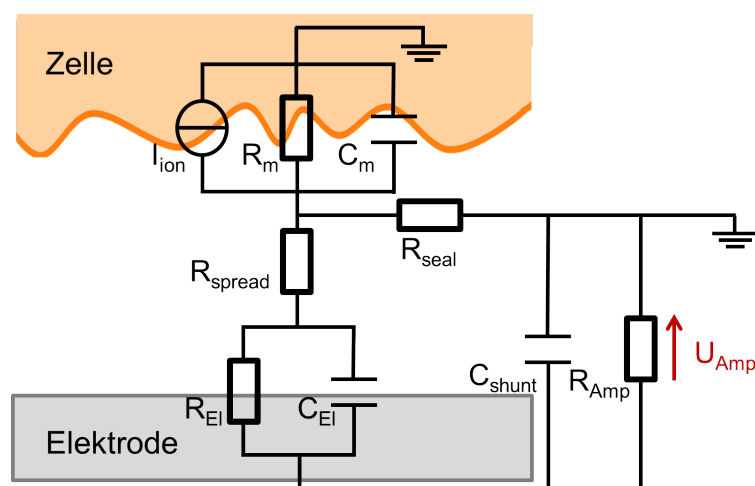
$$\varphi_e = 0. \quad (3.73)$$

Zusammen mit den entsprechenden Gleichungen zur Beschreibung der AP-Generierung und -Ausbreitung kann dieses Modell bereits die resultierenden elektrischen Ströme und Potentialfelder eines Neurons in einer *in vitro* Kultur simulieren. Es bildet das mathematische Grundgerüst für die Charakterisierung des FEM-Modells in Kapitel 5 sowie den

Vergleich zwischen dem EQS-basierten Ansatz und dem dem immer noch weit verbreiteten CE-basierten Modell.

### 3.3.2 Extrazelluläre Messelektroden

Um die extrazelluläre Ableitung neuronaler Signale nachzubilden, die Einbettung einer Elektrode innerhalb des Glassubstrats erforderlich. Hierfür kann ein Ausschnitt am unteren Rand des Modells mit veränderter Randbedingung definiert werden. Dieser Ansatz wurde bereits zur Implementierung extrazellulärer Elektroden innerhalb eines dreidimensionalen FEM-Modells verwendet und kann sowohl zur Realisierung von Stimulations- als auch von Messelektroden angewandt werden [Joucla et al., 2014; Appali et al., 2015]. Die entsprechende Randbedingung für Stimulationselektroden besteht dabei aus einer definierten Stimulationsspannung bzw. -Stromdichte und erfolgt analog zu den Randbedingungen in Gleichung (3.72) bzw. (3.73). Im Gegensatz dazu ist die Implementierung einer Messelektrode komplexer. Bisherige Modelle verfügen zwar meist über eine detaillierte Nachbildung des Neurons, leiten jedoch ein sich ergebendes Elektrodenpotential mit Hilfe einer Punktquellen-Approximation ab (engl. *point source approximation*) [Gold et al., 2006; Obien et al., 2015]. Vereinfachte Simulationen der Neuron-Elektroden-Kopplung beschreiben hingegen sowohl Neuron als auch Elektrode in Form von elektrischen Ersatzschaltungen [Martinoia et al., 2004; Massobrio et al., 2016; Nick et al., 2017]. Auf Basis dieses Ersatzschaltbildes können auch die verschiedenen Faktoren veranschaulicht werden, die bei der Beschreibung einer Messelektrode relevant sind (siehe Abb. 3.12).



**Abbildung 3.12:** Elektrisches Ersatzschaltbild der Kopplung zwischen Neuron und extrazellulärer Elektrode. Die extrazelluläre Ableitung des neuronalen AP, die am Eingang des Verstärkers als  $U_{Amp}$  gemessen wird, ist das Resultat einer elektrischen Schaltung aus Strom- und Spannungsteiler (nach [Nick, 2015; Massobrio et al., 2016]).

Der obere Bereich des Ersatzschaltbildes beschreibt die Eigenschaften der Zellmembran des Neurons und weist große Ähnlichkeit zum Ersatzschaltbild des Hodgkin-Huxley-Modells auf (siehe Abb. 3.2). Jedoch wird in dieser Darstellung die Summe der einzelnen

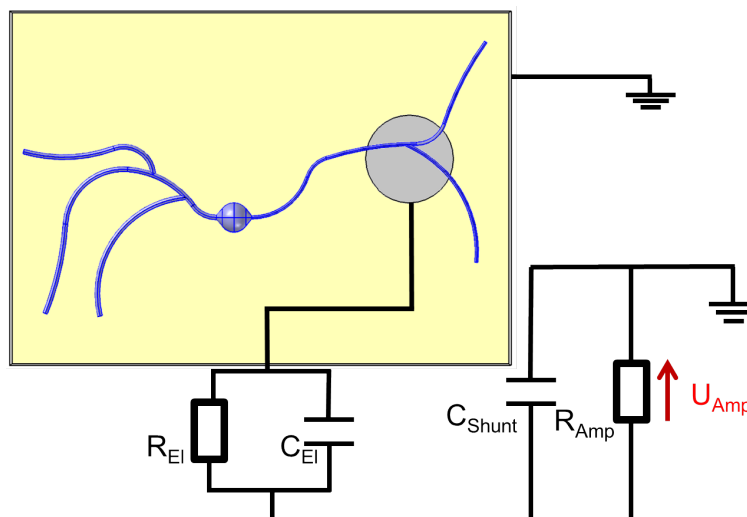
Ionenströme in der Variable  $I_{ion}$  gebündelt und ein Teil des Leckstroms  $I_L$  mit Hilfe des passiven Widerstands  $R_m$  beschrieben.

Der über die Zellmembran generierte Ionenstrom  $I_{ion}$  wird über einen Stromteiler in zwei Teilströme aufgeteilt. Ein Teil des generierten Stroms fließt über den Widerstand  $R_{seal}$  direkt zur Masse ab. Dieser Widerstand wird vom physikalischen Kontakt zwischen Neuron und Messelektrode sowie von der Größe des Spalts definiert, der die Kavität zwischen Zelle und Elektrode und dem geerdeten, restlichen extrazellulären Raum verbindet. Je besser die Zelle auf der Elektrode adheriert, desto größer ist der resultierende Widerstand  $R_{seal}$  und desto geringer sind die Verlustströme in den extrazellulären Raum. Der zweite Teilstrom wird über die Messelektrode, die durch die Kapazität  $C_{El}$  und den Widerstand  $R_{El}$  definiert ist, zum Eingang des Messverstärkers abgeleitet. Diese beiden Schaltungselemente beschreiben nicht nur die Impedanz der Elektrode, sondern auch die elektrochemische Doppelschicht, die sich am Übergang zwischen extrazellulärem Medium und Elektrode bildet. Der materialspezifische Widerstand des extrazellulären Mediums wird durch die Komponente  $R_{spread}$  berücksichtigt, der i.d.R. jedoch signifikant kleiner ist als die übrigen Elemente des Ersatzschaltbildes. Mit Hilfe der Kapazität  $C_{shunt}$  werden kapazitive Verlustströme entlang der Leiterbahn zum Verstärker berücksichtigt. Werden die Leitungswiderstände der Leiterbahn vernachlässigt, bildet diese Kapazität eine Parallelschaltung mit dem hochohmigen Eingangswiderstand des Verstärkers  $R_{Amp}$ , an dem das letztendlich gemessene Spannungssignal  $U_{Amp}$  abfällt. Die Impedanz der Elektrode mit  $C_{El}$  und  $R_{El}$  und die aus  $C_{shunt}$  und  $R_{Amp}$  resultierende Impedanz ergeben einen Spannungsteiler, der das Verhältnis zwischen gemessener Spannung  $U_{Amp}$  und dem Spannungsverlust an der Elektrode definiert.

In der Summe ergibt sich ein komplexes Verhalten durch das Zusammenspiel von Strom- und Spannungsteiler, das mit Hilfe des Ersatzschaltbild-Modells detailliert analysiert werden kann. Simulationen zeigen, dass hauptsächlich die beiden Parameter  $R_{seal}$  und  $R_{Amp}$  die resultierende Signalamplitude beeinflussen (vgl. [Martinoia et al., 2004; Nick, 2015]). Der Nachteil eines reinen Ersatzschaltbild-Modells ist jedoch, dass geometrische und räumliche Parameter nicht oder nur sehr vereinfacht berücksichtigt werden. So besteht die Ionenstromquelle des Modells, analog zum Hodgkin-Huxley-Modell, lediglich aus einer Punktquelle ohne explizite räumliche Ausdehnung. Zudem ist die von Neuron und Elektrode eingeschlossene Fläche nicht explizit definiert. Als Konsequenz, können räumliche Inhomogenitäten des Widerstands  $R_{seal}$  oder der Ionenstromquelle  $I_{ion}$  nicht durch das Modell abgebildet werden. Im Gegensatz dazu ist eine explizite Modellierung der Elektrode bzw. des Messsystems innerhalb des dreidimensionalen FEM-Modells nur bedingt möglich. Hierfür müsste zumindest die Geometrie der Messelektrode vollständig modelliert werden, die jedoch mit einer Dicke von einigen hundert Nanometern sehr dünn im Vergleich zur restlichen Modellgeometrie ist. Dadurch würde die Komplexität der räumlichen Diskretisierung signifikant steigen und somit der erforderliche Rechenaufwand zur Lösung des Modells stark zunehmen. Als Lösung hierfür wird ein Hybridmodell vorgeschlagen, das FEM-Modell und Elemente des Ersatzschaltbilds vereint (siehe Abb. 3.13).

Die Verteilung des Potentials im extrazellulären Raum sowie das daraus resultierende Potential an der Elektrodenoberfläche werden innerhalb des 3D-Modells berechnet.





**Abbildung 3.13:** Hybridmodell aus FEM-Modell und Ersatzschaltbild zur Simulation extrazellulär abgeleiteter Aktionspotentiale. Das elektrisch aktive Neuron sowie die physikalische Kopplung zur Messelektrode werden innerhalb des dreidimensionalen FEM-Modells simuliert. Über die Randbedingung der in grau hinterlegten Elektrodenoberfläche ist das geometrische Modell mit der elektrischen Schaltung von Elektrode und Messverstärker verknüpft.

Auf Basis des Oberflächenpotentials der Messelektrode wird wiederum das Messsignal mit Hilfe des elektrischen Ersatzschaltbilds bestimmt. Beide Teilmodelle werden dabei parallel berechnet und sind innerhalb des Lösungsprozesses miteinander gekoppelt, da die Parameter des Ersatzschaltbilds die resultierende Potentialverteilung auf der Elektrodenoberfläche beeinflussen. Das Hybridmodell erlaubt somit, den Einfluss der Neuronengeometrie und die physikalische Kopplung zwischen Neuron und Elektrode innerhalb des 3D-Modells zu berücksichtigen und bietet gleichzeitig eine effiziente Methode, um die nachfolgende elektrische Schaltung in die Simulation zu integrieren.

Zusammengefasst ist das vollständige FEM-Modell in der Lage, die extrazellulär abgeleiteten Signale eines Neurons positionsabhängig zu simulieren. Zudem kann der Einfluss der Neuron-Elektroden-Kopplung auf das resultierende Messsignal durch Variation der Zellgeometrie sowie des Abstands zwischen Zelle und Elektrode analysiert werden. Dies ermöglicht die detaillierte Simulation der extrazellulären Ableitung eines neuronalen Zellsignals und erlaubt somit die Modellierung bzw. Nachbildung gemessener *in vitro* Signale.



## 4 Modellierung und Simulation mit der Finiten-Elemente-Methode

Zur Modellierung und numerischen Lösung des Neuronenmodells wird die Software COMSOL Multiphysics® 5.4 (COMSOL AG, Stockholm, Sweden) verwendet. Das Programm basiert auf der Finiten-Elemente-Methode, die das kontinuierliche Differentialgleichungssystem des Modells aus Kapitel 3, durch Diskretisierung numerisch lösbar macht. Die numerische Lösung des in dieser Arbeit entwickelten Modells ist hierbei im Grunde alternativlos, da nur für allereinfachste geometrische Anordnungen eine analytische Lösung bestimmt werden könnte, wodurch das Modell jedoch soweit vereinfacht werden würde, dass die resultierenden Ergebnisse praktisch keine Relevanz hätten.

Die Lösung des diskreten FEM-Modells umfasst verschiedene Teilaspekte (vgl. [COMSOL Multiphysics, 2012a]). Ausgangspunkt ist das kontinuierliche Differentialgleichungssystem aus Kapitel 3, das zum einen aus der partiellen Differentialgleichung (3.62) des EQS- bzw. (3.42) und (3.43) des CE-Ansatzes und zum anderen aus den nichtlinearen Differentialgleichungen (3.3) und (3.4) des Hodgkin-Huxley-Modells besteht. Dieses kontinuierliche Differentialgleichungssystem kann mit Hilfe der FEM räumlich diskretisiert und dadurch in die Form eines linearen Gleichungssystems umgewandelt werden. Die zeitlichen Ableitungen werden zudem mit Hilfe eines numerischen Zeitschrittverfahrens diskretisiert. Das daraus resultierende diskrete Gleichungssystem verhält sich jedoch aufgrund der Gleichungen des Hodgkin-Huxley-Modells nichtlinear, so dass diese Nichtlinearitäten mit einem nichtlinearen Lösungsverfahren berechnet werden müssen, um das System für einen linearen Gleichungssystemlöser lösbar zu machen. Dieser wird schließlich dafür genutzt um das große, lineare Gleichungssystem zu lösen, das aus der Ortsdiskretisierung des Modells entsteht.

Um den Prozess der numerischen Lösung besser nachvollziehen zu können, wird im Folgenden ein Überblick über die einzelnen Teilschritte gegeben. Zunächst werden die Diskretisierung des Modells auf Basis der FEM sowie mögliche Variationen des Verfahrens beschrieben. Im Anschluss werden die Funktionsweise der verschiedenen Lösungsverfahren sowie deren Zusammenspiel innerhalb des numerischen Lösungsprozesses erläutert.

### 4.1 Diskretisierung mittels finiter Elemente

Der Ansatz der FEM basiert auf dem Ritz-Galerkin-Verfahren, das es ermöglicht, ein kontinuierliches mathematisches Problem in eine diskretisierte Formulierung zu überführen und dieses mit numerischen Verfahren zu lösen [Logg et al., 2012]. Die Lösung des diskreten Problems stellt dabei, unter Berücksichtigung des auftretenden Approximationsfehlers, eine Näherung der exakten Lösung des kontinuierlichen Problems dar. Um die diskrete Formulierung des Problems zu erhalten, muss das zugrundeliegende Differenti-

algleichungssystem inklusive Randbedingungen umgewandelt werden. Zur Veranschaulichung wird dies am Beispiel eines stationären Strömungsproblems gezeigt.

Innerhalb eines Lösungsgebietes  $\Omega$  mit Rand  $\Gamma$  kann die Verteilung des elektrischen Potentials  $\varphi$  innerhalb eines resistiven Mediums mit homogener, konstanter Leitfähigkeit  $\sigma$  durch die Laplace-Gleichung beschrieben werden

$$\nabla \cdot \sigma \nabla \varphi = \sigma \Delta \varphi = 0 \quad \text{in } \Omega. \quad (4.1)$$

Wie bereits bei der Beschreibung des EQS- und CE-Ansatzes in Kapitel 3 zu sehen, können bei einem solchen Problem Randbedingungen in Form einer einfließenden Stromdichte oder als angelegtes Potential definiert werden

$$\mathbf{n} \cdot \mathbf{j} = \mathbf{n} \cdot \sigma \nabla \varphi = g \quad \text{in } \Gamma_N, \quad (4.2)$$

$$\varphi = f \quad \text{in } \Gamma_D. \quad (4.3)$$

Die Funktionen  $f$  und  $g$  sind hierbei auf dem jeweiligen Rand  $\Gamma_D$  bzw.  $\Gamma_N$  definiert. Bei Gleichung (4.3) handelt es sich um eine Dirichlet-Randbedingung. Sie definiert feste Werte der gesuchten Variable  $\varphi$  an den Rändern  $\Gamma_D$ . Deshalb wird sie in Zusammenhang mit Gleichung (4.1) als essentielle Bedingung bezeichnet. Gleichung (4.2) ist hingegen eine Neumann-Randbedingung und beschreibt die ortsabhängige Änderung der gesuchten Größe  $\varphi$  an den entsprechenden Rändern  $\Gamma_N$ . Für das konkrete Problem wird sie auch als natürliche Randbedingung bezeichnet, da sie durch mathematische Umformungen direkt in das zu lösende Differentialgleichungssystem integriert werden kann [Rylander et al., 2013].

Der erste Schritt zur Überführung des kontinuierlichen Differentialgleichungssystems in eine diskretisierte Formulierung mittels der Finiten-Elemente-Methode ist die Bildung der schwachen Formulierung des Problems. Hierfür wird Gleichung (4.1) mit einer zunächst unbekanntem Testfunktion  $v$  multipliziert und anschließend das Integral über das Lösungsgebiet  $\Omega$  gebildet

$$\int_{\Omega} \sigma \Delta \varphi v \, d\Omega = 0. \quad (4.4)$$

Die schwache Formulierung bietet zum einen den Vorteil, dass nicht mehr die exakte Lösung des Problems, sondern lediglich eine Näherungslösung in Abhängigkeit der verwendeten Testfunktion  $v$  bestimmt werden muss. Dies ermöglicht eine numerische Approximation der entsprechenden Lösung mit einer definierbaren Genauigkeit. Zum anderen ermöglicht es die schwache Formulierung von Gleichung (4.4) die Randbedingungen (4.2) und (4.3) mit Hilfe der ersten Greenschen Identität in die Gleichung zu integrieren (vgl. [Logg et al., 2012])

$$\int_{\Omega} \sigma \nabla \varphi \nabla v \, d\Omega - \int_{\Gamma} \frac{\partial \varphi}{\partial n} v \, d\Gamma = 0. \quad (4.5)$$

Die essentiellen Randbedingungen aus Gleichung (4.3) beschreiben hierbei bereits vordefinierte Lösungen für  $\varphi$  und müssen demnach nicht numerisch angenähert werden. Aus diesem Grund werden die Werte der Basisfunktion entlang des Randes  $\Gamma_D$  als null de-

finiert. Dadurch reduziert sich der zweite Term aus Gleichung (4.5) auf die natürlichen Randbedingungen aus Gleichung (4.2)

$$\int_{\Omega} \sigma \nabla \varphi \nabla v \, d\Omega - \int_{\Gamma} \mathbf{n} \cdot \sigma \nabla \varphi v \, d\Gamma_N = \int_{\Omega} \sigma \nabla \varphi \nabla v \, d\Omega - \int_{\Gamma} g v \, d\Gamma_N = 0. \quad (4.6)$$

Die sich ergebende Gleichung (4.6) beschreibt jedoch weiterhin ein kontinuierliches Problem und muss in einem weiteren Schritt in eine diskretisierte Form umgewandelt werden. Hierfür wird der Lösungsraum des Problems in diskrete Teilbereiche, die finiten Elemente, unterteilt und für jeden Teilbereich eine bestimmte Anzahl an Freiheitsgraden definiert [Logg et al., 2012; Rylander et al., 2013]. Diese Freiheitsgrade dienen dazu, die kontinuierliche Lösung für  $\varphi$  in Form einer diskretisierten Lösung  $\varphi_h$  anzunähern. Analog dazu, wird die eingeführte Testfunktion  $v$  durch die Näherung  $v_h$  ersetzt, so dass sich eine diskretisierte Form von Gleichung (4.6) ergibt

$$\int_{\Omega} \sigma \nabla \varphi_h \nabla v_h \, d\Omega = \int_{\Gamma} g v_h \, d\Gamma_N. \quad (4.7)$$

Die Näherung der Testfunktion  $v_h$  kann in einem nächsten Schritt als Summe mehrerer Basisfunktionen über alle Freiheitsgrade  $N$  beschrieben werden

$$v_h = \sum_{i=1}^N \phi_i. \quad (4.8)$$

Jede Basisfunktion  $\phi_i$  ist einem Freiheitsgrad  $i$  innerhalb der diskretisierten Näherung des Lösungsraums  $\Omega$  zugeordnet. Zudem ist jede so definiert, dass sie lediglich im Bereich zwischen dem jeweiligen Freiheitsgrad  $i$  und dessen direkten Nachbarn Werte größer null besitzt.

Auf Basis dieser Beschreibung von  $v_h$  kann die diskrete Lösung  $\varphi_h$  als Summe der Teillösungen für alle Freiheitsgrade  $N$  und in Abhängigkeit zu den lokalen Basisfunktionen  $\phi$  definiert werden

$$\varphi_h = \sum_{j=1}^N \Phi_j \phi_j. \quad (4.9)$$

Da jede Basisfunktion  $\phi_j$  nur im angrenzenden Bereich eines lokalen Freiheitsgrades definiert ist, trägt jede Teillösung  $\Phi_j$  nur in diesem Bereich zur Gesamtlösung  $\varphi_h$  bei.

Durch die lokalen Basisfunktionen sind benachbarte Freiheitsgrade miteinander verknüpft, so dass die Summe der Lösungen aller Freiheitsgrade in Verbindung mit eben diesen Basisfunktionen wiederum die globale Lösung des diskretisierten Problems ergibt.

Durch Einsetzen der Terme (4.8) und (4.9) in Gleichung (4.7) ergibt sich eine stückweise definierte Näherung des ursprünglichen Problems [Logg et al., 2012]

$$\sum_{j=1}^N \Phi_j \int_{\Omega} \sigma \nabla \phi_j \nabla \phi_i \, d\Omega = \int_{\Gamma} g \phi_i \, d\Gamma_N, \quad i = 1, 2, \dots, N. \quad (4.10)$$

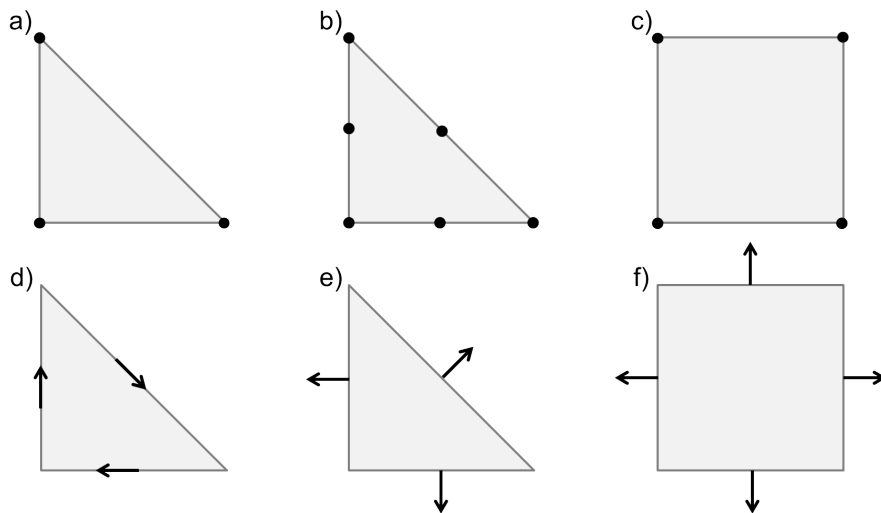
Die Variable  $\Phi_j$  stellt den Vektor der unbekanntenen Größe des Systems dar. Innerhalb

des Vektors werden die bereits bekannten Werte an den Rändern mit der Dirichlet-Randbedingung aus Gleichung (4.3) eingefügt. Der Term mit den Neumann-Randbedingungen auf der rechten Seite von Gleichung (4.10) ist ebenfalls ein Vektor mit entsprechendem Zähler  $i$ . Das Integral auf der linken Seite liefert hingegen eine Matrix, da beide Zähler  $i$  und  $j$  enthalten sind. Folglich hat Gleichung (4.10) die generelle Struktur eines linearen Gleichungssystems

$$\mathbf{A}_{ij} \Phi_j = b_i. \quad (4.11)$$

Da jede Basisfunktion  $\phi_i$  nur in einem bestimmten Bereich um den Freiheitsgrad  $i$  Werte größer null aufweist, ist die Matrix  $\mathbf{A}_{ij}$  schwach besetzt, d.h. sie enthält nur wenige Einträge ungleich null.

Die genaue Größe und Struktur des Gleichungssystems (4.11) ist abhängig von der Klasse des gewählten Finiten Elements. Die verschiedenen Klassen unterscheiden sich in deren Form sowie in Anzahl und Art der Freiheitsgrade (siehe Abb. 4.1).



**Abbildung 4.1:** Gängige Klassen Finiten Elemente im zweidimensionalen Raum. Die Freiheitsgrade der Elemente sind als schwarze Punkte bzw. Vektoren gekennzeichnet. a) Dreieckförmiges Lagrange-Element erster Ordnung; b) Dreieckförmiges Lagrange-Element zweiter Ordnung; c) Rechteckförmiges Lagrange-Element erster Ordnung; d) Dreieckförmiges H(rot)-Element erster Ordnung; e) Dreieckförmiges H(div)-Element erster Ordnung; f) Rechteckförmiges H(div)-Element erster Ordnung (nach [Logg et al., 2012]).

Die einfachste Form eines Finiten Elements im zweidimensionalen Raum ist ein Lagrange-Element erster Ordnung, d.h. ein Dreieck, dessen Eckpunkte die Freiheitsgrade des Elements darstellen (siehe Abb. 4.1a). Lagrange-Elemente erster Ordnung werden auch als Knotenelement bezeichnet. Als Basisfunktion besitzt dieses Element stückweise definierte, lineare Funktionen [Logg et al., 2012]. Das heißt, eine Basisfunktion  $\phi_i$  besitzt den Wert eins im dazugehörigen Punkt  $i$  und den Wert null in allen anderen Punkten. Im Bereich aller lokaler Nachbarn des Punktes  $i$  fällt die Funktion linear von eins auf null ab. Veranschaulicht bedeutet dies, dass bei der Verwendung dieses Elements davon ausgegangen wird, dass die kontinuierliche Lösung im Bereich zwischen zwei Eckpunkten durch einen

linearen Zusammenhang der beiden diskreten Lösungen an den jeweiligen Eckpunkten angenähert werden kann.

Um eine höhere Genauigkeit zu erreichen können z.B. rechteckförmige Lagrange-Elemente erster Ordnung oder andere Vieleck-Elemente verwendet werden (siehe Abb. 4.1c). Diese Elemente besitzen zusätzliche Freiheitsgrade, wodurch die gesuchte kontinuierliche Lösung genauer approximiert werden kann. Im Gegenzug steigert die höhere Anzahl an Freiheitsgraden die Komplexität des entsprechenden Gleichungssystems und folglich auch den notwendigen Rechenaufwand zur Lösung des Systems.

Komplexere Probleme, die nicht mit Hilfe von linearen Basisfunktionen ausreichend genau angenähert werden können, erfordern Finite Elemente höherer Ordnung, wie z.B. ein dreieckförmiges Lagrange-Element zweiter Ordnung (siehe Abb. 4.1b). Das Element verfügt nicht nur über zusätzliche Freiheitsgrade zwischen zwei Eckpunkten des Dreiecks, sondern verwendet zudem quadratische Basisfunktionen [Logg et al., 2012]. Diese besitzen ebenfalls im dazugehörigen Freiheitsgrad den Wert eins und null in allen anderen, jedoch fällt die Funktion quadratisch zwischen zwei benachbarten Freiheitsgraden ab und ermöglicht eine genauere Annäherung von nichtlinearen Verläufen der gesuchten Lösung. Analog zu diesem Schema erhöht sich sowohl die Anzahl der Freiheitsgrade, als auch der Grad des Polynoms der Basisfunktion mit der Ordnung des Elements. Darüber hinaus werden auch vermehrt gekrümmte Elemente verwendet, z.B. an unregelmäßigen Rändern eines Lösungsgebietes.

Die bisher vorgestellten Finiten Elemente besitzen punktförmige Freiheitsgrade, die gut für die Beschreibung von Skalarfeldern geeignet sind, wie z.B. dem elektrischen Potential des EQS-basierten Modells aus Kapitel 3. Um mathematische Probleme zu lösen, die nicht mit Hilfe eines Skalarfeldes beschrieben werden können, sind Finite Elemente mit angepassten Freiheitsgraden vorteilhaft (siehe Abb. 4.1d-f). Beispielsweise besitzen  $H(\text{div})$ -Elemente vektorielle Freiheitsgrade, welche die Divergenz an der Kante eines Finiten Elements beschreiben.  $H(\text{rot})$ -Elemente haben dagegen Rotationsvektoren als Freiheitsgrade. Dies bedeutet, dass  $H(\text{div})$ -Elemente kontinuierliche Normalen-, jedoch diskontinuierliche Tangentialkomponenten haben, während  $H(\text{rot})$ -Elemente kontinuierliche Tangential-, aber diskontinuierliche Normalenkomponenten aufweisen. Folglich ist die Wahl des geeigneten Elements davon abhängig, ob die zu erwartenden Vektorfelder der Lösung besser auf Basis von Finiten Elementen mit kontinuierlichen Normalen- oder mit kontinuierlichen Tangentialkomponenten beschrieben werden können.

Analog zu den Lagrange-Elementen kann auch die Form von  $H(\text{div})$ - bzw.  $H(\text{rot})$ -Elementen variiert werden (siehe Abb. 4.1f). Des Weiteren kann auch die Ordnung bei diesen Elementen erhöht werden, um eine höhere Anzahl an Freiheitsgraden sowie Basisfunktionen höherer Ordnung zu erhalten.

Die dargestellte Einteilung der verschiedenen Elemente ist grundsätzlich unabhängig von der räumlichen Dimension der Finiten Elemente. Im dreidimensionalen Fall werden lediglich Dreieck- und Rechteckformen zu Tetraeder- bzw. Quaderformen.

Für den konkreten Fall der EQS- bzw. CE-basierten Modelle ist die Verwendung von Lagrange-Elementen naheliegend, da das gesuchte elektrische Potential eine skalare Größe ist. Simulationen mit Finiten Elementen verschiedener Ordnung zeigten zudem, dass

Tetraeder-förmige Lagrange-Elemente erster Ordnung keine relevanten Abweichungen im Vergleich zu Elementen höherer Ordnung aufweisen.

## 4.2 Lösung linearer Differentialgleichungen

Wird für die Randbedingungen (4.2) und (4.3) des Laplace-Problems (4.1) angenommen, dass diese zeitinvariant und unabhängig vom elektrischen Potential  $\varphi$  sind, ergibt Gleichung (4.11) ein lineares Gleichungssystem. Zur Lösung dieses Systems können grundsätzlich zwei Arten von Lösungsverfahren verwendet werden. Die erste Möglichkeit ist die Verwendung von iterativen Lösern, welche die Lösung des Gleichungssystems innerhalb mehrerer Iterationen annähern und dabei mit jedem Schritt weiter verbessern. In der Regel sind diese Verfahren vor allem für dünn besetzte Gleichungssysteme von Vorteil, da sie oft auf die Generierung einer Lösungsmatrix verzichten bzw. diese effizienter lösen können [van Rienen, 2001; Göddeke, 2010; Logg et al., 2012].

Die zweite Art von Algorithmen wird als direkte Löser bezeichnet, welche die Lösungsmatrix des Gleichungssystems durch entsprechende Umformungsschritte der Matrix in einem einzigen Lösungsschritt berechnen. Die in der Software COMSOL Multiphysics® 5.4 implementierten direkten Löser basieren auf dem Verfahren der Links-Rechts-Zerlegung (LR-Zerlegung), bei dem die Matrix  $\mathbf{A}$  aus Gleichung (4.11) in eine linke und eine rechte dreiecksförmige Matrix  $\mathbf{L}$  und  $\mathbf{R}$  zerlegt wird [Schenk, Gärtner, 2004]

$$\mathbf{A} \Phi = \mathbf{L} \mathbf{R} \Phi = b. \quad (4.12)$$

Die beiden Dreiecksmatrizen können anschließend durch rekursives Einsetzen gelöst werden. Wird dazu die linke Dreiecksmatrix verwendet, nennt sich dies Vorwärtseinsetzen bzw. -lösen, die Verwendung der rechten Dreiecksmatrix wird als Rückwärtseinsetzen bezeichnet. Durch Ausführen beider Einsetzverfahren kann der resultierende Näherungsfehler abgeschätzt werden.

Bei der Lösung linearer Gleichungssysteme werden oft zunächst Vorverarbeitungsalgorithmen angewendet, die durch Umformulierung des Gleichungssystems die numerische Lösung des Systems ermöglichen bzw. einen effizienteren Lösungsvorgang erlauben. Bei iterativen Verfahren werden hierbei so genannte Vorkonditionierer (engl. *preconditioners*) angewendet, um die Kondition der Matrix  $\mathbf{A}$  des Gleichungssystems zu verringern und dadurch die Konvergenz des iterativen Verfahrens zu verbessern.

Bei direkten Lösern wird hingegen als Vorverarbeitung oft eine Pivottisierung durchgeführt. Dies dient zum einen dazu, die LR-Zerlegung zu ermöglichen bzw. zu vereinfachen, zum anderen um Rundungsfehler im Rahmen der Lösung des Gleichungssystems zu minimieren [Bondeson et al., 2000; van Rienen, 2001]. Hierbei wird die zu lösende Matrix  $\mathbf{A}$  vorab umgeformt, indem auf Basis der Pivotelemente der Matrix deren Reihen und Spalten vertauscht bzw. modifiziert werden.



Im Regelfall ist die Bestimmung des optimalen Lösungsalgorithmus vom jeweiligen Gleichungssystem abhängig und kann meist nicht a-priori bestimmt werden (vgl. [COMSOL Multiphysics, 2012a]). Im Rahmen von Testsimulationen zeigte sich, dass der direkte Löser PARDISO [Schenk, Gärtner, 2004] die kürzesten Rechenzeiten für die Neuronenmodelle aufweist, ohne merklich von den Ergebnissen alternativer direkter oder iterativer Verfahren abzuweichen. Deshalb wurden alle weiteren Simulationen mit diesem direkten Löser durchgeführt.

### 4.3 Lösung nichtlinearer Differentialgleichungen

Im vorangegangenen Abschnitt 4.2 wurde angenommen, dass der Term  $g$  auf der rechten Seite der Neumann-Randbedingung unabhängig von der gesuchten Lösungsfunktion  $\varphi$  ist, wodurch sich auf Basis von Gleichung (4.11) ein System linearer Gleichungen ergibt. Ein Blick auf die Differentialgleichungen des EQS-Ansatzes aus Abschnitt 3.2.2 zeigt jedoch, dass diese Annahme hierfür nicht gültig ist. Selbst wenn sämtliche Zeitabhängigkeiten innerhalb der Gleichungen (3.62-3.64) sowie in Gleichung (3.71) vernachlässigt werden, ergibt sich ein nichtlinearer Zusammenhang zwischen Gleichung (3.62) und der Neumann-Randbedingung (3.63) an der inneren Zellmembran. Diese Randbedingung verknüpft die partiellen Differentialgleichungen des EQS-Ansatzes mit den gewöhnlichen Differentialgleichungen des Hodgkin-Huxley-Modells, welche die resultierende Transmembranstromdichte  $j_m$  für jedes Randelement an der Zellmembran innerhalb des diskretisierten Raumes des Modells berechnen. Anhand von Gleichung (3.1) des Hodgkin-Huxley-Modells ergibt sich allerdings, dass der resultierende Transmembranstrom  $I_m$  bzw. die Transmembranstromdichte  $j_m$  vom Transmembranpotential  $\varphi_m$  und folglich von der Differenz  $\varphi_i - \varphi_e$  abhängig ist. Auch das System des CE-Ansatzes beinhaltet diese Nichtlinearität, jedoch mit dem Unterschied, dass hier die Variable  $j_m$  direkt in Gleichung (3.42) bzw. Gleichung (3.43) innerhalb des intrazellulären Raums berücksichtigt wird.

Eine solche Nichtlinearität kann auch innerhalb des Fallbeispiels aus Abschnitt 4.1 berücksichtigt werden, indem die Neumann-Randbedingung aus Gleichung (4.2) modifiziert wird

$$\mathbf{n} \cdot \mathbf{j} = \mathbf{n} \cdot \sigma \nabla \varphi = g(\varphi) \quad \text{in } \Gamma_N. \quad (4.13)$$

Innerhalb des daraus resultierenden Systems analog zu Gleichung (4.12) weisen somit sämtliche Zeilen, die ein Finites Element am Rand  $\Gamma_N$  darstellen, ein nichtlineares Verhalten auf. Dadurch wird das gesamte System nichtlinear und kann nicht mit Hilfe des linearen Lösungsalgorithmus aus Abschnitt 4.1 berechnet werden.

Um das System zu lösen ist folglich ein alternatives Verfahren notwendig, das die Nichtlinearität adäquat adressieren kann. Eines der gängigsten Verfahren, um dies zu erreichen, ist das iterative Newton-Verfahren [Logg et al., 2012]. Unter anderem wird es zur Bestimmung von Nullstellen nichtlinearer Funktionen verwendet und das zugrunde liegende Prinzip kann anhand eines solchen Beispiels erläutert werden.

Ausgehend von einem festgelegten Startwert  $x_0$  berechnet das Verfahren die Steigung  $f'(x_0)$  der unbekanntes Funktion  $f(x)$  und ermittelt im Anschluss den Schnittpunkt der

sich ergebenden Steigungsgerade mit der  $x$ -Achse

$$x_{n+1} = x_n - \frac{f(x_n)}{f'(x_n)}. \quad (4.14)$$

Im nächsten Schritt wird der dazugehörige Funktionswert als neuer Ausgangspunkt gewählt und das Verfahren wiederholt. Es ergibt sich eine iterative Berechnungsvorschrift, die über  $n$  Schritte fortgesetzt wird, bis der Wert  $f(x_n)$  innerhalb einer spezifizierten Fehlertoleranz liegt. Eine einfache Fehlerabschätzung kann hierbei auf Basis der Schrittweite zwischen den einzelnen Iterationen  $s_n = x_{n+1} - x_n$  erfolgen, da sich diese, zumindest für einen geeigneten Startwert  $x_0$ , mit zunehmender Annäherung an die gesuchte Nullstelle sukzessive verringert [Dahmen, Reusken, 2008].

Auf Basis dieses Prinzips kann auch die Lösung eines nichtlinearen Gleichungssystems mit Hilfe des Newton-Verfahrens angenähert werden. In diesem Fall stellen  $\mathbf{f}$  und  $\mathbf{f}'$  das Gleichungssystem des nichtlinearen Problems bzw. dessen Ableitung dar (vgl. [Dahmen, Reusken, 2008]). Das System  $\mathbf{f} = (f_1, \dots, f_N)^T$  entspricht dem diskretisierten nichtlinearen Problem in Form von Gleichung (4.11), wobei jede Funktion  $f_i(x)$ , mit  $x = (x_1, \dots, x_j)^T$  eine Zeile des Gleichungssystems beschreibt

$$f_i(\Phi) = \mathbf{A}_{ij} \Phi_j - b_i(\Phi) = 0. \quad (4.15)$$

Die Ableitung  $\mathbf{f}'(\Phi)$  ist die Jakobi-Matrix von  $\mathbf{f}(\Phi)$  (vgl. Gleichung (3.14)), da sich die unbekannte Größe des diskretisierten Systems  $\Phi = (\Phi_1, \dots, \Phi_j)^T$  aus den lokalen Variablen der Finiten Elemente zusammensetzt.

Werden  $\mathbf{f}(\Phi)$  und  $\mathbf{f}'(\Phi)$  in die iterative Berechnungsvorschrift (4.14) eingesetzt, ergibt sich allerdings ein mathematisches Problem, dessen direkte Berechnung mit Hilfe des iterativen Newton-Verfahrens äußerst aufwendig ist, da die Berechnungsvorschrift die inverse Jakobi-Matrix  $\mathbf{f}'(\Phi)^{-1}$  enthält. Um diese Problematik zu umgehen, wird stattdessen mit Hilfe von Gleichung (4.14) des Newton-Verfahrens und unter Verwendung der Schrittweite  $\mathbf{s}^n$  ein lineares Gleichungssystem für jede Iteration  $n$  des Verfahrens aufgestellt [Dahmen, Reusken, 2008]

$$\mathbf{f}'(\Phi^n) \mathbf{s}^n = -\mathbf{f}(\Phi^n). \quad (4.16)$$

In diesem Zusammenhang stellt die Schrittweite  $\mathbf{s}^n = (s_1^n, \dots, s_j^n)^T$  einen Vektor dar, der die entsprechenden Differenzen  $s_j^n = \Phi_j^{n+1} - \Phi_j^n$  beschreibt.

Innerhalb einer Iteration  $n$  des Newton-Verfahrens werden zunächst die Terme  $\mathbf{f}(\Phi^n)$  und  $\mathbf{f}'(\Phi^n)$  auf Basis der aktuellen Näherung  $\Phi^n = (\Phi_1^n, \dots, \Phi_j^n)^T$  bestimmt. Anschließend kann das System aus Gleichung (4.16) z.B. mit Hilfe des linearen Lösers aus Abschnitt 4.2 berechnet und der Vektor  $\mathbf{s}^n$  bestimmt werden. Daraus ergibt sich die verbesserte Näherung  $\Phi^{n+1}$ , die wiederum den Ausgangswert für die nachfolgende Iteration bildet. Sobald die Werte von  $\mathbf{s}^n$  eine vorab definierte Fehlertoleranz unterschreiten, kann das Verfahren beendet werden. Der resultierende Wert  $\Phi^{n+1}$  der letzten Iteration entspricht dann der angenäherten Lösung des nichtlinearen Systems. Um die Konvergenz des Verfahrens zu garantieren, müssen auch in diesem Fall die Ausgangswerte  $\Phi^0$  hinreichend nah an der gesuchten Lösung sein.

## 4.4 Lösung zeitabhängiger Differentialgleichungen

Die bisher vorgestellten Algorithmen dienen lediglich dazu, die ortsabhängigen Terme innerhalb des diskretisierten Systems zu berechnen. Sowohl die partiellen Differentialgleichungen des EQS-Ansatzes (3.62) und des CE-Ansatzes (3.42) bzw. (3.43) als auch die gewöhnlichen Differentialgleichungen des Hodgkin-Huxley-Modells (3.3) bzw. (3.4) beinhalten jedoch zusätzlich zeitabhängige Terme, die ebenfalls bestimmt werden müssen. Um dies innerhalb des Fallbeispiels zu berücksichtigen, wird das nichtlineare Differentialgleichungssystem aus Abschnitt 4.3 in Anlehnung an den EQS-basierten Ansatz aus Abschnitt 3.2.2 um zeitabhängige Terme erweitert

$$\nabla \cdot \left( \varepsilon \nabla \frac{\partial \varphi(t)}{\partial t} + \sigma \nabla \varphi(t) \right) = 0 \quad \text{in } \Omega, \quad (4.17)$$

$$\mathbf{n} \cdot \mathbf{j} = \mathbf{n} \cdot \sigma \nabla \varphi(t) = g(\varphi(t), t) \quad \text{in } \Gamma_N. \quad (4.18)$$

Analog zur Diskretisierung des Ortes muss zur numerischen Lösung eines zeitabhängigen Systems auch die Zeitkomponente diskretisiert werden. Die hierfür möglichen Algorithmen können generell in explizite und implizite Zeitschrittverfahren unterteilt werden [Zill, 2016].

Explizite Verfahren berechnen die Werte einer zeitabhängigen Variable ausschließlich auf Basis vorangegangener Werte. Im einfachsten Fall, wird lediglich der letzte berechnete Wert  $x^m$  zur Berechnung des nachfolgenden Werts  $x^{m+1}$  herangezogen und es ergibt sich die Berechnungsvorschrift des expliziten Euler-Verfahrens

$$\frac{\partial x(t)}{\partial t} \approx \frac{x^{m+1} - x^m}{h} = f(x^m, t^m). \quad (4.19)$$

Der Parameter  $h$  bestimmt dabei die zeitliche Schrittweite,  $f(x^m, t^m)$  ist eine Näherung der zeitlichen Ableitung im Punkt  $x^m$  zum vorangegangenen Zeitpunkt  $t^m$  [Hoffman, Frankel, 2001]. Somit berechnet die Vorschrift (4.14) den zukünftigen Wert auf Basis des vorangegangenen Wertes sowie der Steigung im Punkt  $x^m$ . Da lediglich ein vorausgehender Wert berücksichtigt wird, stellt das explizite Euler-Verfahren ein Einschrittverfahren dar. Um die Genauigkeit bzw. die Stabilität des expliziten Ansatzes zu erhöhen, können nach demselben Prinzip mehrere vorangegangene Werte zur Extrapolation verwendet werden. Auf Basis der Berechnungsvorschrift (4.14) ergibt sich daraus die Klasse der expliziten Mehrschrittverfahren [Zill, 2016]. Der Hauptunterschied zwischen den einzelnen Methoden ist dabei die Bestimmung von Gewichtungsfaktoren, mit der die zusätzlichen Größen, d.h.  $x^{m-1}$  bzw.  $hf(x^{m-1}, t^{m-1})$  sowie nachfolgende Terme, bei der Berechnung berücksichtigt werden.

Der Vorteil expliziter Verfahren ist, dass sie grundsätzlich einfach zu berechnen sind, da sämtliche Terme in Gleichung (4.19) bereits bekannt sind. In Abhängigkeit des zu lösenden Problems muss jedoch die Schrittweite  $h$  des Verfahrens ausreichend klein gewählt werden, damit dessen Stabilität und somit auch dessen Konvergenz gewährleistet werden kann [Dahmen, Reusken, 2008]. Für Systeme, die sowohl zeitliche als auch räumliche Ableitungen aufweisen, z.B. bei der Berechnung sich ausbreitender elektromagnetischer

Wellen, muss zudem das Courant-Friedrichs-Levy (CFL)-Kriterium eingehalten werden [Bondeson et al., 2000]. Das Stabilitätskriterium setzt die Auflösung der räumlichen Diskretisierung  $s$  ins Verhältnis mit der Schrittweite der zeitlichen Diskretisierung  $h$  und definiert eine Stabilitätsgrenze in Abhängigkeit zur Ausbreitungsgeschwindigkeit  $v$  innerhalb des Systems

$$CFL = v \frac{h}{s} < 1. \quad (4.20)$$

Abhängig vom zu lösenden Problem muss folglich die Auflösung der räumlichen Diskretisierung  $s$  an die Zeitschrittweite  $h$  angepasst werden, die für die grundsätzliche Stabilität des expliziten Zeitschrittverfahrens notwendig ist, um das CFL-Kriterium aus Gleichung (4.20) zu erfüllen. Dies kann jedoch dazu führen, dass die dafür nötige räumliche Diskretisierungsauflösung die Rechenintensität zur Lösung des Systems so weit erhöht, dass die Verwendung eines expliziten Zeitschrittverfahrens nicht mehr sinnvoll ist.

Für solche Fälle bietet sich die Verwendung impliziter Zeitschrittverfahren an, da sie generell nicht dem Stabilitätskriterium aus Gleichung (4.20) unterliegen und somit deren numerische Stabilität keine Abhängigkeit von der verwendeten Ortsdiskretisierung aufweist (vgl. [Thomas, 1995; Formaggia et al, 2012]). Im Unterschied zu expliziten Verfahren, verwenden sie zur Näherung der zeitlichen Ableitung nicht die Steigung im vorangegangenen Punkt  $x^m$ , sondern im zu bestimmenden, aber noch unbekanntem Punkt  $x^{m+1}$ . Für das entsprechende Einschrittverfahren, das implizite Euler-Verfahren, ergibt sich eine mit Gleichung (4.19) vergleichbare Berechnungsvorschrift

$$\frac{\partial x(t)}{\partial t} \approx \frac{x^{m+1} - x^m}{h} = f(x^{m+1}, t^{m+1}). \quad (4.21)$$

Gleichung (4.21) ist jedoch deutlich komplexer und grundsätzlich rechenintensiver, da der Ausdruck für die Steigung  $f(x^{m+1}, t^{m+1})$  im Zuge der Berechnung numerisch angenähert werden muss. Hierfür werden wiederum iterative Näherungsalgorithmen, wie der nichtlineare Löser auf Basis des Newton-Verfahrens aus Abschnitt 4.3, angewendet.

Um das implizite Euler-Verfahren auf das Problem aus Gleichung (4.17) mit Randbedingung (4.18) anzuwenden, ist zunächst eine Umformulierung des Problems hilfreich

$$\varepsilon \Delta \frac{\partial \varphi(t)}{\partial t} + \sigma \Delta \varphi(t) = 0 \quad \text{in } \Omega. \quad (4.22)$$

Die Umformung ist gültig, wenn  $\varepsilon$  und  $\sigma$  als ortsunabhängig innerhalb des Raumes  $\Omega$  angenommen werden können. Auf Basis von Gleichung (4.22) kann das System mit Hilfe der FEM räumlich diskretisiert und in eine Form analog zu Gleichung (4.11) umgewandelt werden

$$\mathbf{C}_{ij} \frac{\partial \Phi_j(t)}{\partial t} + \mathbf{A}_{ij} \Phi_j(t) - b_i(\Phi(t), t) = 0. \quad (4.23)$$

Die Matrizen  $\mathbf{A}_{ij}$  und  $\mathbf{C}_{ij}$  sind nahezu identisch und unterscheiden sich lediglich aufgrund der verschiedenen Vorfaktoren in Gleichung (4.22) voneinander. Nach entsprechender Umstellung kann Gleichung (4.22) in das Schema des impliziten Euler-Verfahrens eingesetzt

werden

$$\mathbf{C}_{ij} \frac{\partial \Phi_j(t)}{\partial t} \approx \mathbf{C}_{ij} \frac{\Phi_j^{m+1} - \Phi_j^m}{h} = -\mathbf{A}_{ij} \Phi_j^{m+1} + b_i(\Phi^{m+1}, t^{m+1}). \quad (4.24)$$

Das sowohl zeit- als auch räumlich diskretisierte, nichtlineare System kann anschließend mit Hilfe der Berechnungsvorschrift (4.14) des Newton-Verfahrens iterativ gelöst werden. Der Term  $\mathbf{f}(\Phi)$  ergibt sich dabei aus Gleichung (4.24)

$$\mathbf{f}(\Phi) = \mathbf{C}_{ij} \Phi_j^{m+1} - \mathbf{C}_{ij} \Phi_j^m + h (\mathbf{A}_{ij} \Phi_j^{m+1} - b_i(\Phi^{m+1}, t^{m+1})). \quad (4.25)$$

Wie beim nichtlinearen System aus Abschnitt 4.3 wird hierbei für das zeitabhängige System zunächst eine Formulierung analog zu Gleichung (4.16) ermittelt und anschließend mit einem linearen Löser berechnet. Für jede Iteration  $n$  des Newton-Verfahrens wird dabei der Wert von  $\Phi^{m+1}$  auf Basis eines vorgegebenen Zeitschritts  $h$  angenähert, bis eine vorab definierte Fehlertoleranz erreicht wird. Anschließend wird das System für den nachfolgenden Zeitschritt aktualisiert und der iterative Lösungsprozess neu initialisiert.

Auch für implizite Verfahren kann das beschriebene Einschrittverfahren in ein Mehrschrittverfahren mit höherer Genauigkeit umgewandelt werden, indem Gleichung (4.21) ebenfalls durch Vorgänger von  $x^{m+1}$  erweitert wird. Diese impliziten Mehrschrittverfahren sind unter dem Begriff BDF-Verfahren (engl. *backward-differentiation-formula*) bekannt, deren Ordnung die Anzahl der zur Berechnung verwendeten Zeitpunkte angibt.

In diesem Kontext wird zur Lösung des Neuronenmodells das implizite BDF-Verfahren zweiter bzw. dritter Ordnung verwendet, da diese im Rahmen der Simulation einen geeigneten Kompromiss zwischen Genauigkeit und Rechenaufwand aufweisen. Analog zum impliziten Euler-Verfahren ergibt sich für das BDF2-Verfahren die Berechnungsvorschrift

$$\mathbf{C}_{ij} \frac{\partial \Phi_j(t)}{\partial t} \approx \mathbf{C}_{ij} \frac{3 \Phi_j^{m+1} - 4 \Phi_j^m + \Phi_j^{m-1}}{2h} = -\mathbf{A}_{ij} \Phi_j^{m+1} + b_i(\Phi^{m+1}, t^{m+1}) \quad (4.26)$$

und für das BDF3-Verfahren die Gleichung

$$\mathbf{C}_{ij} \frac{\partial \Phi_j(t)}{\partial t} \approx \mathbf{C}_{ij} \frac{11 \Phi_j^{m+1} - 18 \Phi_j^m + 9 \Phi_j^{m-1} - 2 \Phi_j^{m-2}}{6h} = -\mathbf{A}_{ij} \Phi_j^{m+1} + b_i(\Phi^{m+1}, t^{m+1}). \quad (4.27)$$

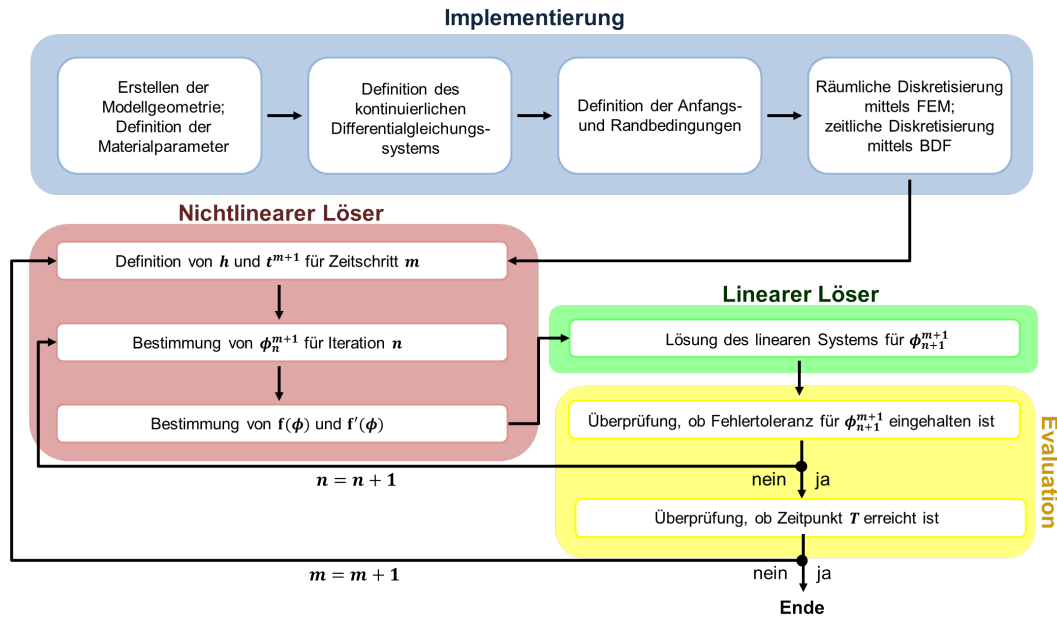
Die Vorfaktoren der einzelnen Terme in den Gleichungen (4.26) und (4.27) ergeben sich je nach Ordnung des BDF-Verfahrens aus dem entsprechenden Lagrange-Polynom gleicher Ordnung [Deuffhard, Bornemann, 2012].

## 4.5 Implementierung und Simulation

Auf Basis der in Abschnitt 4.2-4.4 beschriebenen Verfahren kann die numerische Lösung eines zeitabhängigen, nichtlinearen Differentialgleichungssystems in einem generellen Schema zusammengefasst werden, das auch für den EQS- bzw. CE-basierten Modellansatz aus Kapitel 3 gültig ist (siehe Abb. 4.2).

Im Rahmen der Modellierung wird die Geometrie des Modells sowie das zugrundeliegende Differentialgleichungssystem implementiert und sämtliche Parameter des Systems inklusive Rand- und Anfangsbedingungen definiert. Das System wird anschließend räumlich

mit Hilfe der FEM und zeitlich mit Hilfe des impliziten BDF-Verfahrens diskretisiert. Zur numerischen Lösung des diskretisierten Differentialgleichungssystems wird zunächst der nichtlineare Löser für den aktuellen Zeitschritt  $m$  initialisiert und die Schrittweite  $h$  sowie der daraus abgeleitete Zeitpunkt  $t^{m+1}$  des impliziten Zeitschrittverfahrens bestimmt. Zudem wird die aktuelle Lösung  $\Phi_n^m$  für die jeweilige Iteration  $n$  des nichtlinearen Löser bestimmt bzw. aktualisiert und das entsprechende Gleichungssystem analog zu Gleichung (4.16) aufgestellt. Dieses wird im Anschluss mit Hilfe des linearen Löser berechnet und der sich ergebende Näherungsfehler für die Iteration  $n$  abgeschätzt.



**Abbildung 4.2:** Generelles Schema der numerischen Lösung des zeitabhängigen, nichtlinearen Differentialgleichungssystems mit einem impliziten Zeitschrittverfahren. Nach der Implementierung des Modells, wird das nichtlineare Differentialgleichungssystem für jeden Zeitschritt  $m$  innerhalb des Simulationsintervalls  $[0, T]$  gelöst. Hierbei wird zunächst der nichtlineare Löser auf Basis des Newton-Verfahrens angewendet, der das System umformuliert, so dass dieses mit Hilfe eines linearen Löser berechnet werden kann. Abhängig vom Ergebnis der nachfolgenden Fehlerabschätzung wird entweder eine weitere Iteration  $n + 1$  des Newton-Verfahrens initialisiert, um eine bessere Näherung zu erhalten, oder das System für den nächsten Zeitschritt  $m + 1$  gelöst bis das Ende des Simulationszeitraums erreicht ist.

Überschreitet der Fehler den vorgegebenen Toleranzbereich, wird das Verfahren für den aktuellen Zeitschritt  $m$  in einer folgenden Iteration  $n + 1$  wiederholt. Die im aktuellen Schritt gefundene Lösung  $\Phi_{n+1}^{m+1}$  wird dabei als neuer Ausgangswert für die nächste Näherung verwendet. Ist die gefundene Lösung hingegen innerhalb der Fehlertoleranz, wird der nichtlineare Löser für den darauffolgenden Zeitschritt  $m + 1$  initialisiert. Der iterative Lösungsprozess wird fortgesetzt, bis das Ende des Simulationszeitraums  $[0, T]$  erreicht ist.

Im Rahmen der Implementierung des Modells in die Software COMSOL Multiphysics® 5.4 wurde die Geometrie des Neuronenmodells in zwei getrennte Teilgebiete unterteilt, die jeweils den intra- und den extrazellulären Raum darstellen. Die Modellierung der Mem-

bran mit Hilfe der Dünnschichtapproximation erfolgte analog zur Beschreibung in [Moulin et al., 2008].

Der EQS-Ansatz zur Beschreibung der intrazellulären AP-Ausbreitung wurde auf Basis des *AC/DC*-Moduls, der mathematisch komplexere Ausdruck des CE-Ansatzes mit dem *PDE*-Modul (engl. *partial differentiation equation*) implementiert. Die EQS-basierte Berechnung des extrazellulären Potentials ist in beiden Modell-Varianten wiederum mit Hilfe des *AC/DC*-Moduls realisiert. Die gewöhnlichen Differentialgleichungen des Hodgkin-Huxley-Modells wurden an beiden Membranrändern in Form ihrer schwachen Formulierung mit Hilfe des *PDE*-Moduls implementiert. Die Modellierung von Elektrode und Messverstärker wurde mit einem elektrischen Ersatzschaltbild realisiert, das über die Randbedingung der Elektrodenoberfläche mit dem 3D-Modell gekoppelt ist.

Die räumliche Diskretisierung der Modellgeometrien erfolgte durch tetraederförmige Lagrange-Elemente erster Ordnung.

Zur numerischen Näherung der zeitabhängigen Terme wurde ein BDF-Verfahren mit einer anpassbaren Ordnung verwendet, bei der die Software autonom die Ordnung des Verfahrens zwischen zwei und drei variieren konnte. Das Auswahlkriterium zur Veränderung der Ordnung des BDF-Verfahrens ist der resultierende Diskretisierungsfehler, der sich innerhalb eines Zeitschritts ergibt (vgl. [COMSOL Multiphysics, 2012b; L.L.N.L. SUNDIALS, 2017]). Im Rahmen der Initialisierung der Simulation wird hierbei zunächst die Ordnung des Verfahrens sukzessive von eins auf drei erhöht und anschließend beibehalten. Überschreitet jedoch der Diskretisierungsfehler innerhalb einer Zeititeration eine vordefinierte Schwelle, wird die Ordnung des Verfahrens reduziert und der aktuelle Zeitschritt wiederholt. Im Anschluss daran wird wiederum für nachfolgende Zeitschritte geprüft, ob die Ordnung des BDF-Verfahrens erneut erhöht werden kann.

Zudem wurde eine adaptive Zeitschrittanpassung, d.h. eine automatische Variation des gewählten Zeitschrittes bis zu einem Maximalwert von 10  $\mu\text{s}$ , in der Software implementiert. Analog zur variablen Ordnung des BDF-Verfahrens passt die Software hierbei die Größe des aktuellen Zeitschritts auf Basis einer Abschätzung des resultierenden Diskretisierungsfehlers im vorangegangenen Zeitschritt an [COMSOL Multiphysics, 2012b].

Zur Lösung des linearen Gleichungssystems wurde der Löser PARDISO mit einer relativen Fehlertoleranz von  $1 \cdot 10^{-6}$  verwendet. Für den nichtlinearen Löser auf Basis des Newton-Verfahrens wurde ebenfalls diese Fehlertoleranz definiert.

Die Simulationen wurden auf einer Workstation mit 64-Bit Betriebssystem durchgeführt. Die Workstation verfügte über zwei Intel®Xeon®E5-2687W v4 Prozessoren mit jeweils 24 Prozessorkernen (Taktfrequenz 3,0 GHz) sowie einer RAM-Größe von 256 GB.





## 5 3D-Simulation neuronaler Zellen

Das dreidimensionale Modell eines elektrisch aktiven Neurons beinhaltet eine Vielzahl an Freiheitsgraden, deren Einfluss auf das extrazelluläre Potential und des daraus abgeleiteten Messsignals bisher nicht vollständig verstanden ist. In diesem Zusammenhang sind vor allem die Geometrieparameter des Neurons relevant, z.B. die Größe und Form des Soma oder der Durchmesser von Axon und Dendriten. Ein weiterer wichtiger Faktor sind die elektrophysiologischen Eigenschaften der einzelnen Bereiche des Neurons, allen voran die Verteilung der Ionenkanäle auf der Membran der verschiedenen Neuronenabschnitte.

Um eine detaillierte Analyse zu gewährleisten, werden im Folgenden verschiedene Modelle mit steigender Komplexität simuliert und deren Ergebnisse diskutiert (siehe Tabelle 5.1).

**Tabelle 5.1:** Eigenschaften der simulierten FEM-Modelle

	Geometrische Eigenschaften	Hodgkin-Huxley-Modell	Ionenkanalverteilung	verwendeter Ansatz	MEA-Elektrode
Modell I	zylindrisches Axon	grundlegendes Modell	homogen	EQS-Ansatz	-
Modell II	zylindrisches Axon	grundlegendes Modell	inhomogen	EQS-/CE-Ansatz	-
Modell III	zylindrisches Axon	Modell für Säugetierneuronen	homogen	EQS-Ansatz	-
Modell IV	stilisiertes Neuron	grundlegendes Modell	inhomogen	EQS-/CE-Ansatz	-
Modell V	stilisiertes, adherentes Neuron	grundlegendes Modell	inhomogen	EQS-Ansatz	-
Modell VI	stilisiertes, adherentes Neuron	Modell für Säugetierneuronen	inhomogen	EQS-Ansatz	-
Modell VII	stilisiertes, adherentes Neuron	Modell für Säugetierneuronen	inhomogen	EQS-Ansatz	✓
Modell VIII	stilisiertes, adherentes Neuron Schicht aus Gliazellen	grundlegendes Modell	inhomogen	EQS-Ansatz	✓
Modell IX	realistisches, adherentes Neuron	Modell für Säugetierneuronen	inhomogen	EQS-Ansatz	✓
Modell X	realistisches, adherentes Neuron mehrere Dendriten	Modell für Säugetierneuronen	inhomogen	EQS-Ansatz	✓
Modell XI	2 realistische, adherente Neuronen	Modell für Säugetierneuronen	inhomogen	EQS-Ansatz	✓

Ausgehend von einem Modell mit zylindrischer Axongeometrie und einheitlicher Ionenkanalverteilung wird zunächst der Einfluss einer inhomogenen Ionenkanalverteilung auf die resultierenden Potentialverläufe untersucht. Zudem wird der Unterschied zwischen dem grundlegenden Gleichungssystem und der adaptierten Version des Hodgkin-Huxley-

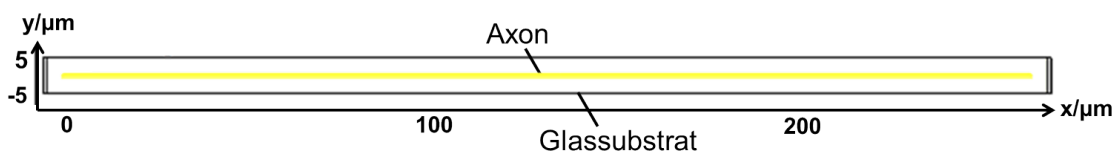
Modells analysiert. Während alle Modelle zunächst lediglich auf Basis des EQS-Ansatzes simuliert werden, erfolgt in einem gesonderten Abschnitt die Gegenüberstellung der Ergebnisse des EQS-basierten Modells mit den korrespondierenden Resultaten des CE-Ansatzes, um mögliche Unterschiede zwischen beiden Modellen zu identifizieren.

In einem zweiten Schritt wird die Komplexität der Modellgeometrie erhöht und die von einem zylindrischen Axon in ein vereinfachtes Neuron umgewandelt, um den Einfluss variierender Geometrieparameter zu untersuchen. Auch für dieses Modell werden zunächst die Ergebnisse des EQS-Ansatzes diskutiert und diese im Anschluss den entsprechenden Ergebnissen des CE-Ansatzes gegenübergestellt. Auf Basis dieser grundlegenden Charakterisierung erfolgt in Kapitel 6 die Integration einer extrazellulären Messelektrode in das Modell.

Die nachfolgenden Modelle werden hierbei mit Nummern referenziert, um den Vergleich der Ergebnisse besser verständlich zu gestalten. Teile dieses Kapitels wurden in [Bestel et al., 2017] veröffentlicht.

## 5.1 Simulation eines zylindrischen Axons - Modell I

Zur Bestimmung der grundlegenden Eigenschaften des FEM-Modells wird in Modell I eine vereinfachte Axongeometrie mit homogener Ionenkanalverteilung. Dies ist zwar eine deutliche Vereinfachung verglichen mit reellen Neuronen, jedoch kann mit Hilfe dieser Referenzlösung die Auswirkung von inhomogenen Ionenkanalverteilungen besser veranschaulicht und analysiert werden. Umgeben ist die Axongeometrie von einem Ausschnitt des extrazellulären Raums, der die Eigenschaften einer *in vitro* Umgebung aufweist (siehe Abb. 5.1).



**Abbildung 5.1:** Geometrie und Beschaffenheit des extrazellulären Raums von Modell I in der Seitenansicht. Die einheitliche blaue Einfärbung der Geometrie symbolisiert eine homogene Ionenkanalverteilung mit den Werten  $g_{Na} = 1200 \text{ S/m}^2$  und  $g_K = 360 \text{ S/m}^2$  (siehe Tabelle 3.1).

Basierend auf den Werten aus Tabelle 2.2 besteht die Geometrie von Modell I aus einem Zylinder mit einem Radius von  $0,5 \mu\text{m}$  und einer Länge von  $250 \mu\text{m}$  innerhalb eines quaderförmigen Ausschnitts des extrazellulären Raums. Die Ionenkanalkinetik an der Membran des Axons wird mit Hilfe der Werte des grundlegenden Hodgkin-Huxley-Modells aus Tabelle 3.1 beschrieben. Die Leitfähigkeiten des intra- und extrazellulären Raums betragen  $\sigma_i = 1 \text{ S/m}$  und  $\sigma_e = 0,3 \text{ S/m}$  [Moulin et al., 2008]. Für die relativen Permittivitäten wird jeweils mit  $\varepsilon_{i,e} = 88$  der Wert für eine wässrige Lösung angenommen. Die Randbedingungen des extrazellulären Raums sind analog zu Abbildung 3.11 definiert, das heißt an der Unterseite wird ein nichtleitendes Glassubstrat angenommen, während an den übrigen Rändern ein Massepotential von  $0 \text{ V}$  anliegt. Der Abstand zwischen dem

Axon und den äußeren Rändern des Modells beträgt  $5 \mu\text{m}$ .

Das Hodgkin-Huxley-Modell mit den Parametern aus Tabelle 3.1 würde nicht zu einer selbstständigen AP-Generierung innerhalb des Axons führen und das System müsste mit Hilfe eines externen Strom- oder Spannungsstimulus zur AP-Generierung angeregt werden. Da dies jedoch unerwünschte Artefakte innerhalb des Potentialverlaufs im intra- und extrazellulären Raums zur Folge hätte, wird die initiale AP-Generierung stattdessen durch eine Anpassung der Anfangswerte des Hodgkin-Huxley-Modells im Bereich der ersten  $10 \mu\text{m}$  des Axons ausgelöst. Hierfür wird das intrazelluläre Potential in diesem Bereich auf  $-46 \text{ mV}$  erhöht und die Werte der Gatingvariablen auf  $m = 0,4$  und  $n = 0,36$  angepasst. Dadurch wird ein Zustand beschrieben, bei dem sich Natrium- und Kaliumkanäle bereits teilweise geöffnet haben und der Prozess der AP-Generierung innerhalb der ersten  $10 \mu\text{m}$  begonnen hat (vgl. Kapitel 3.1.2).

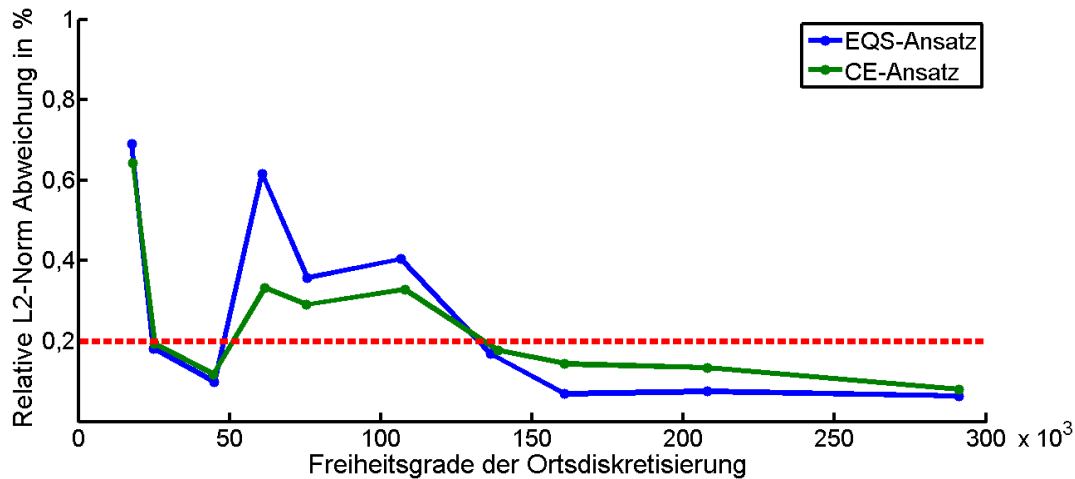
### Konvergenz von Modell I

Die geeignete Auflösung der Ortsdiskretisierung wurde mit Hilfe einer Konvergenzstudie durchgeführt. Im Zuge dessen wird Modell I mit unterschiedlichen Diskretisierungen gelöst und das Ergebnis mit einer Referenzlösung verglichen. Die relative Abweichung  $\delta_{Konv}(t)$  des elektrischen Potentials innerhalb der jeweiligen Diskretisierung  $\Phi_{level}(t)$  des modellierten Lösungsraums  $\Omega$  von der Referenz  $\Phi_{Ref}(t)$  kann mit Hilfe der  $L_2$ -Norm berechnet werden (vgl. [Xylouris, Wittum, 2015])

$$\delta_{Konv}(t) = \frac{\|\Phi_{level}(t) - \Phi_{ref}(t)\|_{L_2(\Omega)}}{\|\Phi_{ref}(t)\|_{L_2(\Omega)}}. \quad (5.1)$$

Der Wert für  $\delta_{Konv}(t)$  wird dabei für einen definierten Zeitpunkt im simulierten Zeitintervall  $[0, T]$  ermittelt. Da die Geometrie des Modells rotationssymmetrisch ist, erfolgt die Evaluation von  $\Phi_{level}(t)$  bzw.  $\Phi_{Ref}(t)$  anhand eines Ausschnitts entlang der  $xy$ -Ebene der Diskretisierung  $\Phi_{level}(t)$  des Lösungsraums  $\Omega$ . Dies erlaubt eine genauere Abtastung der ortsabhängigen Lösung mit einer Schrittweite von  $1 \mu\text{m}$  ohne die Datenmenge bzw. den notwendigen Rechenaufwand signifikant zu erhöhen. Durch Bildung des Mittelwerts von  $\delta_{Konv}(t)$  über das gesamte Intervall  $[0, T]$  ergibt sich die mittlere Abweichung  $\bar{\delta}_{Konv}$ , mit der zeitabhängige Änderungen der ortsbezogenen Konvergenz berücksichtigt werden. Hierbei zeigte sich, dass eine zeitliche Abtastung mit einer Schrittweite von  $0,5 \text{ ms}$  ausreichend ist, um die zeitabhängigen Änderungen adäquat zu erfassen.

Da für Modell I keine analytische Referenzlösung bestimmt werden kann, muss eine numerische Lösung mit deutlich feinerer Diskretisierung als Referenz  $\Phi_{Ref}(t)$  herangezogen werden (vgl. [Gobbert, 2007]). Es zeigte sich, dass eine numerische Lösung auf Basis einer Diskretisierung mit 560.000 Freiheitsgraden zur Evaluation des EQS- und des CE-Ansatzes dafür gut geeignet ist. Für den Zeitbereichslöser wurde hierbei ein maximal zugelassener Zeitschritt von  $10 \mu\text{s}$  definiert. Die Analyse der Konvergenz von Modell I in Abhängigkeit von der räumlichen Diskretisierung zeigt anfangs einen schwankenden Verlauf für beide Ansätze (siehe Abb. 5.2).



**Abbildung 5.2:** Änderung der mittleren relativen Abweichung  $\bar{\delta}_{Konv}$  bei einer maximalen Zeitschrittweite von  $10 \mu\text{s}$  in Abhängigkeit von der örtlichen Diskretisierungsaufösung angegeben in Freiheitsgraden. Während die Abweichung in der  $L_2$ -Norm grundsätzlich mit steigenden Freiheitsgraden sinkt, ergeben sich bei zu geringen Freiheitsgraden signifikante Schwankungen zwischen verschiedenen Diskretisierungen. Ab einer Diskretisierung mit ca. 130.000 Freiheitsgraden bleibt der Wert von  $\bar{\delta}_{Konv}$  stabil unterhalb einer Schwelle von 0,2 %.

Während eine detaillierte Betrachtung der Ergebnisse zeigt, dass der Verlauf des intra- und extrazellulären Potentials bei allen Simulationen weitestgehend identisch ist, variiert vor allem die Ausbreitungsgeschwindigkeit des AP entlang der Axongeometrie. Dies führt beispielsweise beim EQS-basierten Modell mit einer Diskretisierung durch ca. 60.000 Freiheitsgrade zu einem zeitlichen Versatz der Potentialverläufe gegenüber den Verläufen der Referenz von ca.  $30 \mu\text{s}$  am Ende der Axongeometrie. Der verhältnismäßig geringe Unterschied führt in der Folge zu einer deutlich höheren Abweichung von  $\bar{\delta}_{Konv} = 0,61 \%$ . Bei einer ausreichend hohen Auflösung verringert sich dieser Effekt signifikant, so dass ab einer Diskretisierung mit ca. 130.000 Freiheitsgraden, die mittlere relative Abweichung für beide Ansätze weniger als 0,2 % beträgt. Ab dieser Schwelle verringert sich auch der Effekt höherer Diskretisierungsaufösungen auf  $\bar{\delta}_{Konv}$  deutlich. Im Rahmen dieser Ergebnisse wurde eine räumliche Diskretisierung mit ca. 160.000 Freiheitsgraden, d.h. 89.500 Tetraederelementen erster Ordnung, als optimale Auflösung für Modell I ermittelt.

Im Anschluss wurde die maximale Schrittweite des BDF-Verfahrens für beide Ansätze evaluiert. Zwar ist die Stabilität des impliziten BDF-Verfahrens generell nicht vom Verhältnis zwischen der räumlichen und zeitlichen Diskretisierungsaufösung abhängig, jedoch muss ausgeschlossen werden, dass das Ergebnis der Simulation durch eine Veränderung dieses Verhältnisses beeinflusst wird (vgl. [Bondeson et al., 2000]).

Ausgehend von einem maximal zulässigen Zeitschritt von  $10 \mu\text{s}$  ist eine Erhöhung der Schrittweite nicht sinnvoll, da bei höheren Werten die Gefahr besteht, dass kürzere Ereignisse nicht erfasst werden würden. Folglich wurden lediglich kleinere Werte in Betracht gezogen. Sowohl für den EQS- als auch für den CE-Ansatz ergab ein Vergleich der Simulationsergebnisse bei einem maximal zulässigen Zeitschritt von  $1 \mu\text{s}$  gegenüber den bisher verwendeten  $10 \mu\text{s}$  nur minimale relative Abweichungen mit Werten von  $\bar{\delta}_{Konv} < 0,1 \%$ . Dies zeigt, dass das BDF-Verfahren dank der implementierten adaptiven Schrittweite auch

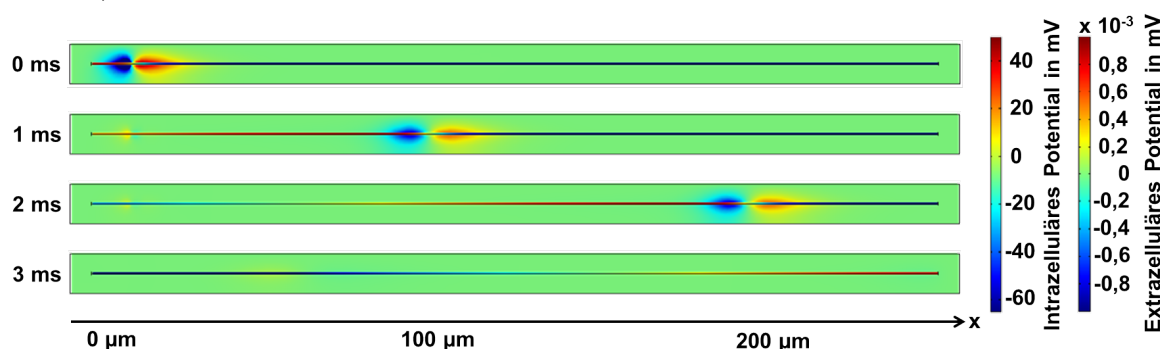
bei größeren, maximal zulässigen Zeitschritten nahezu identische Ergebnisse liefert. Folglich, hat die Änderung des Verhältnisses von räumlicher und zeitlicher Diskretisierungsaufösung in diesem Bereich keinen Effekt auf die numerische Lösung des Modells.

Zusammengefasst, erfolgt die räumliche Diskretisierung von Modell I mit einer Anzahl von 160.000 Freiheitsgraden und einer zeitlichen Diskretisierung mit einer maximalen Schrittweite von  $10\ \mu\text{s}$ . Unter Verwendung der in Kapitel 4 beschriebenen Hardware dauerte die Simulation von Modell I über einen Zeitraum von  $5\ \text{ms}$  ca. 3 Stunden.

### 5.1.1 Signalweiterleitung und extrazelluläres Potential

Zur grundlegenden Charakterisierung von Modell I wird zunächst die Lösung des Modells EQS-basierten Modells betrachtet. Im Anschluss daran erfolgt in einem gesonderten Abschnitt der Vergleich zwischen EQS- und CE-Ansatz.

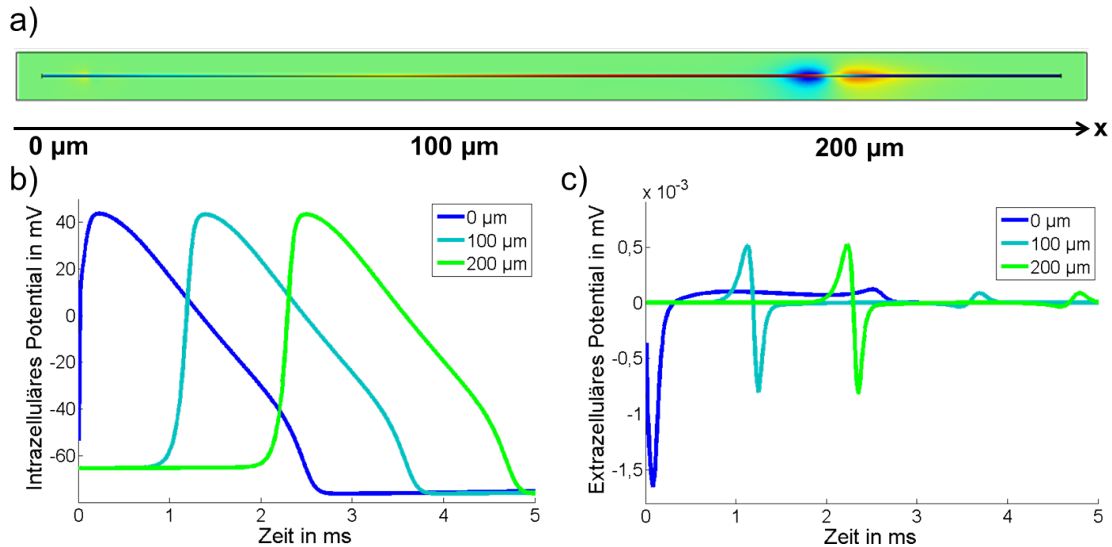
Die Simulation von Modell I ergibt ein AP, das am linken Rand der Axongeometrie ( $x = 0\ \mu\text{m}$ ) generiert wird und sich anschließend entlang des Axons ausbreitet (siehe Abb. 5.3).



**Abbildung 5.3:** Verlauf des intra- und extrazellulären Potentials innerhalb der Modellgeometrie von Modell I. Das am linken Rand generierte AP breitet sich kontinuierlich aus und depolarisiert weite Bereiche des Axons während der AP-Ausbreitung. Im extrazellulären Raum treten deutliche Potentiale lediglich am äußeren Rand der Axonmembran auf Höhe der Front des propagierenden AP auf.

Die Änderung der Anfangswerte des Hodgkin-Huxley-Modells in den ersten  $10\ \mu\text{m}$  der Axongeometrie führt zur Initiierung der AP-Generierung in diesem Bereich. Die resultierenden Transmembranströme verteilen sich im intrazellulären Raum und leiten somit die AP-Generierung in angrenzenden Bereichen des Axons ein. Die stetige Fortpflanzung des AP führt, analog zur Theorie der kontinuierlichen Erregungsleitung aus Abschnitt 2.3, zu einer fortlaufenden AP-Ausbreitung entlang des Axons. Durch das propagierende AP steigt das lokale intrazelluläre Potential zunächst auf  $42\ \text{mV}$  an und kehrt anschließend in einer länger anhaltenden Repolarisationsphase auf das Ruhepotential von  $-65\ \text{mV}$  zurück. Aufgrund des geringen Axondurchmessers ergeben sich innerhalb des intrazellulären Raums lediglich Potentialgradienten in Ausbreitungsrichtung entlang der  $x$ -Achse, während die intrazellulären Potentiale in  $y$ - und  $z$ -Richtung stets einheitliche Werte aufweisen.

Veränderungen des extrazellulären Potentials treten hauptsächlich während der initialen Depolarisation des lokalen Axonabschnittes auf, da in diesem Zeitraum die größten Transmembranströme auftreten (siehe Kapitel 3.1.1). Verglichen mit dem Wertebereich des intrazellulären Potentials sind die Werte des extrazellulären Potentials deutlich geringer und bewegen sich lediglich im einstelligen Mikrovoltbereich. Auffällig ist die Ausdehnung des depolarisierten Bereichs des intrazellulären Raums während der AP-Ausbreitung. Dieses Phänomen kann anhand der zeitlichen Verläufe des intrazellulären Potentials erklärt werden (siehe Abb. 5.4).



**Abbildung 5.4:** Zeitlicher Verlauf des intra- und extrazellulären Potentials entlang des Axons von Modell I mit geometrischer Referenz ( $t = 2$  ms, Farbskala analog zu Abb. 5.3) gezeigt in a). b) Die ortsunabhängige AP-Dauer von ca. 3 ms führt dazu, dass die Bereiche bei  $x = 0$  µm und  $x = 100$  µm bei  $t = 2$  ms noch nicht wieder vollständig repolarisiert sind. c) Am äußeren Rand der Membran ergeben sich vor allem im Zuge der lokalen Depolarisation und gegen Ende der lokalen Repolarisation signifikante Potentiale im extrazellulären Raum.

Im Zuge der AP-Ausbreitung wird in jedem Bereich des Axons ein gleichförmiges Aktionspotential mit einer Dauer von ca. 3 ms und einer Amplitude von 42 mV generiert (siehe Abb. 5.4b). Die Form und Dauer des erzeugten AP wird hierbei über die Parameter des Hodgkin-Huxley-Modells definiert und entsprechen den Ergebnissen aus Abschnitt 3.1. Wird die Ausbreitungsgeschwindigkeit anhand der lokalen AP-Maxima bestimmt, ergibt sich für Modell I ein konstanter Wert von ca. 80 mm/s. Somit breitet sich das AP in weniger als 3 ms über die Modellgeometrie aus und erreicht dessen Ende bei  $x = 250$  µm noch bevor die Repolarisation im initialen Bereich des Axons vollständig abgeschlossen ist (vgl. Abbildung 5.4a und 5.4b).

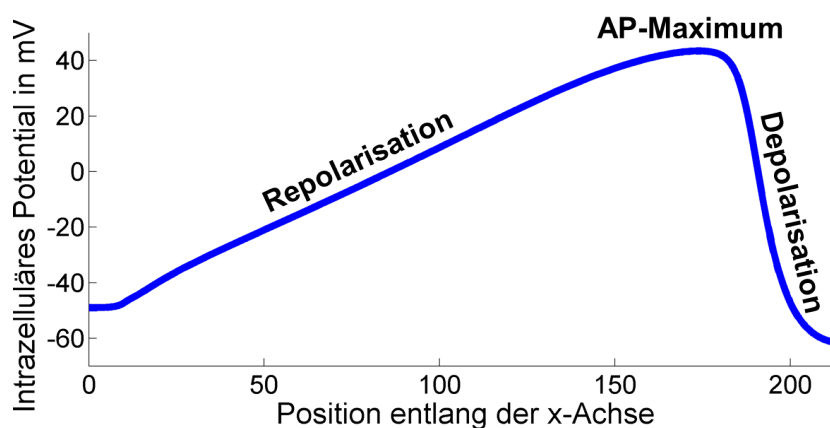
Im extrazellulären Raum treten signifikante Potentiale vor allem in den Zeitbereichen auf, in denen der intrazelluläre Raum des entsprechenden Axonabschnittes depolarisiert wird (siehe Abb. 5.4c). Aufgrund der geringen Permittivität zeigt das extrazelluläre Medium ein vorwiegend resistives Verhalten, so dass die Transmembranströme gemäß dem Ohmschen Gesetz eine proportionale Spannung erzeugen. Somit spiegelt der Verlauf des extrazellulären Potentials die lokalen Transmembranströme wieder. Analog zu den Po-

tentialverläufen im intrazellulären Raum sind auch die extrazellulären Potentialverläufe gleichförmig über weite Teile der Geometrie. Lediglich entlang der ersten 10  $\mu\text{m}$  des Axons treten Abweichungen auf, da an dieser Stelle der Prozess der AP-Generierung aufgrund der veränderten Anfangswerte des Hodgkin-Huxley-Modells modifiziert ist.

Der Zusammenhang zwischen den sich ergebenden intra- und extrazellulären Potentialen zeigt, dass vor allem die Front des AP eine entscheidende Rolle bei der AP-Ausbreitung spielt. Der über die Membran einfließende Ionenstrom verteilt sich im intrazellulären Raum in Ausbreitungsrichtung und führt zu einer initialen Depolarisierung der angrenzenden Bereiche. Solange das Schwellenpotential der  $\text{Na}^+$ -Ionenkanäle nicht erreicht ist, führt dies zu einem Ausströmen positiver Ionen über die  $\text{K}^+$ - bzw. Leckstromionenkanäle, um den Bereich der Zelle auf dem Ruhepotential zu halten. Dieser Prozess ist vergleichbar mit der Reaktion eines Neurons auf einen nicht ausreichend starken Stimulus, bei dem die AP-Generierung nicht angeregt wird und die Zelle lediglich auf das Ruhepotential zurück fällt (vgl. Abbildung 3.4a). Sobald jedoch das Schwellenpotential der  $\text{Na}^+$ -Ionenkanäle erreicht ist, wird der Prozess der AP-Generierung initiiert. In der Folge werden wiederum angrenzende Bereiche des Axons durch den einfließenden  $\text{Na}^+$ -Ionenstrom depolarisiert, wodurch der gesamte Prozess wiederholt und letzten Endes die AP-Ausbreitung erreicht wird.

Während das Ausströmen positiver Ionen zu einem positiven Potential an der Außenseite der Axonmembran führt, erzeugt das Einströmen von  $\text{Na}^+$ -Ionen ein negatives Potential (vgl. Abbildung 5.4c). Da die Repolarisation langsamer als die Depolarisation erfolgt, sind auch die Amplituden der sich ergebenden Transmembranströme kleiner und haben einen geringeren Einfluss auf das extrazelluläre Potential.

Die räumliche Verteilung des intrazellulären Potentials entlang der  $x$ -Achse des Axons zeigt die Form des AP, das sich entlang des Axons ausbreitet (siehe Abb. 5.5).



**Abbildung 5.5:** Verlauf des intrazellulären Potentials entlang der  $x$ -Achse des Axons zum Zeitpunkt 2 ms. Das sich ausbreitende Aktionspotential propagiert mit einer charakteristischen Form, die durch einen steilen Anstieg des Potentials zu Beginn sowie einem anschließenden Abflachen nach der Überschreitung des AP-Maximums gekennzeichnet ist.

Der resultierende Verlauf entspricht näherungsweise der gespiegelten Form des zeitabhängigen AP-Verlaufs (vgl. Abbildung 5.4b). Anhand der Darstellung wird der Effekt des steilen Potentialanstiegs zu Beginn der lokalen AP-Generierung verdeutlicht, durch dessen

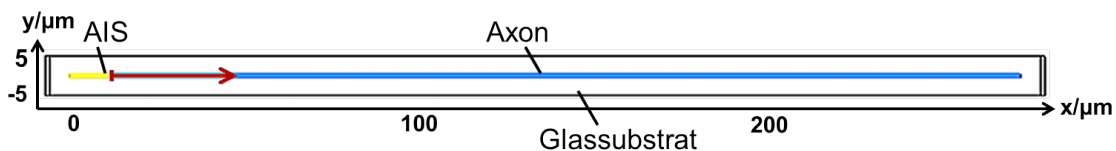
Ausbreitung entlang der  $x$ -Achse die Öffnung nachfolgender  $\text{Na}^+$ -Ionenkanäle ausgelöst wird.

Werden die Ergebnisse des Axonmodells mit Messwerten aus der Literatur bzw. mit den Ergebnissen ähnlicher Modelle verglichen, ergibt sich eine weitgehende Übereinstimmung. Sowohl die zeitabhängigen AP-Verläufe an einem festgelegten Punkt als auch der ortsabhängige Verlauf des intrazellulären Potentials zu einem bestimmten Zeitpunkt entsprechen den Darstellungen aus der Literatur (vgl. z.B. [Flehr, 2007; Xylouris, Wittum, 2015] bzw. [Rattay, 1990; Plonsey, Barr, 2007]). Die Verläufe des extrazellulären Potentials sind zudem vergleichbar mit den Simulationsergebnissen von [Pods et al. 2012], die ebenfalls die AP-Generierung und -Ausbreitung eines zylindrischen Axons nachbilden.

Allerdings weicht die resultierende Ausbreitungsgeschwindigkeit des AP mit 80 mm/s von gemessenen Werten aus der Literatur ab. Für die AP-Ausbreitung bei Säugetierneuronen wurde eine Geschwindigkeitsspanne von 100 mm/s bis 900 mm/s ermittelt [Gonzalez-Burgos et al., 2000; Dworak and Wheeler, 2009; Debanne et al., 2011; Lewandowska et al., 2015]. Folglich ist der simulierte Wert etwas geringer als erwartet und das Modell kann die realen Prozesse nur näherungsweise nachbilden. Um mögliche Gründe für diese Abweichung zu ermitteln wird das FEM-Modell im Folgenden verfeinert und zunächst die Auswirkungen von einer inhomogenen Ionenkanalverteilung auf das Ergebnis der Simulation untersucht.

### 5.1.2 Einfluss inhomogener Ionenkanalverteilung - Modell II

Anders als in Modell I definiert, ist die Verteilung der Ionenkanäle entlang der Membran eines Neurons nicht homogen, sondern variiert zwischen den einzelnen Teilbereichen. Am höchsten ist die Anzahl der Kanäle im initialen Axonsegment (engl. *Axon initial segment*, AIS), an dem die eigentliche AP-Generierung stattfindet. Im benachbarten Axonhügel und innerhalb des Soma sowie im weiteren Verlauf des Axons verringert sich die Anzahl der Ionenkanäle, da diese Bereiche lediglich ein bereits erzeugtes AP weiterleiten (vgl. Kapitel 2.2). Um diese Eigenschaft innerhalb der Axongeometrie nachzubilden, werden für Modell II die Parameter des Hodgkin-Huxley-Modells  $g_{\text{Na}}$  von  $1200 \text{ S/m}^2$  auf  $200 \text{ S/m}^2$  und  $g_{\text{K}}$  von  $360 \text{ S/m}^2$  auf  $200 \text{ S/m}^2$  verringert [Agudelo-Toro, Neef, 2013]. Lediglich entlang der ersten  $10 \mu\text{m}$  werden die Ursprungswerte beibehalten und ein definiertes AIS innerhalb des Modells erzeugt (siehe Abb. 5.6).



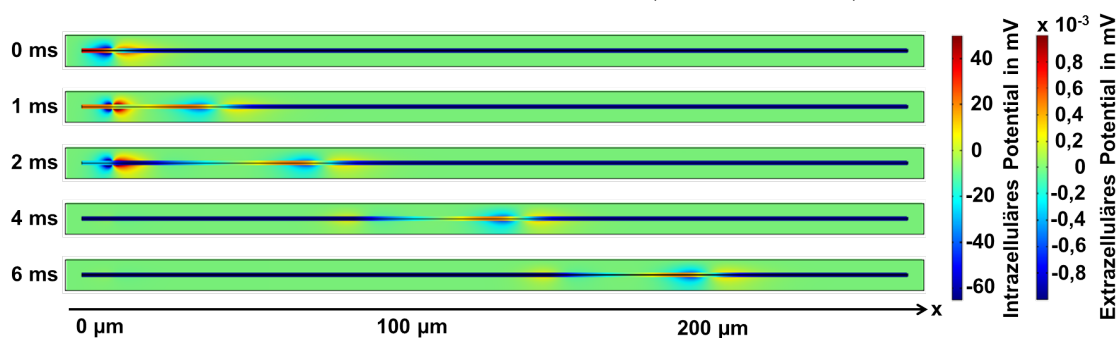
**Abbildung 5.6:** Geometrie und Ionenkanalverteilung von Modell II in der Seitenansicht. Die Einfärbung zeigt die unterschiedliche Verteilung der Ionenkanäle an, mit den Werten  $g_{\text{Na}} = 1200 \text{ S/m}^2$  und  $g_{\text{K}} = 360 \text{ S/m}^2$  entlang der Membran des AIS (gelb) sowie verringerten Werten  $g_{\text{Na}} = 200 \text{ S/m}^2$  bzw.  $g_{\text{K}} = 200 \text{ S/m}^2$  für das anschließende Axon (blau).

Die übrigen Parameter des Modells bleiben hingegen unverändert und auch die initiale



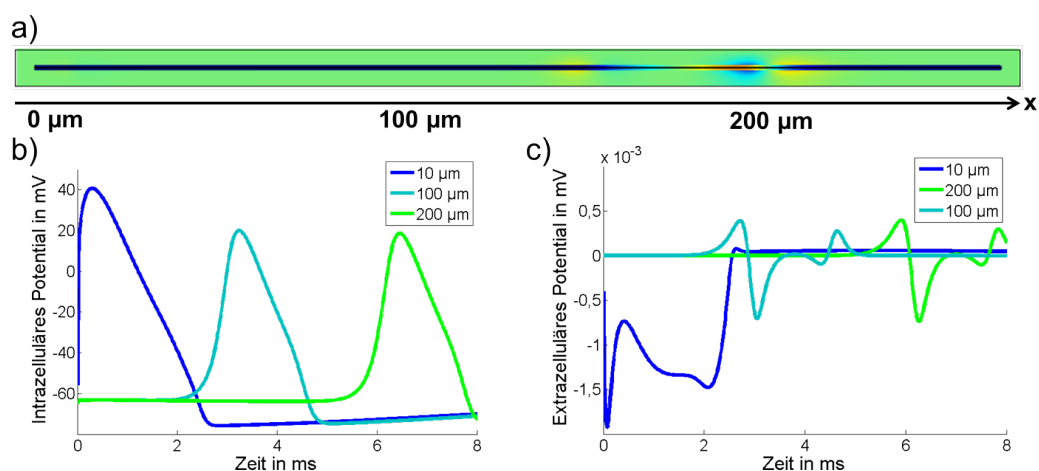
AP-Generierung erfolgt wie zuvor mit Hilfe adaptierter Anfangswerte innerhalb des AIS. Durch die inhomogene Ionenkanalverteilung steigt die Komplexität von Modell II verglichen mit Modell I. Folglich erhöht sich die benötigte Rechenzeit zur Simulation von Modell II auf Basis des EQS-Ansatzes über einen Zeitraum von 5 ms von 3 auf ca. 4 Stunden.

Die Simulation von Modell II ergibt eine signifikante Änderung der Ausbreitungsgeschwindigkeit des AP und zudem eine markante Veränderung des extrazellulären Potentialverlaufs im Bereich des Übergangs von AIS zu Axon (siehe Abb. 5.7).



**Abbildung 5.7:** Verlauf des intra- und extrazellulären Potentials in Modell II. Ähnlich wie in Modell I breitet sich das am AIS generierte AP entlang des Axons von links nach rechts aus. Durch die verringerte Ionenkanaldichte erfolgt jedoch die AP-Ausbreitung im Axon erheblich langsamer. Entlang des äußeren Rands der Axonmembran bildet sich zudem ein deutlich veränderter Potentialverlauf am Übergang von AIS und Axon während der ersten 2 ms aus.

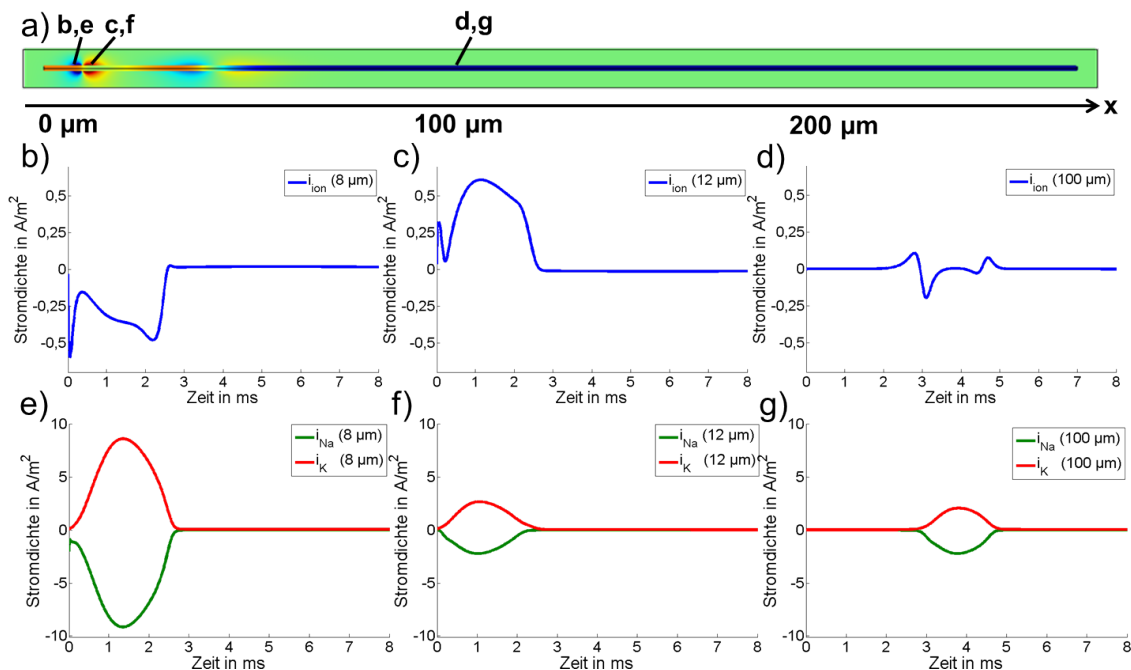
Die Verringerung der Ionenkanaldichte entlang des Axons senkt die Ausbreitungsgeschwindigkeit von 80 mm/s auf lediglich 33,8 mm/s. Des Weiteren ist der depolarisierte Bereich im Inneren des Axons stark verkleinert. Im extrazellulären Raum entlang der Axonmembran treten auffällige Potentiale an der Grenze zwischen AIS und Axon auf, an der sich die Verteilung der Ionenkanäle sprunghaft verändert (vgl. Abbildung 5.8).



**Abbildung 5.8:** Zeitlicher Verlauf des intra- und extrazellulären Potentials von Modell II mit geometrischer Referenz ( $t = 6$  ms, Farbskala analog zu Abb. 5.7) gezeigt in a). b) Durch die Modifikation der Ionenkanalverteilung verändert sich sowohl Amplitude als auch Form des propagierenden AP. c) Die Amplitude des extrazellulären Potentials sinkt zudem entlang des Axons, steigt jedoch deutlich am Übergang von AIS zu Axon.

Anders als die extrazellulären Potentiale an der Front des sich ausbreitenden AP, verändern die Potentiale am Übergang zwischen AIS und Axon nicht ihre Position, sondern bleiben bis zum Ende der Repolarisation des lokalen intrazellulären Raums erhalten. Eine genauere Betrachtung der zeitlichen Potentialverläufe zeigt, dass sich durch Veränderung der Ionenkanalverteilung die Amplitude des AP im Axon von 42 mV auf 20 mV verringert (siehe Abb. 5.8b). Die Dauer des AP ist mit ca. 2,8 ms geringfügig verkürzt und zudem sinkt die Steigung der depolarisierenden Flanke des AP-Verlaufs. Da zur Generierung des AP geringere Transmembranströme erforderlich sind, reduzieren sich die Amplituden des extrazellulären Potentials, das zusammen mit dem AP entlang des Axons propagiert (siehe Abb. 5.8c). Der grundsätzliche Verlauf der extrazellulären Potentiale bleibt jedoch in Bereichen mit homogener Ionenkanalverteilung vergleichbar mit Modell I (vgl. Abbildung 5.4c).

Die Form des extrazellulären Potentialverlaufs am Übergang zwischen AIS und Axon weist hingegen sichtbare Unterschiede auf. Dies deutet auf einen Effekt hin, der durch die inhomogene Ionenkanalverteilung in diesem Bereich ausgelöst wird. Diese These erhärtet sich bei einer genaueren Betrachtung der zeitlichen Verläufe der auftretenden Transmembranströme im Übergangsbereich (siehe Abb. 5.9).



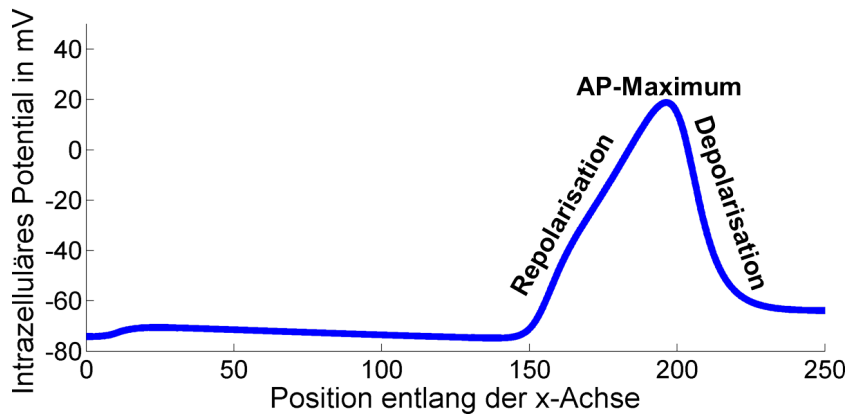
**Abbildung 5.9:** Verlauf der Transmembranströme sowie der  $\text{Na}^+$ - und  $\text{K}^+$ -Ströme in Modell II mit geometrischer Referenz ( $t = 1$  ms, Farbskala analog zu Abb. 5.7) gezeigt in a. b-d) Analog zu den extrazellulären Potentialverläufen weisen die zeitlichen Verläufe des Transmembranstroms im Übergangsbereich von AIS und Axon eine signifikante Abweichung von Verläufen in Bereichen mit homogener Ionenkanalverteilung auf. e-g) Auslöser hierfür sind veränderte  $\text{Na}^+$ - und  $\text{K}^+$ -Ströme, deren Amplituden und deren Verhältnis zueinander im Übergangsbereich erheblich variieren.

Analog zum Verlauf der extrazellulären Potentiale, weisen auch die auftretenden Transmembranströme im Bereich der inhomogenen Ionenkanalverteilung einen deutlich veränderten Verlauf auf. Während die entsprechende Ionenstromdichte  $i_{ion}$  am Ende des AIS

( $x = 8 \mu\text{m}$ ) ausschließlich negative Werte aufweist, ist der resultierende Verlauf am Beginn des Axons ( $x = 12 \mu\text{m}$ ) positiv (siehe Abb. 5.9b-d). Gemäß der Definition des Hodgkin-Huxley-Modells haben hierbei Ionenströme vom extrazellulären Raum in das Innere des Axons ein negatives und Ströme in den extrazellulären Raum ein positives Vorzeichen. Die Betrachtung der relevanten Teilströme des Transmembranstroms zeigt zunächst, dass die Amplituden der  $\text{Na}^+$ - und  $\text{K}^+$ -Ströme signifikant höher sind als der resultierende Transmembranstrom, sich jedoch zu einem großen Teil gegenseitig aufheben (siehe Abb. 5.9e-g). Zudem zeigt sich, dass sowohl der  $\text{Na}^+$ - als auch der  $\text{K}^+$ -Strom am Ende des AIS deutlich höher ist als im angrenzenden Axonabschnitt. Am Ende des AIS ist dabei in Summe der einströmende  $\text{Na}^+$ -Strom dominant, während am Beginn des Axons der ausströmende  $\text{K}^+$ -Strom vorherrscht. Werden die Verläufe der Ionenströme für jeden Bereich isoliert betrachtet, wird ersichtlich, dass diese allein nicht zur Ausbildung eines AP führen können. Stattdessen kann eine AP-Generierung in beiden Bereichen lediglich dann erfolgen, wenn die Transmembranströme beider Bereiche zusammen betrachtet werden. In diesem Fall wird der zur Depolarisation notwendige negative Strom am Ende des AIS und der für die Repolarisation notwendige positive Strom im Anfangsbereich des Axons generiert. Dies legt den Schluss nahe, dass sich beide Bereiche im Rahmen der AP-Generierung gegenseitig beeinflussen und dadurch das jeweilige Verhalten der lokalen Ionenkanäle verändert wird. Deutlich ist, dass bei dem auftretenden Effekt der Sprung der Ionenkanaldichte zwischen AIS und Axon von zentraler Bedeutung ist. Um diesen Zusammenhang besser verstehen zu können, gilt es zu prüfen, ob der entsprechende Gradient im Übergangsbereich einen Einfluss auf das Verhalten der Ionenkanäle hat. Aus diesem Grund wird das Phänomen mit Hilfe einer Parameterstudie in einem anschließenden Abschnitt detaillierter beleuchtet.

Der zweite signifikante Effekt, der aus der Veränderung der Ionenkanalverteilung des Axons resultiert, ist die deutlich verringerte AP-Ausbreitungsgeschwindigkeit. Die Ursache hierfür ist die verringerte Steigung der depolarisierenden Flanke des AP-Verlaufs im Bereich des Axons (siehe Abb. 5.8b). Dadurch verlangsamt sich die Depolarisation angrenzender Bereiche in Ausbreitungsrichtung und es wird eine größere Zeitspanne benötigt, um das Schwellwertpotential der  $\text{Na}^+$ -Ionenkanäle zu erreichen. Als Folge daraus verringert sich die Ausbreitungsgeschwindigkeit des AP, da der Prozess der AP-Neugenerierung verzögert wird. Darüber hinaus verkürzt sich auch die räumliche Ausdehnung propagierenden AP (siehe Abb. 5.10).

Analog zum zeitlichen Verlauf trägt auch die Amplitude des ortsabhängigen Potentialverlaufs lediglich 20 mV. Aufgrund der signifikant langsameren Ausbreitungsgeschwindigkeit bei näherungsweise identischer AP-Dauer verkleinert sich der depolarisierte Bereich des Axons (vgl. Abbildung 5.5). Somit ist die Ionenkanalverteilung nicht nur ein relevanter Faktor für die Amplitude und Form des AP, sondern beeinflusst auch signifikant die resultierende Ausbreitungsgeschwindigkeit und den intrazellulären Potentialverlauf.



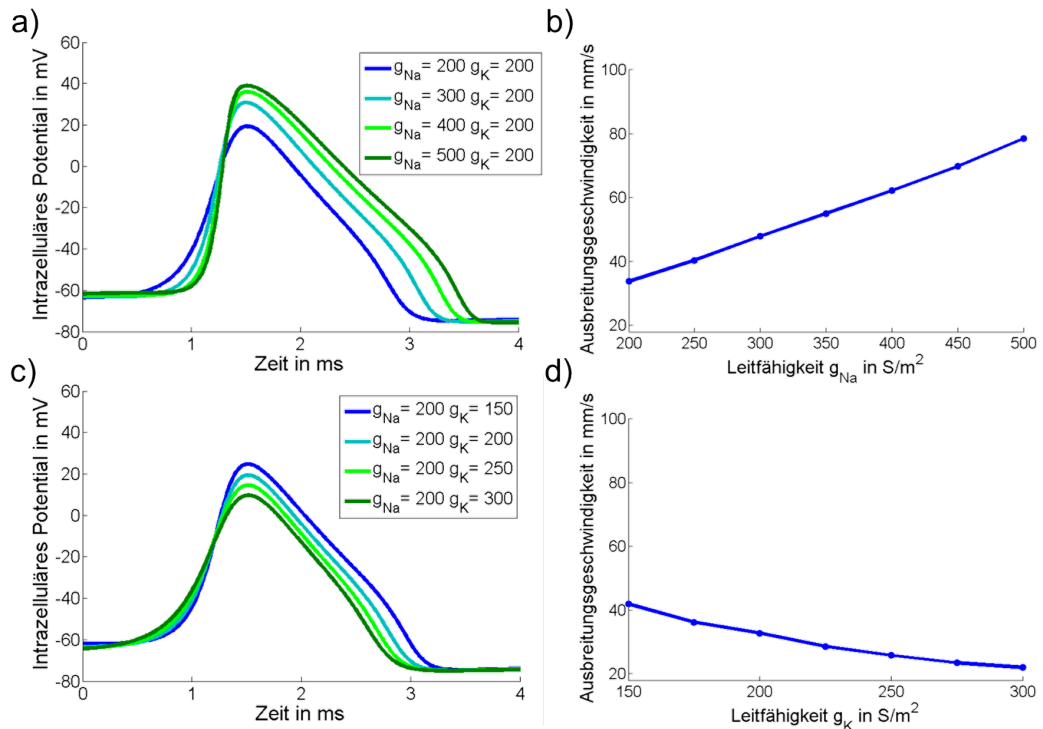
**Abbildung 5.10:** Verlauf des intrazellulären Potentials von Modell II entlang der  $x$ -Achse des Axons zum Zeitpunkt 6 ms. Die Amplitude des sich ausbreitenden AP ist deutlich kleiner als in Modell I. Zudem ergibt sich eine flachere Steigung an der Front des AP in Ausbreitungsrichtung. Durch die geringere Ausbreitungsgeschwindigkeit verglichen mit Modell I ist die Länge des sich ausbreitenden AP stark verkürzt.

### Einfluss der Ionenkanaldichte auf die Ausbreitungsgeschwindigkeit des AP

Wird die Dichte der Ionenkanäle im Bereich des Axons von Modell II systematisch untersucht, ergibt sich ein unterschiedlicher Zusammenhang zwischen der Dichte von  $\text{Na}^+$ - bzw.  $\text{K}^+$ -Ionenkanälen und der resultierenden AP-Ausbreitungsgeschwindigkeit (siehe Abb. 5.11).

Ausgehend von einer gleichförmigen Verteilung von  $\text{Na}^+$ - und  $\text{K}^+$ -Ionenkanäle mit  $g_{\text{Na}} = 200 \text{ S/m}^2$  und  $g_{\text{K}} = 200 \text{ S/m}^2$ , führt eine schrittweise Erhöhung von  $g_{\text{Na}}$  zu einem steileren AP-Verlauf (siehe Abbildung 5.11a). In der Folge steigt die resultierende Ausbreitungsgeschwindigkeit des AP auf bis zu  $78,5 \text{ mm/s}$  bei  $g_{\text{Na}} = 500 \text{ S/m}^2$  (siehe Abb. 5.11b). Demgegenüber führt eine Erhöhung von  $g_{\text{K}}$  dazu, dass die Steigung des AP-Verlaufs verringert wird und sich somit die Ausbreitung des AP verlangsamt (siehe Abb. 5.11c und 5.11d). So ergibt sich bei einer Erhöhung der Dichte der  $\text{K}^+$ -Ionenkanäle mit  $g_{\text{K}} = 300 \text{ S/m}^2$  lediglich eine Ausbreitungsgeschwindigkeit von  $22,0 \text{ mm/s}$ . Eine Variation der Ionenkanalverteilung ist jedoch nur in einem eingeschränkten Rahmen möglich, da ein zu hohes bzw. zu geringes Verhältnis zwischen  $\text{Na}^+$ - und  $\text{K}^+$ -Kanälen zu einem veränderten Verhalten der Hodgkin-Huxley-Gleichung führen kann (vgl. Kapitel 3.1.2). Wird z.B. bei einem konstantem Wert  $g_{\text{K}} = 200 \text{ S/m}^2$  eine Leitfähigkeit von  $g_{\text{Na}} > 500 \text{ S/m}^2$  angenommen, wird das Modell instabil und es erfolgt eine gleichzeitige AP-Generierung entlang der gesamten Axongeometrie. Wird im Gegensatz dazu bei einem festen Wert  $g_{\text{Na}} = 200 \text{ S/m}^2$  eine Leitfähigkeit von  $g_{\text{K}} > 300 \text{ S/m}^2$  definiert, schlägt die AP-Ausbreitung fehl, da angrenzende Bereiche des Axons nicht mehr ausreichend angeregt werden können.

Der Zusammenhang zwischen Ionenkanalverteilung und AP-Ausbreitungsgeschwindigkeit innerhalb des Axonmodells konnte bereits im Rahmen von Veröffentlichungen gezeigt werden. Während in [Kandel, 2013] und [Hu, Jonas, 2014] eine schnellere Ausbreitungsgeschwindigkeit bei einer höheren Dichte von  $\text{Na}^+$ -Ionenkanälen auf der Zellmembran beschrieben wird, diskutiert die Arbeit von [Zeng, 2005] u.a. die Reduzierung der Aus-



**Abbildung 5.11:** Einfluss der Ionenkanalverteilung entlang des Axons auf den AP-Verlauf und die resultierende Ausbreitungsgeschwindigkeit. a) Eine Erhöhung der Na<sup>+</sup>-Ionenkanaldichte durch den Parameter  $g_{Na}$  führt zu einem steileren AP-Verlauf und einer höheren Amplitude. b) Die Ausbreitungsgeschwindigkeit steigt mit höheren Werten von  $g_{Na}$ . c) Die Erhöhung des Parameters  $g_K$  führt zu einem gegenteiligen Effekt. d) In der Folge sinkt auch die resultierende AP-Ausbreitungsgeschwindigkeit bei höheren K<sup>+</sup>-Ionenkanaldichten.

breitungsgeschwindigkeit bei einer höheren Dichte von K<sup>+</sup>-Ionenkanälen. Ein quantitativer Vergleich zwischen den experimentellen Daten aus Literaturquellen ist jedoch problematisch, da das grundlegende Differentialgleichungssystem des Hodgkin-Huxley-Modells nicht auf Säugetierneuronen angepasst ist und somit ein anderes Verhalten der Ionenkanäle aufweist. Rein qualitativ betrachtet, wird die generelle Abhängigkeit zwischen Ionenkanaldichte und Ausbreitungsgeschwindigkeit von Modell II jedoch stimmig nachgebildet.

Zusammengefasst kann die signifikant verringerte Ausbreitungsgeschwindigkeit in Modell II durch die Dichte von Na<sup>+</sup> und K<sup>+</sup>-Ionenkanälen entlang des Axons erklärt werden. Mit Hilfe einer Anpassung der Leitfähigkeit  $g_{Na}$  des Hodgkin-Huxley-Modells kann diese jedoch auf einen Wert von ca. 80 mm/s erhöht und somit der Ausbreitungsgeschwindigkeit in Modell I angenähert werden.

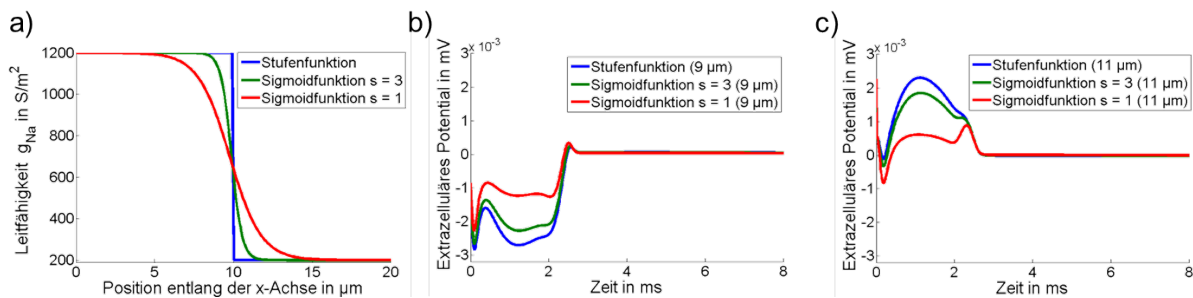
### **Einfluss des Übergangs bei inhomogener Ionenkanalverteilung auf den extrazellulären Potentialverlauf**

Verglichen mit Modell I zeigt die Lösung von Modell II deutlich veränderte extrazelluläre Potentialverläufe im Bereich des Übergangs von AIS und Axon. Eine Analyse der Transmembranströme in diesem Bereich ergibt zudem, dass die dort stattfindende Änderung der Ionenkanalverteilung ein modifiziertes Verhalten der Ionenkanäle hervor-

ruft. Der Übergang der Ionenkanaldichten ist hierbei durch eine abrupte Stufenfunktion modelliert. Die Ergebnisse von Modell II legen den Schluss nahe, dass hierbei der Gradient des Übergangs ein entscheidender Parameter ist und sich der Effekt bei einem kontinuierlichen bzw. flacheren Übergangsverlauf abschwächt. Um diese These zu überprüfen, wird der Übergang der Ionenkanalverteilung zwischen AIS und Axon mit einer kontinuierlichen Sigmoidfunktion anstatt einer Stufenfunktion modelliert

$$g_{ion_{Trans}}(x) = g_{ion_{Axon}} + \frac{g_{ion_{AIS}} - g_{ion_{Axon}}}{1 + e^{s(x-x_0)}} \quad \text{mit } g_{ion} = g_{Na}, g_K. \quad (5.2)$$

Die Funktion aus Gleichung (5.2) ermöglicht die Modellierung eines stetigen Übergangs zwischen der Ionenkanalverteilung  $g_{ion_{AIS}}$  des AIS und  $g_{ion_{Axon}}$  des Axons am Übergangspunkt  $x_0$ . Der Parameter  $s$  beschreibt dabei die Steigung des Übergangs. Für den Wert  $s = 3$  ergibt sich eine Sigmoidfunktion mit einem Übergangsbereich von ca.  $4 \mu\text{m}$ , wohingegen ein Wert  $s = 1$  einen flacheren Verlauf mit einem Übergangsbereich von ca.  $10 \mu\text{m}$  beschreibt (siehe Abb. 5.12a).



**Abbildung 5.12:** Einfluss des Übergangs der Ionenkanalverteilung zwischen AIS und Axon auf das extrazelluläre Potential von Modell II. a) Der Verlauf der Leitfähigkeit  $g_{Na}$  im Übergangsbereich zeigt beispielhaft den Verlauf der verwendeten Übergangsfunktionen. b) und c) Wird die Steigung des Gradienten der Ionenkanalverteilung verringert, nähern sich die Verläufe des extrazellulären Potentials am Ende des AIS bzw. am Beginn des Axons den Verläufen bei einer homogenen Ionenkanalverteilung an.

Durch die Implementierung der jeweiligen Sigmoidfunktion in Modell II verändern sich die extrazellulären Potentialverläufe an der Grenze zwischen AIS und Axon deutlich (siehe Abb. 5.12b und 5.12c). Sowohl die Verläufe des extrazellulären Potentials am Ende des AIS als auch am Beginn des Axons nähern sich bei flacher werdender Steigung den Verläufen bei einer homogenen Ionenkanalverteilung an. Gemäß der Erwartung ist dieser Effekt bei der flacheren Sigmoidfunktion mit  $s = 1$  umso stärker ausgeprägt. Aufgrund des Zusammenhangs zwischen dem Verlauf des extrazellulären Potentials und dem Verlauf des Transmembranstroms ergibt sich, dass auch die Kinetik der Ionenkanäle durch den gleichmäßigeren Übergangsverlauf weniger stark verändert wird.

Auf Basis der Ergebnisse von Modell II kann eine stimmige Erklärung für das Phänomen am Übergang von AIS und Axon entwickelt werden. Die Simulationen mit variierender Ionenkanalverteilung zeigen, dass die Amplitude und der Verlauf des generierten AP hauptsächlich durch die Dichte der  $\text{Na}^+$  und  $\text{K}^+$ -Ionenkanäle definiert werden. Eine höhere Ionenkanaldichte führt dabei zu einem ausgeprägteren AP-Verlauf mit höherer Amplitude

(vgl. Abbildung 5.8b). Dies bedeutet gleichzeitig, dass der im Rahmen der AP-Generierung erzeugte Transmembranstrom von der Ionenkanalverteilung abhängig ist. Des Weiteren erzeugt die lokale AP-Generierung Ionenströme im intrazellulären Raum des Axons, die dazu führen, dass angrenzende Bereiche in Ausbreitungsrichtung depolarisiert und zur AP-Generierung angeregt werden. Auf Basis dieser Mechanismen entwickelt sich in Bereichen des Axons mit homogener Ionenkanalverteilung ein gleichförmiger Prozess, der zu einheitlichen intra- und extrazellulären Potentialverläufen entlang der Ausbreitungsrichtung führt (vgl. Abbildung 5.4 und Abbildung 5.7).

Im Übergangsbereich zwischen AIS und Axon wird jedoch der Prozess der kontinuierlichen AP-Ausbreitung durch den Gradienten der Ionenkanalverteilung beeinflusst. Die AP-Generierung am Ende des AIS erzeugt größere Transmembranströme als eine vergleichbare AP-Generierung im Bereich des Axons. Folglich ist der resultierende Strom, der über den intrazellulären Raum in den Anfangsbereich des Axons fließt größer als der entsprechende Strom bei einem homogenen Axonbereich. Im Anfangsbereich des Axons führt dies zu einem höheren Verluststrom über die, auch im Ruhezustand nicht völlig geschlossenen,  $K^+$ -Ionenkanäle. Verglichen mit einem homogenen AIS-Bereich führt dieser Effekt wiederum dazu, dass das Ende des AIS langsamer depolarisiert wird. Die verlangsamte Depolarisierung kann in der Folge nur durch eine verlängerte Öffnungsphase der  $Na^+$ -Ionenkanäle am Ende des AIS kompensiert werden. In Summe führt dies zu erhöhten  $Na^+$ -Ionenströmen am Ende des AIS und zu erhöhten  $K^+$ -Ionenströmen am Beginn des Axons, die über die gesamte Dauer der AP-Generierung anhalten (vgl. Abbildung 5.9). Da der Effekt direkt durch den Gradienten der Ionenkanalverteilung ausgelöst wird, führt eine Verringerung des Gradienten zu einer Abschwächung des Effekts (vgl. Abbildung 5.12).

Folglich kann die extrazelluläre Potentialverteilung von Modell II stimmig erklärt werden. Allerdings zeigen die Ergebnisse, dass die Übergänge zwischen verschiedenen Bereichen eines Neurons mit unterschiedlicher Ionenkanalverteilung bestmöglich angenähert werden müssen. In dieser Hinsicht ergibt sich jedoch die Problematik, dass die Ionenkanalverteilung sowie die Veränderung der Ionenkanaldichte entlang der Zellmembran bisher noch nicht eindeutig bestimmt und noch Bestandteil aktueller Forschung ist (vgl. [Spruston et al., 2016]). Generell erscheint allerdings die Modellierung von Ionenkanalgradienten mit Hilfe von Sigmoidfunktionen eine realistischere Nachbildung als eine unstetige Stufenfunktion darzustellen. Als Konsequenz werden Übergänge von Ionenkanalverteilungen in nachfolgenden Modellen auf Basis der Sigmoidfunktion aus Gleichung 5.1 beschrieben.

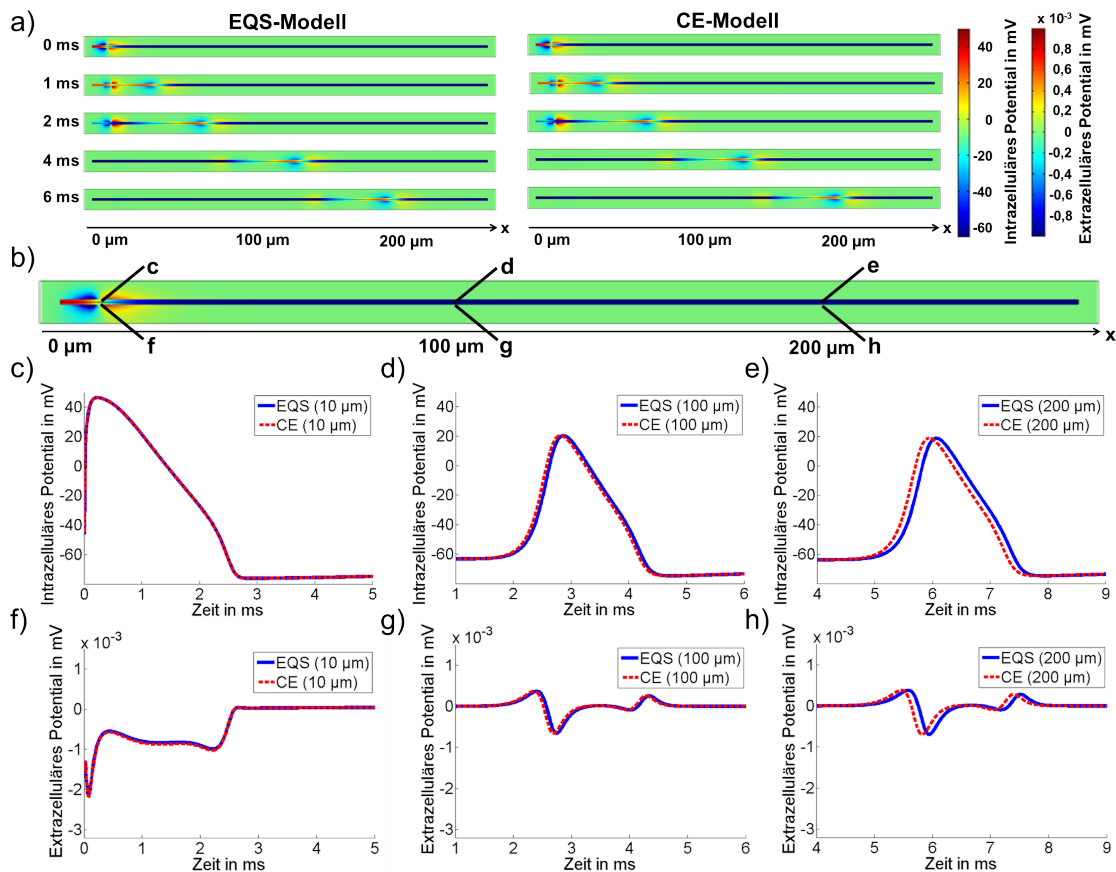
### 5.1.3 Vergleich von EQS- und CE-Ansatz

Sämtliche bisher vorgestellten Modelle basieren auf einer Beschreibung der AP-Ausbreitung mit Hilfe des EQS-Ansatzes. Um die gezeigten Effekte zu verifizieren und die Simulationsergebnisse besser mit den Resultaten von CE-basierten Modellen aus früheren Publikationen vergleichen zu können, wird Modell II im Folgenden mit beiden Ansätzen simuliert und die Ergebnisse gegenübergestellt. Für den Vergleich wird die in Abschnitt

5.1.2 eingeführte Sigmoidfunktion zur Modellierung des Übergangs der Ionenkanalverteilung zwischen AIS und Axon implementiert. Als Steigung wird der Wert  $s = 2$  definiert, da dadurch ein stimmiger Kompromiss zwischen dem Gradienten der Funktion und einer Ausdehnung des Übergangsbereichs von ca.  $5 \mu\text{m}$  erzielt wird. Die CE-basierte Simulation der AP-Ausbreitung mit Hilfe von Gleichung (3.42) erfordert die zusätzliche Definition der beiden Parameter  $r_i$  und  $r_m$ . Der spezifische Widerstand des intrazellulären Mediums ist dabei mit  $r_i = 1 \Omega\text{m}$  der Kehrwert der intrazellulären Leitfähigkeit  $\sigma_i$  und der spezifische Widerstand der Zellmembran mit  $r_m = 1/3 \Omega\text{m}^2$  der Kehrwert der Leitfähigkeit  $g_L$  der Leckströme (vgl. [Yu et al., 2012]).

Die Simulation von Modell II auf Basis des CE-Ansatzes benötigt etwas weniger als 4 Stunden und ist somit marginal schneller als die Simulation auf Basis des EQS-Ansatzes.

Eine Gegenüberstellung des EQS- und des CE-basierten Modells zeigt eine sehr gute Übereinstimmung zwischen beiden Ansätzen (siehe Abb. 5.13).



**Abbildung 5.13:** Vergleich des EQS- und CE-Ansatz auf Basis von Modell II. a) Beide Ansätze zeigen nahezu identische intra- und extrazelluläre Potentialverteilungen während der AP-Ausbreitung. c-h) Die zeitlichen Verläufe des intra- und extrazellulären Potentials an den in b) markierten Positionen stimmen nahezu vollständig überein, jedoch ergibt sich eine geringfügige zeitliche Verschiebung der Verläufe entlang der Ausbreitungsrichtung.

Sowohl die intrazellulären als auch die extrazellulären Potentialverläufe beider Simulationen sind nahezu deckungsgleich. Zudem ergibt sich innerhalb des CE-basierten Modells dieselbe Änderung des AP-Verlaufs entlang des Axons sowie identische Verläufe des extra-



zellulären Potentials im Bereich des Übergangs zwischen AIS und Axon. Somit bestätigt das CE-basierte Modell die Effekte einer inhomogenen Ionenkanalverteilung, die auf Basis der EQS-basierten Modelle identifiziert wurden. Anhand der zeitlichen Verläufe des intra- bzw. extrazellulären Potentials zeigt sich jedoch eine zeitliche Verschiebung zwischen beiden Modellansätzen, die im Laufe der AP-Ausbreitung größer wird. Der Grund hierfür ist eine geringfügig höhere Ausbreitungsgeschwindigkeit von 34,7 mm/s, innerhalb des CE-basierten Modells gegenüber 33,8 mm/s innerhalb des EQS-Modells. Durch die unterschiedlichen Ausbreitungsgeschwindigkeiten ergibt sich eine zeitliche Abweichung, die mit zunehmender Ausbreitungsrichtung ansteigt und gegen Ende der Axongeometrie ca. 100  $\mu$ s beträgt.

Die Ursachen für die unterschiedlichen Ausbreitungsgeschwindigkeiten können mit Hilfe des Vergleichs beider Gleichungssysteme aus Abschnitt 3.2.3 ermittelt werden. Bei der Überführung des EQS-Ansatzes in den CE-Ansatz wird zum einen die Permittivität  $\varepsilon_e$  des intrazellulären Mediums, zum anderen der Term des extrazellulären Potentials  $\varphi_e$  vernachlässigt. Während beide Größen keinen entscheidenden Einfluss auf die resultierenden Potentialverläufe im intra- und extrazellulären Raum haben, führt deren Vernachlässigung zu einer marginal schnelleren Ausbreitung des AP im intrazellulären Raum. Daraus ergibt sich eine etwas höhere Ausbreitungsgeschwindigkeit im CE-Ansatz, wodurch das Ergebnis der beiden Modelle mit zunehmender Distanz in der Ausbreitungsrichtung des AP divergiert.

Zusammengefasst kann jedoch eine weitestgehende Übereinstimmung der Ergebnisse des EQS- und CE-Ansatzes festgestellt werden, zumal die sich ergebende Abweichung auf Basis der getroffenen Annahmen bei der Herleitung des CE-Gleichungssystems erklärt werden kann.

#### 5.1.4 Einfluss des Hodgkin-Huxley-Modells für Säugetierneuronen - Modell III

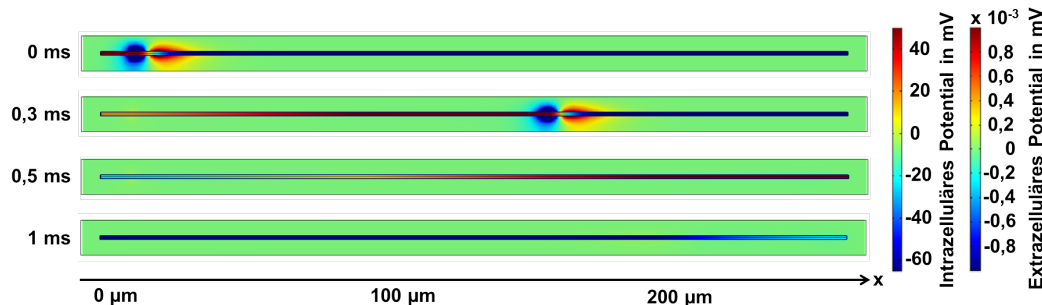
Bei keinem der bisherigen Modelle konnte eine Ausbreitungsgeschwindigkeit erreicht werden, die innerhalb des gemessenen Geschwindigkeitsbereichs für Säugetierneuronen von 100 mm/s bis 900 mm/s liegt. Ein Grund für die zu geringe AP-Ausbreitungsgeschwindigkeit ist die Verwendung des grundlegenden Hodgkin-Huxley-Modells bei dessen Referenztemperatur von 6,3 °C. Dies liegt daran, dass nicht nur die Dauer und Amplitude des AP durch die Umgebungstemperatur beeinflusst werden, sondern auch die Ausbreitungsgeschwindigkeit bei höheren Temperaturen ansteigt [Chapmann, 1967; Franz, Iggo, 1968; Debanne et al., 2011]. Das grundlegende Hodgkin-Huxley-Modell ist jedoch bei der für Säugetierneuronen typischen Temperatur von 37 °C nicht in unveränderter Form anwendbar. Aus diesem Grund würde eine reine Temperaturanpassung innerhalb des Modells auf Basis des grundlegenden Hodgkin-Huxley-System keine stimmigen Ergebnisse ergeben (vgl. Kapitel 3.1.3). Eine mögliche Alternative bietet das adaptierte Hodgkin-Huxley-Modell, dessen Ionenkanalkinetiken besser auf Säugetierneuronen abgestimmt sind [Yu et al., 2012]. Bei einer Temperatur von 37 °C generiert dieses Modell einen AP-Verlauf mit

einer Amplitude von ca. 60 mV und einer Dauer von ca. 1 ms (vgl. Abbildung 3.7).

Um zu testen, ob mit Hilfe des Modells auch eine realistischere Modellierung der AP-Ausbreitung möglich ist, wird es im Rahmen von Modell III anstatt des grundlegenden Hodgkin-Huxley-Modells in die Axongeometrie integriert. Als Basis hierfür wird Modell I mit einer homogenen Ionenkanalverteilung verwendet, da der Einfluss des modifizierten Hodgkin-Huxley-Systems auf Basis einer homogenen Ionenkanalverteilung präziser erfasst werden kann. Die Parameter für das modifizierte Hodgkin-Huxley-System können dabei aus Tabelle 3.2 entnommen werden. Innerhalb der Modellgeometrie wird eine homogene Ionenkanalverteilung mit  $g_{Na} = 1500 \text{ S/m}^2$  und  $g_K = 400 \text{ S/m}^2$  angenommen (vgl. [Yu et al., 2012]). Die übrigen Parameter und Randbedingungen bleiben unverändert und entsprechen Modell I aus Abschnitt 5.1.1, jedoch sind die Anfangswerte in den initialen  $10 \mu\text{m}$  des Modells auf das modifizierte Hodgkin-Huxley-Modell angepasst. Hierfür wird das intrazelluläre Potential in diesem Bereich auf  $-56 \text{ mV}$  angehoben und der Anfangswert der Gatingvariable für  $\text{Na}^+$ -Ionenkanäle auf  $m = 0,3$  erhöht. Als Umgebungstemperatur wird der für Säugetierneuronen typische Wert von  $37^\circ\text{C}$  angenommen.

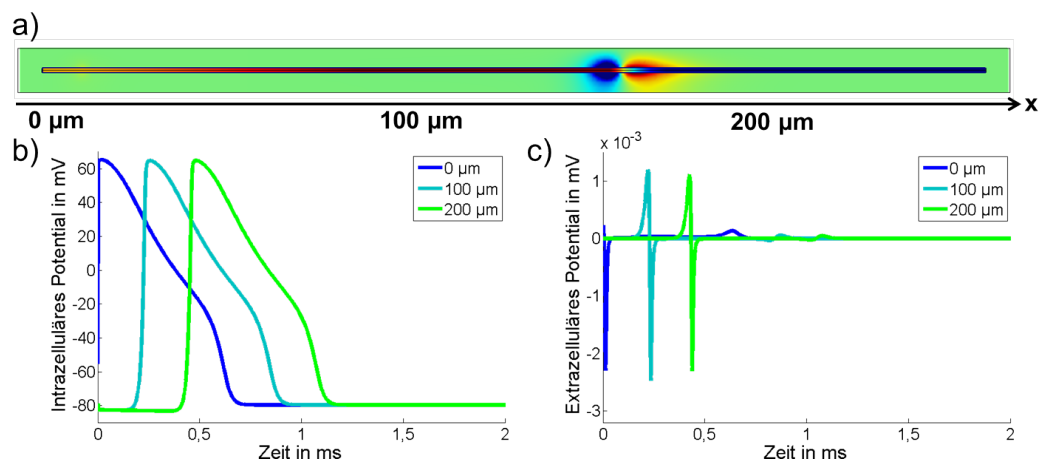
Die Simulation von Modell III benötigt ca. 4 Stunden für einen Zeitraum von 5 ms. Folglich führt die veränderte Ionenkanalkinetik des modifizierten Hodgkin-Huxley-Modells zu einer Erhöhung des Rechenaufwands der Simulation.

Die Lösung des sich daraus ergebenden Modells III zeigt, dass die veränderte Kinetik der Ionenkanäle zu einer deutlich schnelleren Ausbreitung des AP entlang des Axons führt (siehe Abb. 5.14).



**Abbildung 5.14:** Verlauf des intra- und extrazellulären Potentials in Modell III in der Seitenansicht. Das am linken Rand der Geometrie generierte AP breitet sich in weniger als 1 ms über das  $270 \mu\text{m}$  lange Axon aus. Analog zu Modell I treten signifikante Potentiale im extrazellulären Raum lediglich an der propagierenden Front des Axons auf.

Innerhalb der Axongeometrie erreicht das AP eine Ausbreitungsgeschwindigkeit von ca.  $430 \text{ mm/s}$ . Aufgrund der hohen Geschwindigkeit ist ein Großteil des intrazellulären Raums während der AP-Ausbreitung depolarisiert. Im extrazellulären Raum ergeben sich wiederum markante extrazelluläre Potentiale im Bereich der Front des sich ausbreitenden AP, deren Verlauf vergleichbar mit dem Ergebnis von Modell I ist (vgl. Abbildung 5.3). Eine genauere Analyse der zeitlichen Potentialverläufe im intra- und extrazellulären Raum zeigt, dass diese zwar qualitativ vergleichbar mit den Ergebnissen der bisherigen Modelle sind, jedoch einige signifikante Abweichungen auftreten (siehe Abb. 5.15).



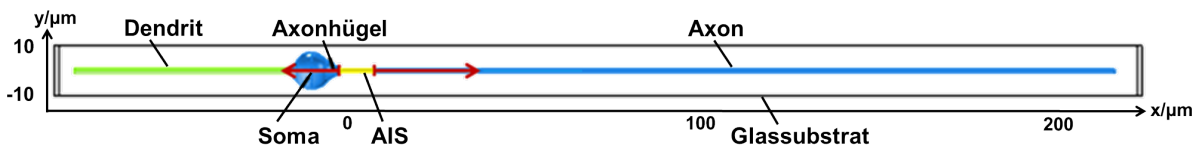
**Abbildung 5.15:** Zeitlicher Verlauf des intra- und extrazellulären Potentials in Modell III mit geometrischer Referenz ( $t = 0,3$  ms, Farbskala analog zu Abb. 5.14) gezeigt in a). b) Verglichen mit dem Ursprungsmodell weist das generierte AP eine höhere Amplitude bei einer signifikant kürzeren AP-Dauer auf. c) Analog dazu ergeben sich am äußeren Rand der Axonmembran deutlich verkürzte extrazelluläre Potentiale mit deutlich erhöhte Amplituden.

Die für Säugetierneuronen modifizierte Ionenkanalkinetik führt dazu, dass ein AP mit einer Amplitude von ca. 64 mV und einer Dauer von ca. 1 ms generiert wird (siehe Abb. 5.15b). Dies führt zu einer AP-Form mit einer deutlich erhöhten Flankensteilheit, so dass angrenzende Bereiche des Axons im Zuge der AP-Ausbreitung schneller depolarisiert werden. Die Folge daraus ist eine signifikant höhere Ausbreitungsgeschwindigkeit entlang des Axons. Die steilere AP-Form verändert zudem die Transmembranströme, die bei dessen Generierung erzeugt werden, da sowohl Depolarisation als auch Repolarisation in kürzerer Zeit erfolgen. Aufgrund des Zusammenhangs zwischen dem Transmembranstrom und dem resultierenden extrazellulären Potential, spiegelt sich das veränderte Ionenkanalverhalten in den Potentialverläufen an der Außenseite der Axonmembran wider (siehe Abb. 5.15c). Diese sind aufgrund der geringeren AP-Dauer kürzer als in Modell I, weisen jedoch ca. doppelt so hohe Amplituden auf.

In der Zusammenfassung stimmen die Ergebnisse des grundlegenden Hodgkin-Huxley-Modells qualitativ mit den Resultaten des modifizierten Differentialgleichungssystems überein und zeigen generell kein abweichendes Verhalten. Das modifizierte Modell ermöglicht jedoch eine stimmigere Nachbildung der AP-Verläufe von Säugetierneuronen und ergibt zudem eine Ausbreitungsgeschwindigkeit von 430 mm/s, die innerhalb des gemessenen Intervalls von 100 mm/s bis 900 mm/s liegt. Des Weiteren hat das modifizierte Verhalten der Ionenkanäle eine sichtbare Auswirkung auf die Amplituden der extrazellulären Potentialverläufe. Dieser Effekt ist vor allem bei der Simulation der extrazellulären Ableitung neuronaler Aktionspotentiale von Bedeutung, da die Verteilung des extrazellulären Potentials das Spannungssignal der Messelektrode entscheidend beeinflusst.

## 5.2 Simulation einer vereinfachten Neuronengeometrie - Modell IV

Die Ergebnisse der Modelle I-III zeigen, dass die Ionenkanalverteilung entlang der Zellmembran einen signifikanten Einfluss auf die Ausbreitung des generierten Aktionspotentials haben. Des Weiteren ergeben sich deutliche Änderungen innerhalb der Verteilung des extrazellulären Potentials, wenn eine nicht homogene Ionenkanalverteilung entlang der Axonmembran angenommen wird. Während die Modelle I-III lediglich das Axon in zylinderförmiger Annäherung untersuchten, wird in Modell IV die Geometrie eines Neurons mit den entsprechenden funktionalen Bereichen simuliert (siehe Abb. 5.16).



**Abbildung 5.16:** Vereinfachte Neuronengeometrie von Modell IV in der Seitenansicht. Die Einfärbung der Geometrie zeigt die unterschiedliche Verteilung der Ionenkanäle an, mit den Werten  $g_{Na} = 1200 \text{ S/m}^2$  und  $g_K = 360 \text{ S/m}^2$  entlang der Membran des AIS (gelb) und verringerten Werten  $g_{Na} = 200 \text{ S/m}^2$  und  $g_K = 200 \text{ S/m}^2$  für Soma, Axonhügel und Axon (blau). Auch entlang der Membran des Dendriten (grün) wird eine geringe Dichte von Ionenkanälen mit  $g_{Na} = 19 \text{ S/m}^2$  und  $g_K = 3 \text{ S/m}^2$  implementiert.

Hierfür wird die Modellgeometrie durch ein kugelförmiges Soma sowie ein damit verbundenes Dendrit erweitert. Die Verbindung zwischen Soma und Axon ( $x = -4 \text{ µm}$ ) wird mit Hilfe eines konusförmigen Elements hergestellt, das den Axonhügel repräsentiert. Der Übergang von Soma zu Dendrit ( $x = -14 \text{ µm}$ ) wird ebenfalls durch einen, sich verjüngenden Konus modelliert. Die Größe der einzelnen Bereiche ist mit den ermittelten Werten für ein Pyramidalneuron aus Tabelle 2.2 abgestimmt (siehe Tabelle 5.2).

**Tabelle 5.2:** Geometrische Parameter von Modell IV mit vereinfachter Neuronengeometrie

Parameter	Wert
Durchmesser des Soma	10 µm
Durchmesser des Axons	1 µm
Länge des Axons	215 µm
Anfangs/Enddurchmesser des Axonhügels	3 µm / 1 µm
Länge des Axonhügels	4 µm
Durchmesser des Dendrits	1,5 µm
Länge des Dendrits	60 µm
Anfangs/Enddurchmesser des Übergangs von Soma zu Dendrit	1,5 µm / 3 µm
Länge des Übergangs von Soma zu Dendrit	2 µm

Durch die Erweiterung des Modells ergibt sich eine Geometrie mit einem sich verändernden intrazellulären Volumen entlang der  $x$ -Achse. Analog zu den Modellen I-III wird die Umgebung der Neuronengeometrie in Form eines Ausschnittes des extrazellulären Raums

beschrieben. Für die grundlegende Charakterisierung des Modells wird zunächst ein Mindestabstand von 5  $\mu\text{m}$  zwischen der Zellmembran und dem Rand des extrazellulären Raums definiert. Nach der grundlegenden Analyse von Modell IV wird die Modellgeometrie und der Abstand von Neuron zur Bodenfläche in Modell V angepasst, um ein adherentes Neuron in einer *in vitro* Kultur nachzubilden.

Im Rahmen der Charakterisierung wird das grundlegende Hodgkin-Huxley-Modell verwendet, da dies den Vergleich der Ergebnisse mit den vorangegangenen Modellen sowie mit publizierten Simulationsmodellen vereinfacht. Für die einzelnen Bereiche der neuronalen Geometrie wird eine angepasste Ionenkanalverteilung definiert, mit der höchsten Ionenkanaldichte im Bereich des AIS und der geringsten Dichte entlang des Dendrit (siehe Tabelle 5.3).

**Tabelle 5.3:** Elektrophysiologische Parameter in Modell IV

Parameter	Wert
Anfangspotential von Soma, Axon und Dendrit	-65 mV
Anfangspotential des AIS	-46 mV
Spezifische Leitfähigkeit $g_{Na_{Soma}}$ der Membran für $\text{Na}^+$ -Ionen des Soma und Axonhügels <sup>1</sup>	200 S/m <sup>2</sup>
Spezifische Leitfähigkeit $g_{K_{Soma}}$ der Membran für $\text{K}^+$ -Ionen des Soma und Axonhügels <sup>1</sup>	200 S/m <sup>2</sup>
Spezifische Leitfähigkeit $g_{Na_{Dendrit}}$ der Membran für $\text{Na}^+$ -Ionen der Dendriten <sup>1</sup>	19 S/m <sup>2</sup>
Spezifische Leitfähigkeit $g_{K_{Dendrit}}$ der Membran für $\text{K}^+$ -Ionen der Dendriten <sup>1</sup>	3 S/m <sup>2</sup>
Spezifische Leitfähigkeit $g_{Na_{Axon}}$ der Membran für $\text{Na}^+$ -Ionen des Axon <sup>1</sup>	200 S/m <sup>2</sup>
Spezifische Leitfähigkeit $g_{K_{Axon}}$ der Membran für $\text{K}^+$ -Ionen des Axon <sup>1</sup>	200 S/m <sup>2</sup>
Spezifische Leitfähigkeit $g_{Na_{AIS}}$ der Membran für $\text{Na}^+$ -Ionen des AIS <sup>1</sup>	1200 S/m <sup>2</sup>
Spezifische Leitfähigkeit $g_{K_{AIS}}$ der Membran für $\text{K}^+$ -Ionen des AIS <sup>1</sup>	360 S/m <sup>2</sup>
Spezifische Leitfähigkeit $g_L$ der Membran für Ionen des Leckstroms entlang des Neurons <sup>1</sup>	3,3 S/m <sup>2</sup>
Ausgangswert der Gatingvariable m (adaptierter Wert innerhalb des AIS)	0,05 (0,4)
Ausgangswert der Gatingvariable n (adaptierter Wert innerhalb des AIS)	0,32 (0,36)
Ausgangswert der Gatingvariable h	0,6

Die Werte der Ionenkanaldichten in den einzelnen Bereichen des Neurons basieren hierbei auf den verwendeten Daten in [Agudelo-Toro, Neef, 2013]. Der Übergang zwischen Bereichen mit unterschiedlicher Ionenkanalverteilung wird mit Hilfe der Sigmoidfunktion aus Gleichung (5.2) beschrieben. Die Steigung der Funktion wird wiederum als  $s = 2$  definiert, um die Ausdehnung des Übergangsbereichs auf ca. 5  $\mu\text{m}$  zu begrenzen.

Die Umkehrpotentiale sowie das Ruhepotential des Hodgkin-Huxley-Modells entsprechen den Werten der Modelle I und II. Die initiale AP-Generierung erfolgt analog zu den vorangegangenen Modellen durch Anpassung der Anfangsbedingungen innerhalb des AIS.

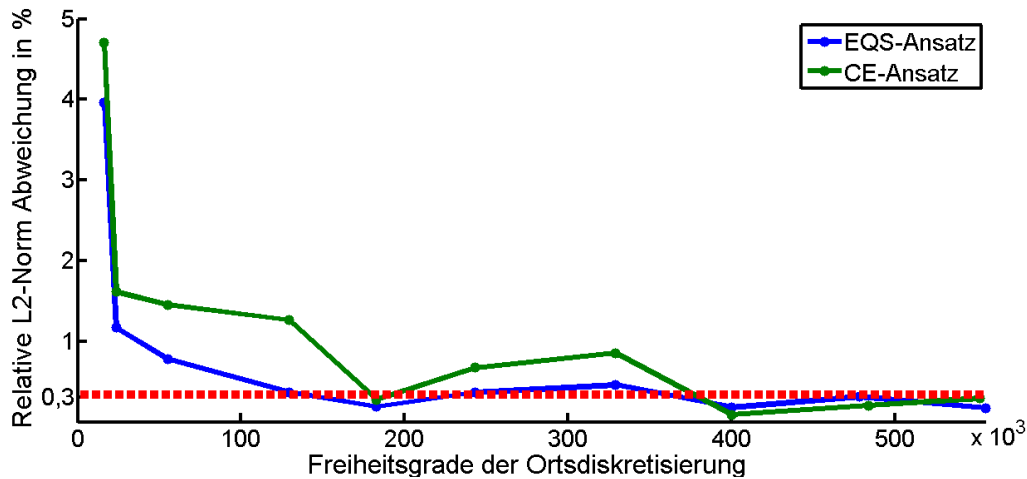
### Konvergenz von Modell IV

Aufgrund der veränderten Modellgeometrie wird analog zu Modell I zunächst eine Konvergenzstudie bezüglich der räumlichen Diskretisierungsaufösung durchgeführt. Die Evaluation erfolgt wiederum auf Basis der mittleren relativen Abweichung  $\bar{\delta}_{Konv}$  aus Gleichung

<sup>1</sup>[Agudelo-Toro, Neef, 2013]

(5.1). Die maximale Schrittweite des Zeitbereichslöser ist auf  $10 \mu\text{s}$  festgelegt. Als Referenz dient die numerische Lösung des Modells mit einer räumlichen Diskretisierung mit 1.000.000 Freiheitsgraden.

Wie bereits in Modell I ergibt sich für den EQS- und CE-Ansatz eine zunächst schwankende Konvergenz, die jedoch bei feineren Diskretisierungen immer gleichmäßiger wird (siehe Abb. 5.17).



**Abbildung 5.17:** Änderung der mittleren relativen Abweichung  $\bar{\delta}_{Konv}$  in Abhängigkeit von der Diskretisierungsauflösung für Modell IV. Die Anfangswerte von  $\bar{\delta}_{Konv}$  reduzieren sich schnell bei einer höheren Anzahl an Freiheitsgraden, schwanken jedoch zunächst noch relativ stark. Ab einer Diskretisierung mit ca. 400.000 Freiheitsgraden bleibt der Wert von  $\bar{\delta}_{Konv}$  stabil unterhalb einer Schwelle von 0,3 %.

Verglichen mit Modell I erfolgt die Konvergenz in diesem Fall für den CE-Ansatz langsamer als für das EQS-basierte Modell. Für beide Ansätze verringert sich die mittlere relative Abweichung ab einer Diskretisierung mit ca. 400.000 Freiheitsgraden nur noch geringfügig. Auch die zu erkennenden Schwankungen fallen ab dieser Diskretisierungsauflösung deutlich geringer aus, so dass der Wert von  $\bar{\delta}_{Konv}$  bei höheren Auflösungen konstant unterhalb von 0,3 % bleibt. Auf Basis dieser Ergebnisse wurde für die Neuronengeometrie in Modell IV eine optimale Diskretisierung mit 400.000 Freiheitsgraden bzw. 249.000 Tetraederelementen erster Ordnung ermittelt.

Hinsichtlich der Konvergenz des BDF-Verfahrens ergibt sich auch für das Modell der Neuronengeometrie, dass eine Verringerung der maximalen Schrittweite von  $10 \mu\text{s}$  auf  $1 \mu\text{s}$  zu keiner merkbaren Abweichung der Lösung des Modells führt.

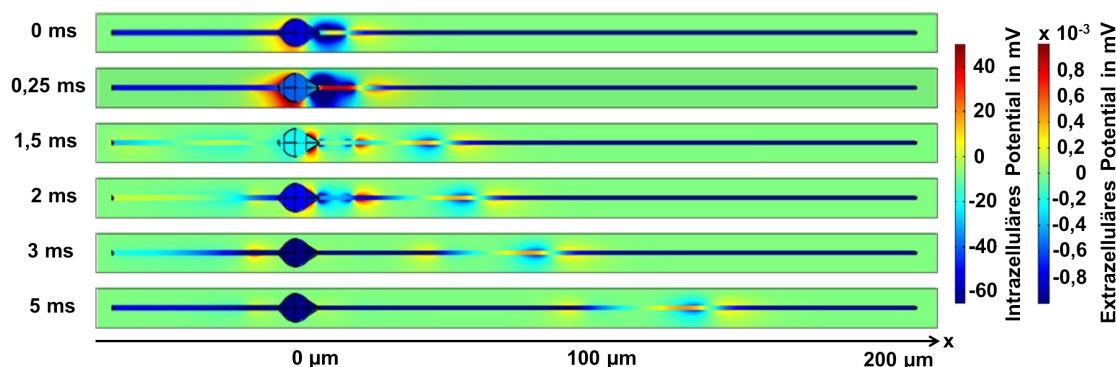
Folglich werden die nachfolgenden Modelle mit einer Anzahl von 400.000 Freiheitsgraden diskretisiert und eine maximale Schrittweite von  $10 \mu\text{s}$  für den Zeitbereichslöser verwendet.

Die höhere Komplexität von Modell IV gegenüber den vorangegangenen Modellen I-III führt zu einer deutlichen Erhöhung der zur Lösung notwendigen Rechenzeit. Die Simulation des Modells über einen Zeitraum von 5 ms dauerte ca. 13 Stunden auf Basis des EQS-Ansatzes und ca. 11 Stunden für das CE-basierte Modell. Somit bestätigte sich die geringere Rechenintensität des CE-Ansatzes, die in der Tendenz bereits in Abschnitt 5.1.3 zu erkennen war.

Im Rahmen von Modell IV wird für eine grundlegende Analyse der Ergebnisse zunächst der EQS-Ansatzes verwendet. Im Anschluss daran erfolgt wiederum der Vergleich dieser Resultate mit den Ergebnissen des CE-basierten Modells.

### 5.2.1 Signalweiterleitung und extrazelluläres Potential

Durch die Erweiterung der Modellgeometrie um Soma, Axonhügel und Dendrit kann sich das im AIS generierte AP in Modell IV sowohl in das Axon als auch zurück in Richtung Soma und Dendrit ausbreiten (siehe Abb. 5.18).

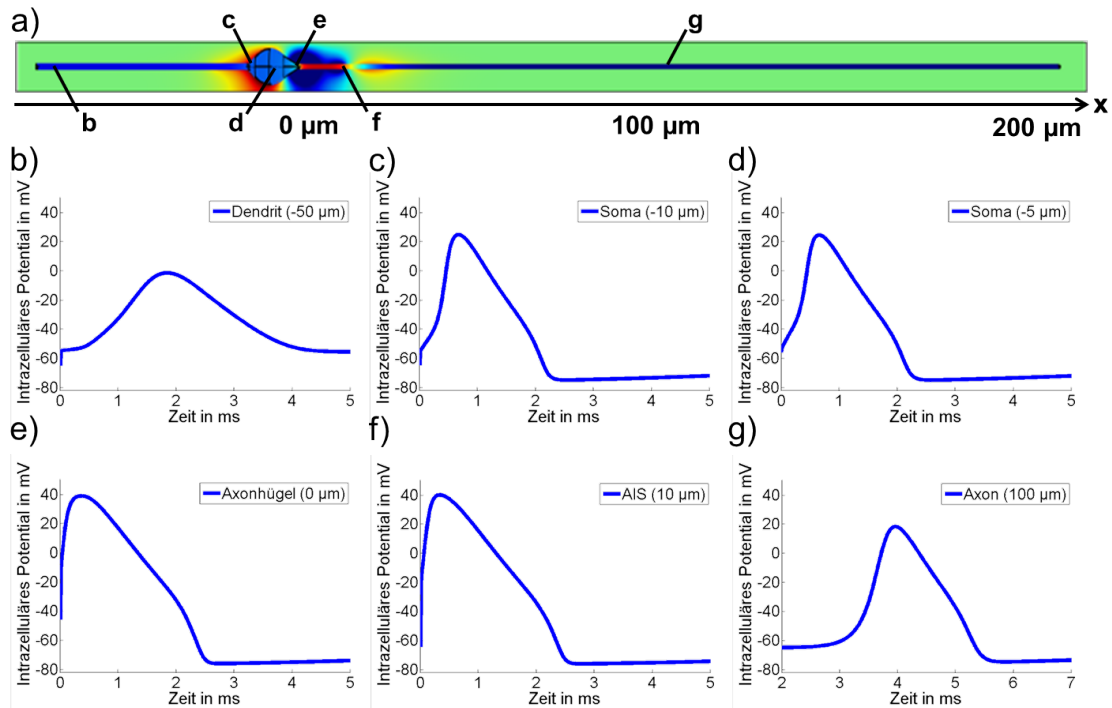


**Abbildung 5.18:** Verlauf des intra- und extrazellulären Potentials in Modell IV in der Seitenansicht. Ausgehend vom AIS propagiert das generierte AP zum einen entlang des Axons und zum anderen zurück in das Soma und in den Dendrit. Im extrazellulären Raum ergibt sich ein auffälliger Potentialverlauf im Bereich der Somageometrie.

Die rückwärts gerichtete Ausbreitung des AP wird als *backpropagation* bezeichnet und ist ein bekanntes Phänomen der elektrischen Aktivität neuronaler Zellen [Rapp et al., 1996; Bernard, Johnston, 2003; Buskila et al., 2013]. Das Auftreten des Effekts ist dabei von der Zellgeometrie und der Ionenkanalverteilung entlang der Dendriten abhängig. In diesem Zusammenhang ist das im Modell implementierte Verhältnis von  $\text{Na}^+$ - zu  $\text{K}^+$ -Ionenkanälen auf der Membran des Dendrits ausreichend, um den Effekt der *backpropagation* innerhalb der Simulation nachzubilden. Wie bereits in den Modellen I-III ergeben sich im intrazellulären Raum keine Potentialgradienten in  $y$ - und  $z$ -Richtung, sondern lediglich in Ausbreitungsrichtung entlang der  $x$ -Achse.

Im extrazellulären Raum treten wiederum sichtbare Potentiale an der Front des propagierenden AP sowie am Übergang von AIS zu Axon auf. Darüber hinaus ergeben sich signifikante Potentialverläufe in der Umgebung des Soma.

Eine genauere Betrachtung der intrazellulären Potentialverläufe zeigt, dass die Form des generierten AP abhängig von der lokalen Ionenkanalverteilung variiert (siehe Abb. 5.19). Die AP-Verläufe im AIS und im Axon stimmen dabei mit den Ergebnissen von Modell II überein (vgl. Abbildung 5.8). Entlang des Dendrits ergibt sich eine AP-Form mit signifikant verringerter Amplitude von  $-1,7$  mV gegenüber einer Amplitude von  $43$  mV innerhalb des AIS. Zudem sind Unterschiede im generierten AP-Verlauf zwischen Soma und Axon zu erkennen. Hierbei ist die Amplitude des AP innerhalb des Soma mit einem Wert von  $24,5$  mV höher als die Amplitude des axonalen AP mit  $18,3$  mV.



**Abbildung 5.19:** Zeitlicher Verlauf des intrazellulären Potentials von Modell IV mit geometrischer Referenz ( $t = 0,25$  ms, Farbskala analog zu Abb. 5.18) gezeigt in a). b-g) In Abhängigkeit der Ionenkanalverteilung ergeben sich unterschiedliche AP-Verläufe in den jeweiligen Bereichen des Neurons. Die höchste AP-Amplitude ergibt sich im Bereich des Axonhügels und des daran anschließenden AIS, die geringste Amplitude weist der AP-Verlauf innerhalb des Dendriten auf.

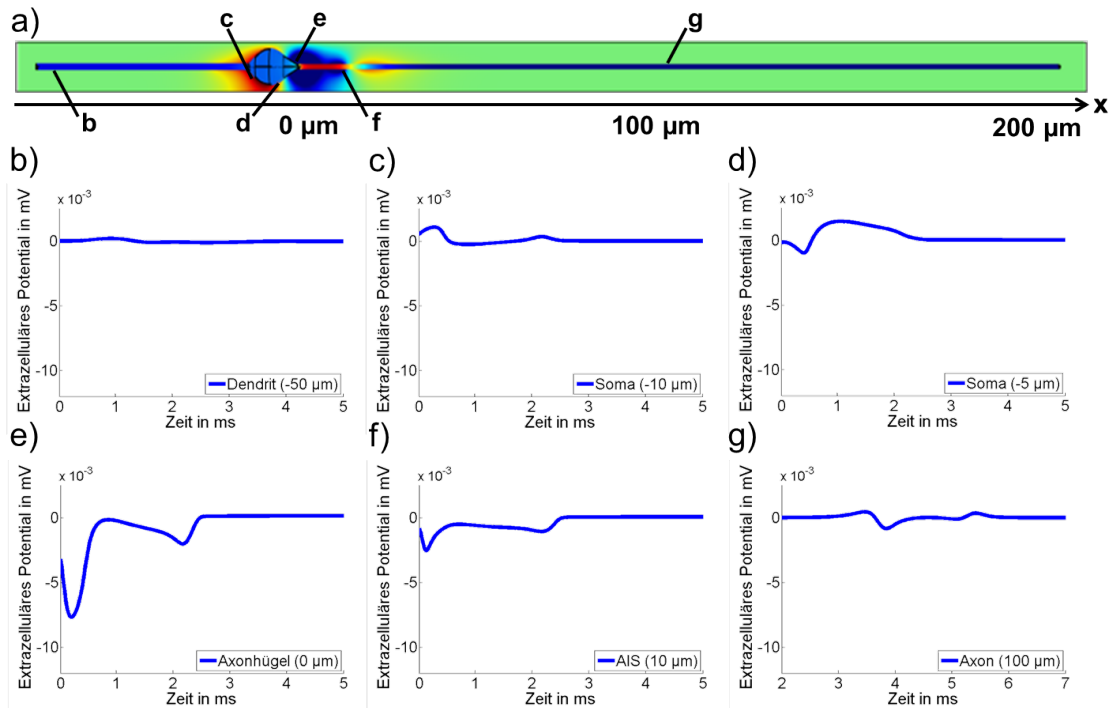
Diese Abweichung deutet auf einen Effekt der eingeführten Somageometrie hin, da die Ionenkanalverteilung entlang der Membran in beiden Bereichen identisch ist. Wird die Ausbreitungsgeschwindigkeit auf Basis der lokalen AP-Maxima berechnet, ergibt sich ein Wert von ca. 29,5 mm/s entlang des Axons und ca. 27,5 mm/s innerhalb des Dendriten. Der Bereich des Soma wird hingegen in weniger als 100 µm vom propagierenden AP durchquert, was einer Geschwindigkeit von mehr als 100 mm/s entspricht.

Die geringfügig verringerte AP-Ausbreitungsgeschwindigkeit entlang des Axons verglichen mit 33,8 mm/s in Modell II ergibt sich durch die zusätzliche Ausbreitung des AP in Richtung des Soma. Die bei der initialen AP-Generierung in das AIS einströmenden Transmembranströme werden in Modell IV in beide Richtungen aufgeteilt, wodurch die Depolarisierung des Anfangsbereichs des Axons geringfügig verzögert wird.

Analog zu den AP-Verläufen sind auch die extrazellulären Potentialverläufe am Außenrand der Zellmembran im Bereich von AIS und Axon identisch mit den Simulationsergebnissen der Axongeometrie (siehe Abb. 5.20).

Aufgrund der geringen Anzahl an Ionenkanälen entlang der Membran des Dendriten treten in diesem Bereich keine merklichen extrazellulären Potentiale auf (siehe Abb. 5.20b). Auffällig sind jedoch signifikante Potentialverläufe am Außenrand von Soma und Axonhügel (siehe Abb. 5.20c-e). Vor allem im Bereich des Axonhügels ergibt sich ein extrazelluläres Potential, dessen Verlauf zwar Ähnlichkeiten mit dem Potential außerhalb des AIS in Modell II aufweist, welches jedoch eine ca. dreimal höhere Amplitude aufweist.

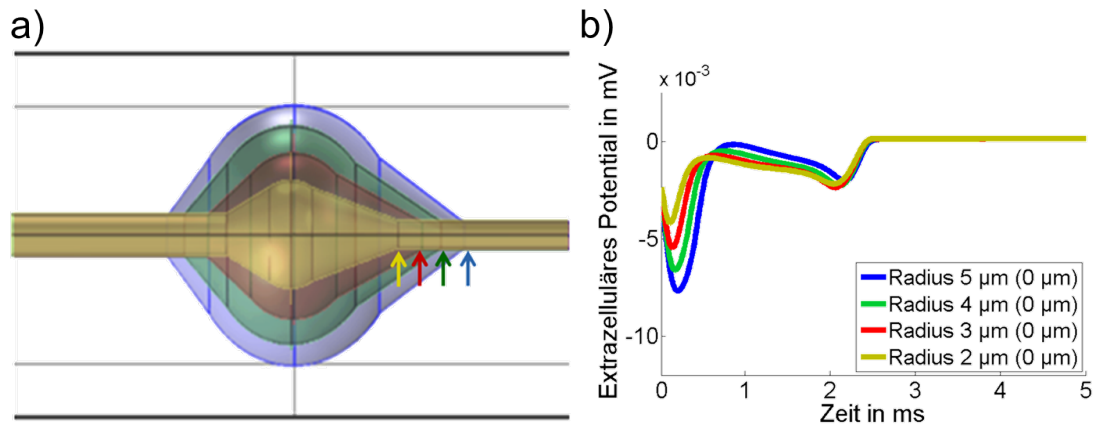




**Abbildung 5.20:** Zeitlicher Verlauf des intra- und extrazellulären Potentials in Modell IV mit geometrischer Referenz ( $t = 0,25$  ms, Farbskala analog zu Abb. 5.18) gezeigt in a). b-g) Während die extrazellulären Potentialverläufe im Bereich des AIS und des Axons den Verläufen aus Modell II entsprechen, ergeben sich zusätzlich signifikante Potentiale an der Außenseite von Axonhügel und Soma mit deutlich höheren Amplituden.

Während das extrazelluläre Potential im Bereich des Axonhügel ausschließlich negative Werte aufweist, ergibt sich im hinteren Bereich des Soma eine hauptsächlich positive Potentialverteilung über den Zeitraum der AP-Generierung. Obwohl die Ionenkanalverteilung im Bereich von Soma und Axonhügel homogen ist, ähnelt das Phänomen dem Effekt der inhomogenen Ionenkanalverteilung am Übergang von AIS und Axon ( $x = 10 \mu\text{m}$ ). Der Verlauf der extrazellulären Potentiale ist in vergleichbarer Weise modifiziert, jedoch ergeben sich deutlich höhere Amplituden. Da der extrazelluläre Potentialverlauf direkt die entsprechenden Transmembranströme widerspiegelt, zeigt die Veränderung der Verläufe im Umkreis des Soma, dass das Verhalten der Ionenkanäle in diesem Bereich beeinflusst wird. Das Ausmaß des Effektes hängt hierbei vom Radius der kugelförmigen Somageometrie ab (siehe Abb. 5.21).

Mit sinkendem Radius des Soma, nähert sich die Geometrie des Neurons sukzessive der Geometrie des zylinderförmigen Axons an (siehe Abb. 5.21a). Dementsprechend verringert sich die Amplitude des extrazellulären Potentialverlaufs am Axonhügel signifikant (siehe Abb. 5.21b). Während die Amplitude am Axonhügel bei einem Somaradius von  $5 \mu\text{m}$  noch  $-7,7 \mu\text{V}$  beträgt, ist sie bei einem Radius von  $2 \mu\text{m}$  bereits auf  $-4,2 \mu\text{V}$  reduziert. Die Parameterstudie bestätigt, dass die Geometrie des Soma einen Einfluss auf den Verlauf des extrazellulären Potentials und somit auch auf das Verhalten der Ionenkanäle in diesem Bereich hat. Das Phänomen basiert dabei auf einem ähnlichen Effekt, wie die Änderung der Ionenkanalkinetik am Übergang von AIS und Axon aufgrund der inhomogenen Ionenkanalverteilung.



**Abbildung 5.21:** Änderung des extrazellulären Potentialverlaufs an der Außenseite des Axonhügels bei Verringerung des Radius der Somageometrie. a) Die Verringerung des Radius der kugelförmigen Soma führt zu einem kleineren Verhältnis zwischen intrazellulärem Volumen und Membranoberfläche. b) Als Folge ergeben sich deutlich kleinere Amplituden bei verkleinerter Somageometrie.

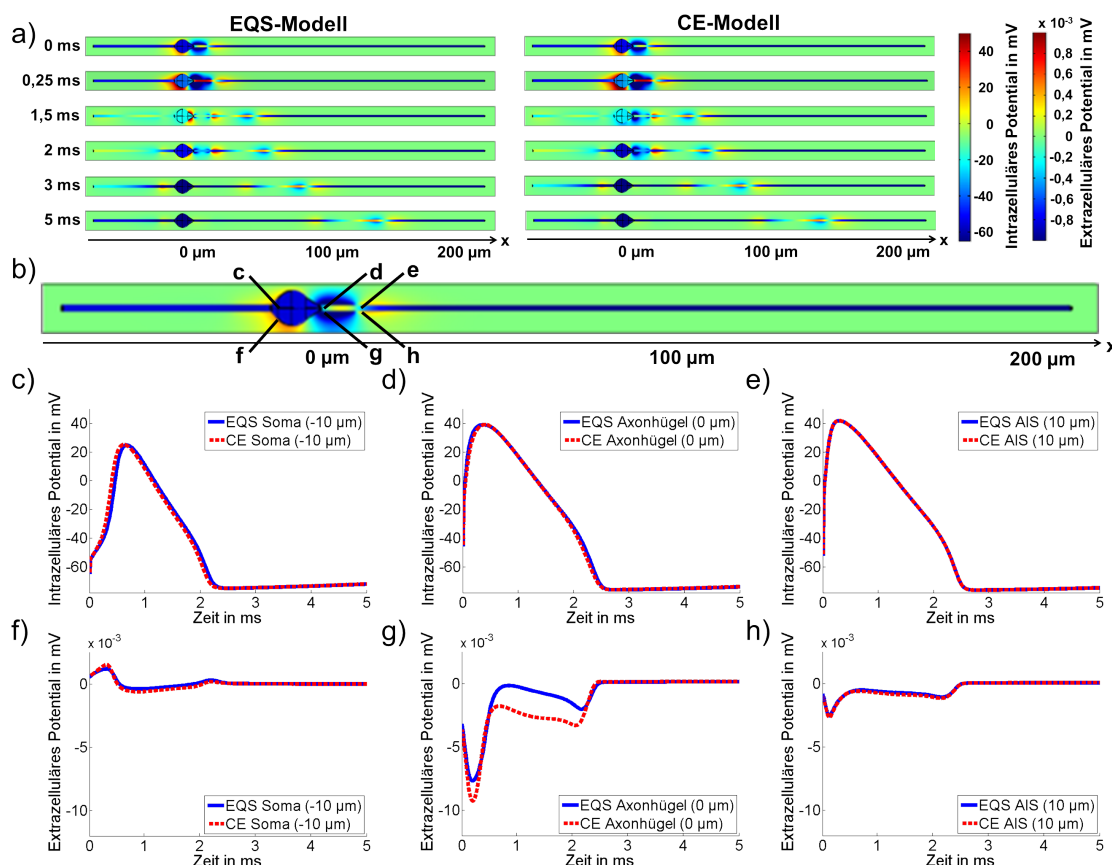
Zwar ist diese im Bereich von Axonhügel und Soma identisch, jedoch ändert sich das Verhältnis von Membranoberfläche zum intrazellulären Volumen in diesem Bereich. Dadurch verringert sich die Anzahl an Ionenkanälen, die zur Depolarisierung bzw. zur anschließenden Repolarisierung für ein definiertes Volumen zur Verfügung stehen. Wird das Verhältnis der Anzahl von Ionenkanälen pro Volumen betrachtet, ergibt sich eine ähnliche Inhomogenität wie zwischen AIS und Axon in Modell II. Infolgedessen reduziert sich das Ausmaß des Effektes bei einer Reduzierung des Somaradius, da dies wiederum die ortsabhängige Änderung des Ionenkanal-zu-Volumen-Verhältnisses verringert.

Dies führt zu dem Schluss, dass die beiden beobachteten Effekte im Grunde dasselbe Phänomen darstellen. Sobald sich ortsabhängige Unterschiede im Verhältnis zwischen der Ionenkanalverteilung auf der Zellmembran und dem dazugehörigen intrazellulären Volumen ergeben, verändern sich die Transmembranströme, die in diesem Bereich generiert werden. Dabei bewirken veränderte Ströme im intrazellulären Raum eine Modifikation des Öffnungsverhaltens der Ionenkanäle im Übergangsbereich, so dass deutliche Veränderungen im Verlauf der entsprechenden Transmembranströme entstehen. Dies wiederum führt dazu, dass sich das resultierende extrazelluläre Potential deutlich verändert und die ortsabhängigen Potentialverläufe signifikant voneinander variieren können.

### 5.2.2 Vergleich von EQS- und CE-Ansatz

Zur Verifikation der Ergebnisse des EQS-Ansatzes wird Modell IV mit dem bis dato häufiger verwendeten CE-Ansatz gelöst und die Ergebnisse beider Ansätze verglichen. Die Implementierung des CE-basierten Modells erfolgt dabei mit den identischen Rand- und Anfangsbedingungen des EQS-basierten Modells. Die zylinderförmigen Bereiche der Modellgeometrie werden beim CE-Ansatz mit Hilfe von Gleichung (3.42) gelöst, während der Bereich des Soma sowie des Axonhügels mit Gleichung (3.43) berechnet wird.

Analog zu Modell II zeigen die Ergebnisse des CE-basierten Modells eine große Ähnlichkeit zu den Ergebnissen des EQS-Ansatzes in Modell IV (siehe Abb. 5.22).



**Abbildung 5.22:** Vergleich des EQS- und CE-Ansatzes auf Basis von Modell IV. a) Im Rahmen der AP-Ausbreitung ergeben sich vergleichbare Potentialverteilungen im intra- und extrazellulären Raum, jedoch sind geringfügige Abweichungen an der Außenseite des Axonhügels erkennbar. c-e) Die zeitlichen Verläufe des intrazellulären Potentials an den in b) markierten Positionen sind nahezu identisch. f-h) Im Gegensatz dazu sind die Verläufe des extrazellulären Potentials zwar vergleichbar, zeigen jedoch ebenfalls quantitative Unterschiede nahe des Axonhügels.

Auch auf Basis des CE-Ansatzes ergibt sich ein signifikant veränderter Potentialverlauf im extrazellulären Raum im Umkreis des Soma und bestätigt somit das entscheidende Ergebnis des EQS-basierten Modells. Zudem ist das Ergebnis in Einklang mit dem Ergebnis des CE-basierten *multi-compartment*-Modells aus [Holt, Koch, 1999], das eine vergleichbare Somageometrie betrachtet. Eine detailliertere Gegenüberstellung der Ergebnisse beider Ansätze zeigt eine weitgehende Übereinstimmung der intrazellulären Potentialverläufe sowie des Verhaltens der Modelle im Rahmen der AP-Ausbreitung. Analog zum Vergleich beider Ansätze anhand von Modell II ergibt sich sowohl entlang des Axons als auch entlang des Dendrits eine um ca. 0,5 mm/s höhere AP-Ausbreitungsgeschwindigkeit innerhalb des CE-basierten Modells.

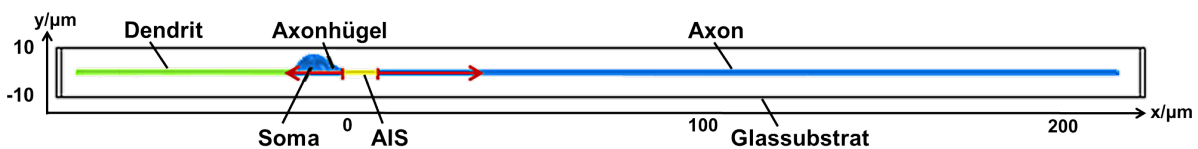
Im Gegensatz dazu sind nahe des Axonhügels und des Soma quantitative Abweichungen der extrazellulären Potentialverläufe zwischen EQS- und CE-Ansatz erkennbar (siehe Abb. 5.22g). Dies zeigt, dass die Lösung von Gleichung (3.43) des CE-Ansatzes in diesem Bereich nicht vollständig mit der Lösung von Gleichung (3.62) des EQS-Ansatzes übereinstimmt.

Untermauert wird dieser Schluss von Ergebnissen der Modelle in [Tveito et al., 2017], die eine zunehmende Divergenz der Ergebnisse beider Ansätze bei größer werdenden intrazellulären Volumina aufzeigt. Die Gründe für diesen Zusammenhang sind wiederum die getroffenen Vereinfachungen im Rahmen der Herleitung des CE-Differentialgleichungssystems, wodurch ein Teil des extrazellulären Potentials sowie die Permittivität des intrazellulären Mediums vernachlässigt werden (vgl. Kapitel 3.2.3). Besonders die fehlende Berücksichtigung der Permittivität führt dabei zu höheren Abweichungen zwischen beiden Ansätzen im Falle eines größeren Volumens des Zellinneren.

Zusammenfassend sind die Abweichungen zwischen EQS- und CE-Ansatz in diesem Fall zwar größer als bei Modell II, stimmen jedoch weiterhin größtenteils überein. Der entscheidende Effekt der Somageometrie auf die resultierenden Potentialverläufe im extrazellulären Raum ist in beiden Ansätzen eindeutig erkennbar, während die quantitativen Unterschiede zwischen den Ergebnissen beider Ansätze auf Basis der jeweiligen Herleitung erklärt werden können.

### 5.2.3 Simulation eines adhärenenten Neurons - Modell V

Der Vergleich zwischen den Simulationsergebnissen der Modelle I und II mit den Resultaten von Modell IV zeigt bereits, dass die Geometrie des Neurons einen deutlichen Einfluss auf die resultierenden Potentiale im extrazellulären Raum hat. Im nächsten Schritt erfolgt daher eine weitere Anpassung der Neuronengeometrie, um ein adherentes Neuron in einer *in vitro* Kultur besser nachzubilden. Hierfür wird in Modell V die Unterseite der bisherigen Geometrie abgeflacht, alle übrigen Modellparameter jedoch beibehalten (siehe Abb. 5.23). Für Modell V kann lediglich der EQS-Ansatz verwendet werden, da der CE-Ansatz für nicht rotationssymmetrische Geometrien ungeeignet ist. Um den Einfluss der vorgenommenen Änderung besser bestimmen zu können, wird das Ergebnis von Modell V mit dem Resultat des EQS-Ansatzes von Modell IV verglichen.

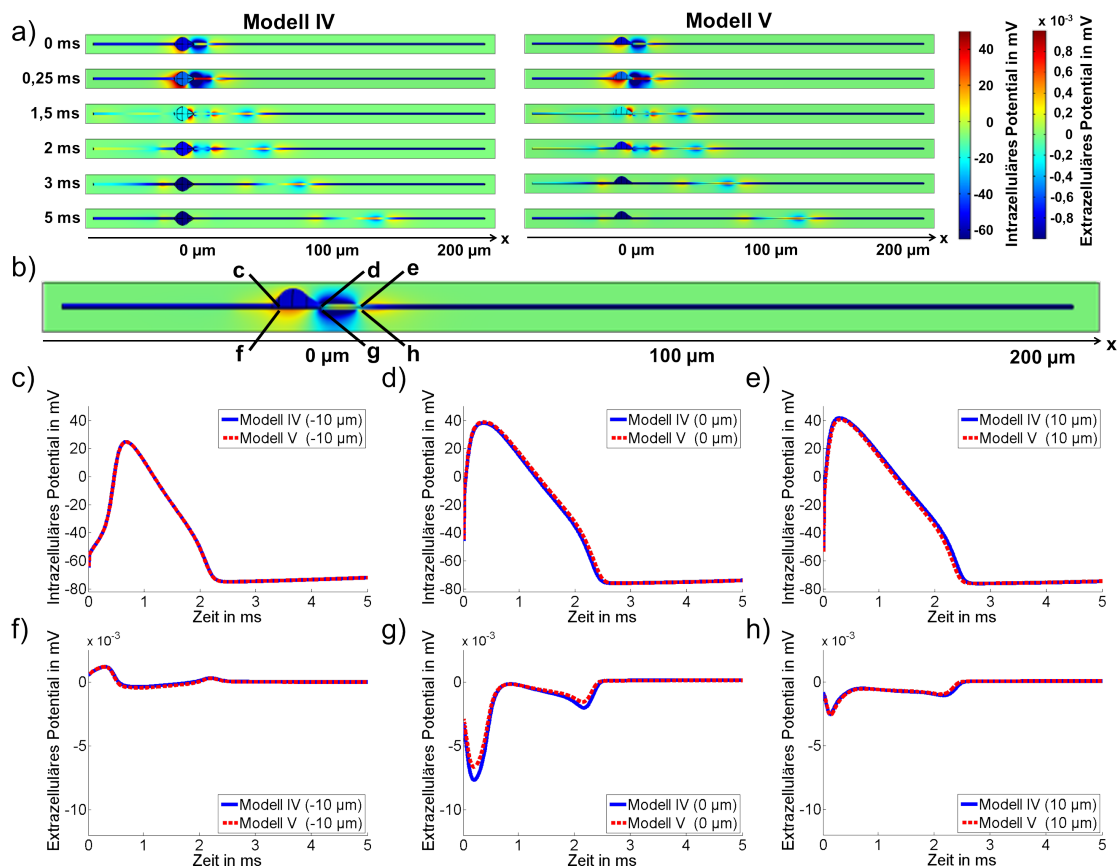


**Abbildung 5.23:** Adaption der vereinfachten Neuronengeometrie durch Abflachen der Unterseite des Neurons in Modell V. Die Einfärbung der Geometrie zeigt die unterschiedliche Verteilung der Ionenkanäle an, welche im Vergleich zum Modell IV unverändert sind.

In diesem Zusammenhang wird zunächst die Lage des Neurons innerhalb des extrazellulären Raums nicht verändert, der Effekt des Abstands zwischen Neuron und Glassubstrat jedoch im Anschluss genauer untersucht.

Die Modifikation der Modellgeometrie reduziert die benötigte Rechenzeit, die zur Lösung von Modell V über einen Zeitraum von 5 ms notwendig ist, von 13 auf 10 Stunden. Dies kann damit begründet werden, dass sich die Oberfläche der Membran verkleinert, wodurch die ortsabhängige Hodgkin-Huxley-Gleichung für eine geringere Anzahl an Elementen der Ortsdiskretisierung berechnet werden muss.

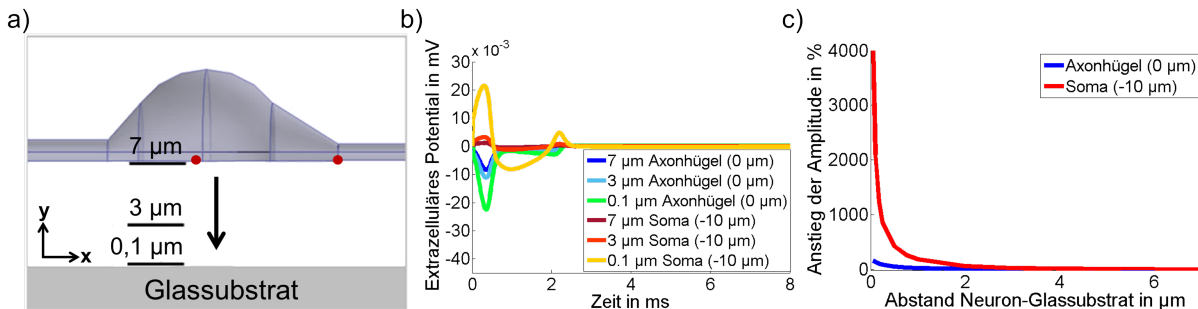
Die Gegenüberstellung der Ergebnisse der beiden Geometrien bestätigt, dass die abgeflachte Form die Potentialverteilung im extrazellulären Raum merklich beeinflusst (siehe Abb. 5.24).



**Abbildung 5.24:** Vergleich der Ergebnisse von Modell IV und V auf Basis des EQS-Ansatzes. a) Beide Modelle verhalten sich im Rahmen der AP-Ausbreitung prinzipiell gleich, jedoch führt die modifizierte Geometrie zu einer veränderten Lage der extrazellulären Potentialverteilung. c-e) Die zeitlichen Verläufe des intrazellulären Potentials an den in b) markierten Positionen werden durch die adaptierte Geometrie nicht signifikant beeinflusst. f-h) Die Reduktion des intrazellulären Volumens führt zu einer verringerten Amplitude des extrazellulären Potentials nahe des Axonhügels, der Verlauf bleibt in den anderen Bereichen jedoch weitestgehend unverändert.

Durch die Modifikation verändert sich die Lage der Zellmembran an der Unterseite des Soma und somit auch die Position der Ionenkanäle, die den Stromfluss in den extrazellulären Raum erzeugen. Als Folge daraus verschiebt sich die resultierende Potentialverteilung im extrazellulären Raum während der AP-Ausbreitung (siehe Abb. 5.24a). Zudem verringert sich durch die Änderung der Geometrie das intrazelluläre Volumen des Soma, wodurch das Verhältnis von Ionenkanälen auf der Membranoberfläche zum Volumen des Soma erhöht wird. Im Einklang mit den bisherigen Ergebnissen bewirkt dies wiederum eine leichte Verringerung der Amplituden des extrazellulären Potentials im Bereich von Soma und Axonhügel gegenüber Modell IV (vgl. Abbildung 5.24g). Demgegenüber sind keine signifikanten Änderungen der intrazellulären Potentialverläufe während der AP-Ausbreitung zu erkennen (siehe Abb. 5.24c-e). Darüber hinaus bleiben auch die Verläufe des extrazellulären Potentials entlang des Axons und des Dendrits unverändert, da die Modifikation

der Modellgeometrie keine Auswirkung auf diese Bereiche hat (vgl. Abbildung 5.24h). Die Gegenüberstellung der Ergebnisse beider Modellgeometrien zeigt zwar nur geringe Unterschiede, jedoch bietet die modifizierte Neuronengeometrie von Modell V zusätzlich die Möglichkeit, den Abstand zwischen Neuron und Glassubstrat deutlich zu verringern. Dadurch kann der typische Abstand eines adherenten Neurons von ca. 50 - 100 nm, der für Neuronen in *in vitro* Kulturen gemessen wurde, innerhalb des Modells realisiert werden [Braun, Frohnhertz, 1998]. Wird das Neuron schrittweise an die Bodenfläche der *in vitro* Umgebung angenähert, erhöhen sich sukzessiv die Amplituden der extrazellulären Potentialverläufe (siehe Abb. 5.25).



**Abbildung 5.25:** Änderung des extrazellulären Potentialverlaufs an der Außenseite der Zellmembran bei Verringerung des Abstands zwischen Neuron und Glassubstrat. b) Die Annäherung der Neuronengeometrie an die Bodenfläche hat keine Auswirkung auf die Form des Potentialverlaufs, führt aber zu deutlich höheren Amplituden. c) Der relative Anstieg der Amplitude ist unterhalb des Soma signifikant größer als unterhalb des Axonhügels.

Ausgehend von einem Abstand von 7 µm steigt die Amplitude des Potentialverlaufs an der Außenseite des Axonhügels von  $-8,3 \mu\text{V}$  auf bis zu  $-22,5 \mu\text{V}$  bei einem Abstand von 0,1 µm (siehe Abb. 5.25b). Unterhalb des Soma erhöht sich die Amplitude von 1,2 µV bei 7 µm auf 21,5 µV bei 0,1 µm. Eine Analyse des relativen Anstiegs der Amplitude in Abhängigkeit zum Abstand zwischen Neuron und Glassubstrat zeigt, dass der Effekt unterhalb des Soma deutlich ausgeprägter ist als unter dem Axonhügel (siehe Abb. 5.25c). Ursache für diesen Effekt ist die elektrische Charakteristik des extrazellulären Raums. Mit Ausnahme der Bodenfläche ist an den übrigen Rändern des extrazellulären Raums ein Nullpotential definiert, um ein auf Massepotential geerdetes extrazelluläres Medium nachzubilden (vgl. Abbildung 3.11). Im Gegensatz dazu stellt der Boden an der Unterseite des Modells eine elektrische Isolation aus Glassubstrat dar. Die Ionenkanäle auf der Zellmembran stellen wiederum Stromquellen dar, über die Ionenströme in den extrazellulären Raum fließen. In diesem Kontext führt eine Verringerung des Abstands von Neuron zum Glassubstrat dazu, dass sich der elektrische Widerstand zwischen den Ionenkanälen auf der Unterseite der Neuronengeometrie und der elektrischen Masse an den Außenrändern des Modells erhöht, da der elektrisch leitfähige Spalt zwischen Neuron und Boden kleiner wird. Auf Basis des Ohmschen Gesetzes führt dies bei einem identischen Ionenstrom zu einem höheren Spannungsabfall zwischen der Unterseite des Neurons und den Außenrändern des extrazellulären Raums und folglich zu einem höheren extrazellulären Potential in diesem Bereich. Der Effekt ist unterhalb des Soma ausgeprägter als unter dem Axonhügel, da

bei einer Verringerung des Abstands zwischen der Neuronengeometrie und dem Glassubstrat ein breiterer Spalt unterhalb des Soma entsteht. Somit erhöht sich der elektrische Widerstand stärker in diesem Bereich als unterhalb des Axonhügels.

### 5.2.4 Einfluss des Hodgkin-Huxley-Modells für Säugetierneuronen - Modell VI

Der finale Schritt für eine stimmige Nachbildung der elektrischen Aktivität eines Neurons in einer *in vitro* Kultur, ist die Implementierung des für Säugetierneuronen modifizierte Hodgkin-Huxley-Modells aus Abschnitt 5.1.4 in Modell V. Hierfür werden die ionenspezifischen Leitfähigkeiten der Zellmembran für die jeweiligen Bereiche des Neurons und die Anfangsbedingungen im Rahmen der initialen AP-Generierung im AIS angepasst (siehe Tabelle 5.4).

**Tabelle 5.4:** Elektrophysiologische Parameter von Modell VI mit dem für Säugetierneuronen modifizierten Hodgkin-Huxley-Modell

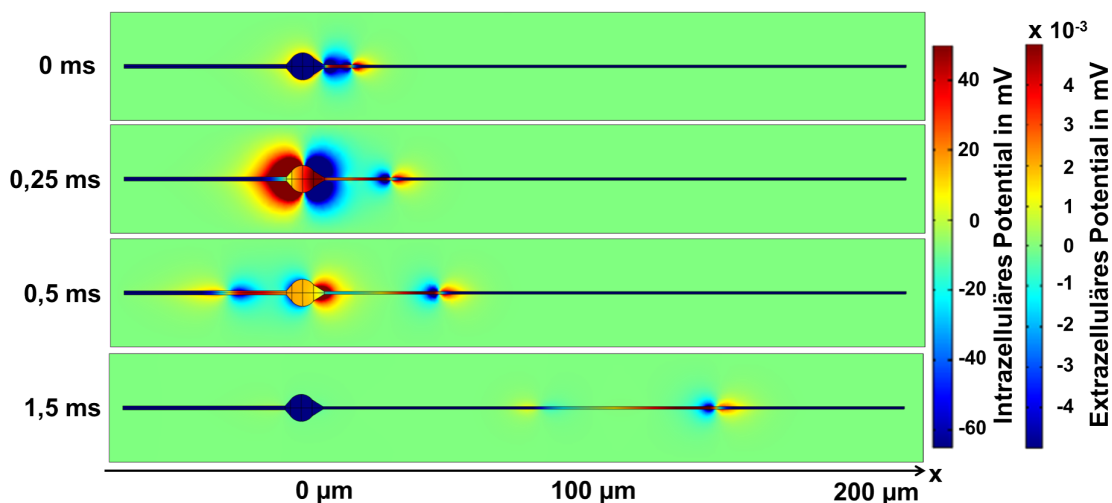
Parameter	Wert
Anfangspotential von Soma, Axon und Dendrit	-79 mV
Anfangspotential des AIS	-56 mV
Spezifische Leitfähigkeit $g_{Na_{Soma}}$ der Membran für $Na^+$ -Ionen des Soma und Axonhügels	500 S/m <sup>2</sup>
Spezifische Leitfähigkeit $g_{K_{Soma}}$ der Membran für $K^+$ -Ionen des Soma und Axonhügels	200 S/m <sup>2</sup>
Spezifische Leitfähigkeit $g_{Na_{Dendrit}}$ der Membran für $Na^+$ -Ionen der Dendriten	30 S/m <sup>2</sup>
Spezifische Leitfähigkeit $g_{K_{Dendrit}}$ der Membran für $K^+$ -Ionen der Dendriten	10 S/m <sup>2</sup>
Spezifische Leitfähigkeit $g_{Na_{Axon}}$ der Membran für $Na^+$ -Ionen des Axon	500 S/m <sup>2</sup>
Spezifische Leitfähigkeit $g_{K_{Axon}}$ der Membran für $K^+$ -Ionen des Axon	200 S/m <sup>2</sup>
Spezifische Leitfähigkeit $g_{Na_{AIS}}$ der Membran für $Na^+$ -Ionen des AIS	1200 S/m <sup>2</sup>
Spezifische Leitfähigkeit $g_{K_{AIS}}$ der Membran für $K^+$ -Ionen des AIS	400 S/m <sup>2</sup>
Spezifische Leitfähigkeit $g_L$ der Membran für Ionen des Leckstroms entlang des Neurons	3,3 S/m <sup>2</sup>
Ausgangswert der Gatingvariable m (adaptierter Wert innerhalb des AIS)	0,01 (0,31)
Ausgangswert der Gatingvariable n (adaptierter Wert innerhalb des AIS)	0,0156 (0,05)
Ausgangswert der Gatingvariable h	0,96

Analog zu Modell IV spiegeln die Ionenkanaldichten die unterschiedliche Verteilung der Ionenkanäle in den jeweiligen Bereichen des Neurons wider und Übergänge verschiedener Ionenkanaldichten sind weiterhin mit den Sigmoidfunktionen aus Modell IV realisiert (vgl. Abbildung 5.23). Die absoluten Werte sind jedoch für das modifizierte Hodgkin-Huxley-Modell auf Basis der Parameter in [Yu et al., 2014] angepasst.

Zudem wird das Gleichungssystem zur Berechnung der Ionenströme ausgetauscht sowie die Parameter des modifizierten Hodgkin-Huxley-Modells in das FEM-Modell überführt (vgl. Kapitel 3.1.3). Wie bereits in Modell III wird eine Umgebungstemperatur von 37 °C angenommen und die Umkehrpotentiale sowie das Ruhepotentials des Neurons adaptiert. Auf Basis der Ergebnisse von Modell V wird zudem der Abstand von Zelle und Glasboden auf 0,1 µm verringert.

Diese Änderung führt dazu, dass die Komplexität des Modells deutlich erhöht wird, da das Volumen zwischen Neuron und Glasboden eine höhere Diskretisierungsaufösung erfordert. Im Gegenzug ermöglicht die schnellere Ionenkanalkinetik des modifizierten Hodgkin-Huxley-Modells für Säugetierneuronen die Reduzierung des Simulationszeitraums von 5 ms auf 1,5 ms. Dadurch bleibt die notwendige Rechenzeit zur Lösung von Modell VI mit ca. 10 Stunden unverändert.

Die Zusammenführung der vorangegangenen Modelle in Modell VI vereinigt die bisher beobachteten Effekte und führt zu einer stimmigeren Simulation der AP-Ausbreitung und des extrazellulären Potentialverlaufs. Verglichen mit Modell V ergeben sich qualitativ ähnliche Potentialverläufe im intra- und extrazellulären Raum im Rahmen der AP-Ausbreitung (siehe Abb. 5.26).

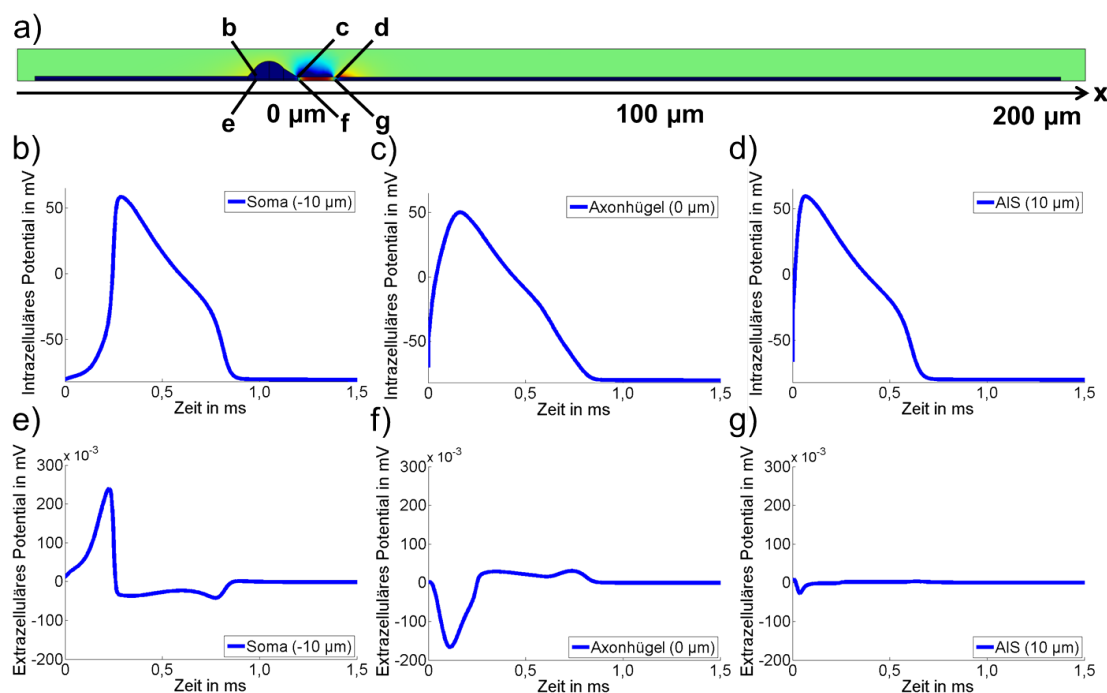


**Abbildung 5.26:** Verlauf des intra- und extrazellulären Potentials in Modell VI in der Ansicht von oben. Die Potentialverteilungen im intra- und extrazellulären Raum sind grundsätzlich vergleichbar mit den Ergebnissen der vorangegangenen Modelle IV bzw. V, jedoch aufgrund der höheren Ionenstromdichten des adaptierten Hodgkin-Huxley-Modells stärker ausgeprägt. Zudem erfolgt die AP-Ausbreitung signifikant schneller als in den Modell IV und V.

Wie bereits in Modell III gesehen, führt das für Säugetierneuronen modifizierte Hodgkin-Huxley-Modell zu einer deutlich höheren Ausbreitungsgeschwindigkeit, mit einem Wert von ca. 102,7 mm/s innerhalb des Axons von Modell VI. Analog zu den Modellen IV bzw. II führt die erweiterte Neuronengeometrie wiederum dazu, dass sich die Ausbreitungsgeschwindigkeit in Modell VI gegenüber der einfachen Axongeometrie aus Modell III merklich verringert. Nichtsdestotrotz ergibt sich weiterhin ein Wert, der sich innerhalb des Intervalls von 100 mm/s bis 900 mm/s befindet. Um die höhere Ausbreitungsgeschwindigkeit bei der kontinuierlichen Erregungsleitung zu erreichen, ergeben sich auch in Modell VI höhere Ionenstromdichten über die Zellmembran. Dadurch ergeben sich höhere Amplituden des Potentials im extrazellulären Raum als in Modell V, das auf dem grundlegenden Hodgkin-Huxley-Modell basiert.

Analog zu Modell III erzeugt das modifizierte Hodgkin-Huxley-Modell im AIS von Modell VI ein AP mit einer Amplitude von ca. 60 mV und einer AP-Dauer von ca. 1 ms (siehe Abb. 5.27).





**Abbildung 5.27:** Zeitlicher Verlauf des intra- und extrazellulären Potentials in Modell VI mit geometrischer Referenz ( $t = 0,01$  ms, Farbskala analog zu Abb. 5.26) gezeigt in a). b-d) Verglichen mit dem grundlegenden Modell generiert das adaptierte Hodgkin-Huxley-Modell ein ausgeprägteres AP mit einem steileren Verlauf und höherer Amplitude. Geometrie und Ionenkanalverteilung haben analog zu den Modellen IV und V einen merklichen Effekt auf den lokalen AP-Verlauf. e-g) Die Amplituden der extrazellulären Potentialverläufe werden durch höhere Transmembranstromdichten signifikant erhöht.

Sowohl die Geometrie des Neurons als auch die sich veränderte Ionenkanalverteilung bewirken wiederum eine Veränderung des zeitlichen AP-Verlaufs während der Propagation des AP entlang des Axons sowie zurück in Richtung Soma und Dendrit (siehe Abb. 5.27b und 5.27c). Die zeitlichen Verläufe des extrazellulären Potentials an der Außenseite der Zellmembran zeigen zwar eine vergleichbare Form wie in Modell V, weisen jedoch eine signifikant höhere Amplitude auf (siehe Abb. 5.27e-g). Dies ist einerseits auf die höheren Ionenstromdichten zurückzuführen, die bei der lokalen AP-Generierung in den extrazellulären Raum fließen. Darüber hinaus führt der geringe Abstand von  $0,1 \mu\text{m}$  zwischen Neuron und Glassubstrat zu einem höheren elektrischen Widerstand zwischen der Membran und dem geerdeten Rand der Modellgeometrie und somit zu deutlich erhöhten Potentialen in diesem Bereich mit Amplituden von bis zu  $239 \mu\text{V}$ . Analog zu den Ergebnissen aus Abbildung 5.25 erhöht sich das extrazelluläre Potential unterhalb des Soma deutlich stärker als unterhalb des Axonhügels (vgl. Abbildung 5.27e und 5.27f).

Die Ergebnisse von Modell VI fassen folglich alle in Kapitel 5 ermittelten Effekte zusammen. Somit ermöglicht es nicht nur eine stimmige Nachbildung der kontinuierlichen AP-Ausbreitung im intrazellulären Raum, sondern erlaubt zudem die Simulation extrazellulärer Potentiale unter Berücksichtigung der Effekte von Geometrie und Ionenkanalverteilung des Neurons sowie den resultierenden Einfluss des umgebenden *in vitro* Raums.



## 6 Simulation der Neuron-Elektroden Kopplung

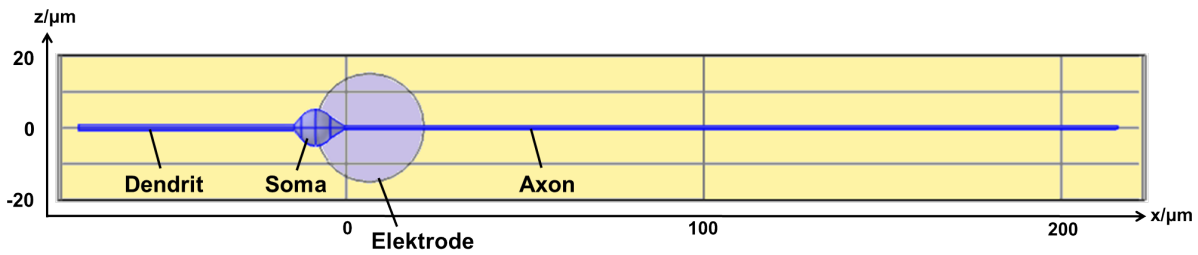
Bei Messungen neuronaler Aktivität mit Hilfe eines MEA wird das vom Neuron generierte AP durch eine extrazelluläre Elektrode abgeleitet. Da bei dieser Messmethode kein direkter Kontakt zwischen Neuron und Elektrode besteht, ist die extrazelluläre Potentialverteilung entscheidend für den sich ergebenden Verlauf des resultierenden Elektroden-signals. In diesem Zusammenhang wurden in Kapitel 5 mehrere Einflussgrößen ermittelt, welche die extrazelluläre Potentialverteilung in der Umgebung des Neurons gestalten. So werden der generelle AP-Verlauf und damit auch die zur Generierung notwendigen Transmembranströme durch die Ionenkanalverteilung auf der Zellmembran definiert. Zudem wird der Verlauf des AP von der Kinetik der Ionenkanäle bestimmt, die sich z.B. durch die Umgebungstemperatur verändert. Ein wichtiger Einflussfaktor ist auch die Geometrie des Neurons, da eine ortsabhängige Veränderung des Verhältnisses zwischen Membranoberfläche und intrazellulärem Volumen wiederum die Ionenkanalkinetik signifikant modifizieren kann. Ein vergleichbarer Effekt wird durch eine inhomogene Ionenkanalverteilung entlang der Zellmembran ausgelöst. Zu guter Letzt sind auch die elektrischen Eigenschaften des extrazellulären Raums von Bedeutung, die vor allem die Amplituden der extrazellulären Potentiale beeinflussen.

Um jedoch den Einfluss dieser Effekte auf ein abgeleitetes Elektrodenpotential genau erfassen zu können, ist die Integration einer MEA-Elektrode in das FEM-Modell notwendig. Die explizite Modellierung der Messelektrode hat hierbei den Vorteil, dass auch ortsabhängige Parameter, die bei der Kopplung von Neuron und Elektrode relevant sind, detailliert nachgebildet und dadurch mögliche Wechselwirkungen genauer erfasst werden können. Zudem ermöglicht diese Erweiterung, dass simulierte Elektrodenpotentiale gemessenen Signalverläufen von MEA-Elektroden gegenübergestellt und verglichen werden können.

### 6.1 Elektrodensignale auf Basis einer vereinfachten Neuronengeometrie - Modell VII

Zur Modellierung eines abgeleiteten Aktionspotentials mit einer extrazellulären MEA-Elektrode wird das bestehende Modell VI durch eine Messelektrode basierend auf der Beschreibung aus Abschnitt 3.2.2. erweitert. Hierfür wird im neuen Modell VII eine ideal leitende Elektrode in die Glassubstratschicht integriert (siehe Abb. 6.1).

Der Abstand zwischen Neuron und Elektrode sowie dem umgebenden Glassubstrat ist wie in Modell VI mit einem Wert von  $0,1 \mu\text{m}$  definiert. Die kreisförmige Oberfläche der MEA-Elektrode besitzt einen Durchmesser von  $30 \mu\text{m}$  (vgl. Kapitel 2.5).



**Abbildung 6.1:** Geometrie von Modell VII in der Ansicht von oben. Die eingefärbte Fläche an der Unterseite des Modells repräsentiert die integrierte MEA-Elektrode.

Im Gegensatz zu realen MEA-Elektroden, die im Regelfall über eine raue Oberfläche verfügen, um eine bessere elektrische Impedanz zu erhalten (vgl. [Gerwig et al., 2012; Nick, 2015]), muss im Modell eine planare Elektrodenoberfläche angenommen werden. Diese Vereinfachung ist notwendig, da die Modellierung einer Oberflächenrauigkeit im Submikrometerbereich zu hohe Anforderungen an die notwendige Ortsdiskretisierung des Modells stellen würde. Eine computergestützte Lösung könnte somit auch auf leistungsfähigen Workstations nicht mehr gewährleistet werden, sondern würde die Verwendung von Hochleistungsrechnern bzw. größeren Rechenclustern erfordern.

Über die Randbedingung der Elektrodenoberfläche wird das EQS-Gleichungssystem zur Lösung der Potentialverteilung im extrazellulären Raum mit der mathematischen Beschreibung der MEA-Elektrode auf Basis des Ersatzschaltbilds aus Abbildung 3.13 verknüpft. Die Elemente der elektrischen Schaltung werden nach [Nick, 2015] mit  $R_{El} = 10 \text{ k}\Omega$  und  $C_{El} = 0,63 \text{ nF}$  bzw.  $R_{Amp} = 100 \text{ G}\Omega$  und  $C_{Shunt} = 20 \text{ pF}$  festgelegt.

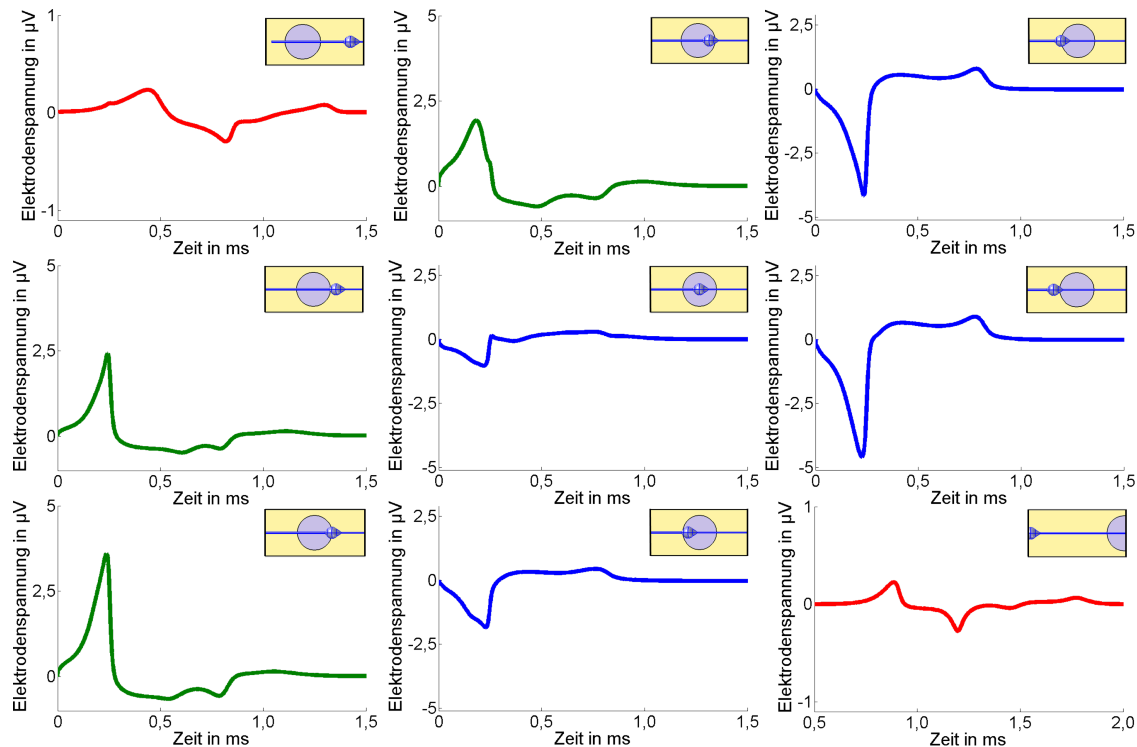
Im Rahmen der Simulation werden die elektrischen Spannungen innerhalb des Ersatzschaltbildes mit Hilfe einer gewöhnlichen Differentialgleichung berechnet, die parallel zur Bestimmung der Potentialverteilung im extrazellulären Raum gelöst wird. Somit sind die Lösungen beider Gleichungen miteinander verknüpft, so dass ein konsistenter Potentialverlauf berechnet wird. Der letztlich abgeleitete Spannungsverlauf des Elektrodensignals ergibt sich anhand der Spannung, die am Eingangswiderstand des Messverstärkers  $R_{Amp}$  abfällt (siehe Abb. 3.13).

Mit dem resultierenden Modell VII ist es somit möglich, die Ableitung eines neuronalen AP mit Hilfe einer extrazellulären MEA-Elektrode direkt zu berechnen. Das Einfügen der Elektrodenbeschreibung erweitert das Gleichungssystem des Modells um eine zusätzliche gewöhnliche Differentialgleichung auf Basis des Ersatzschaltbildes aus Abbildung 3.13. Dies erhöht wiederum die zur Lösung benötigte Rechenzeit, so dass die Simulation von Modell VIII über einen Zeitraum von 1,5 ms ca. 18 Stunden erfordert.

Im Folgenden wird zunächst die Abhängigkeit des abgeleiteten Signalverlaufs von der Position der Elektrode in Bezug zur Neuronengeometrie evaluiert. Darauf aufbauend wird der Einfluss verschiedener Parameter der Zell-Elektroden-Kopplung auf den resultierenden Signalverlauf untersucht.

### 6.1.1 Einfluss der Elektrodenposition

Die Simulation von Modell VII zeigt, dass die Lage der MEA-Elektrode in Bezug zur Neuronengeometrie einen deutlichen Einfluss auf den Verlauf des abgeleiteten Elektrodensignals hat (siehe Abb. 6.2).



**Abbildung 6.2:** Simulierte Elektrodensignale in Abhängigkeit von der Elektrodenposition auf Basis von Modell VII. Die verschiedenen Farben der Spannungsverläufe weisen auf unterschiedliche Skalen der  $y$ -Achse hin. Während die abgeleiteten Signalformen nahe des Axonhügels und des AIS negative Amplituden aufweisen, ergeben sich Signale mit positiven Amplituden im Bereich zwischen Soma und Dendrit. Entlang des Axons sowie des Dendrits entsteht eine bipolare Signalform mit deutlich geringerer Amplitude.

Im Umkreis des Soma ergeben sich Verläufe mit negativen Amplituden im Bereich von Axonhügel und AIS, jedoch Elektrodensignale mit positiven Amplituden am Übergang von Soma und Dendrit. Dies spiegelt die bereits aus den Modellen IV-VI bekannte extrazelluläre Potentialverteilung im Bereich des Soma wider (vgl. Abbildung 5.26). An Positionen direkt unterhalb des Soma sind die Amplituden der abgeleiteten Signale geringer, da sich in diesem Bereich die beiden Potentialverteilungen teilweise aufheben. Entlang von Axon und Dendrit ergibt sich wiederum ein bipolare Signalform, die den Verlauf des extrazellulären Potentials bei der AP-Ausbreitung wiedergibt. Die geringere Ausbreitungsgeschwindigkeit innerhalb des Dendriten führt dabei zu einer ausgedehnteren Signalform verglichen mit dem Signal entlang des Axons.

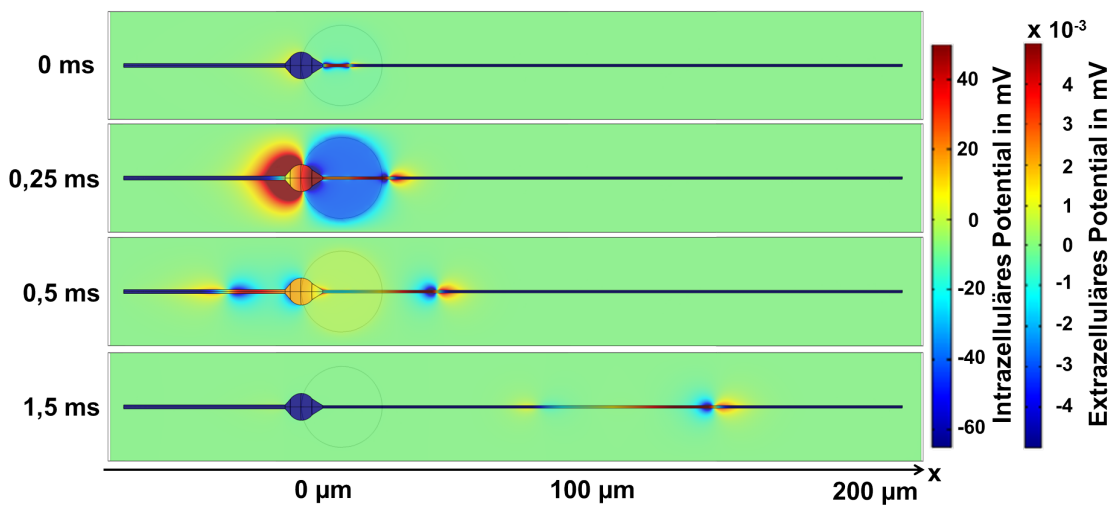
Es zeigt sich, dass bei der extrazellulären Ableitung des Zellpotentials eine große Bandbreite an Signalverläufen gemessen werden kann, deren Form direkt von der Position der Elektrode entlang des Neurons abhängig ist. Die Simulation ist somit in der Lage expe-

rimentelle Beobachtungen nachzubilden, die zwar mehrere unterschiedliche Signalformen identifizieren [Nam, Wheeler, 2011], deren Auftreten jedoch bisher nicht begründet werden konnte. Hierbei kann das entwickelte FEM-Modell die Vermutung bestätigen, dass unterschiedliche Verläufe der gemessenen Signale auf die Ableitung des Zellsignals an verschiedenen Bereichen des Neurons zurückzuführen sind.

Verglichen mit gemessenen extrazellulären Ableitungen sind jedoch die geringen Amplituden der abgeleiteten Signalverläufe auffällig. Am höchsten ist sie mit ca.  $5 \mu\text{V}$  bzw.  $-5 \mu\text{V}$  in den Randbereichen des Soma, beträgt aber lediglich  $-0,3 \mu\text{V}$  bis  $0,3 \mu\text{V}$  entlang des Axons und des Dendriten.

Im Gegensatz dazu weisen gemessene Elektrodensignale generell Amplituden im zweistelligen bzw. im niedrigen dreistelligen Mikrovoltbereich auf. Folglich sind die simulierten Verläufe um mehr als eine Größenordnung kleiner (vgl. [Nam, Wheeler, 2011; Nick, 2015]). Darüber hinaus sind sie ca. um das 50-fache geringer als die Amplituden der extrazellulären Potentialverläufe zwischen Neuron und Glassubstrat aus Modell VI.

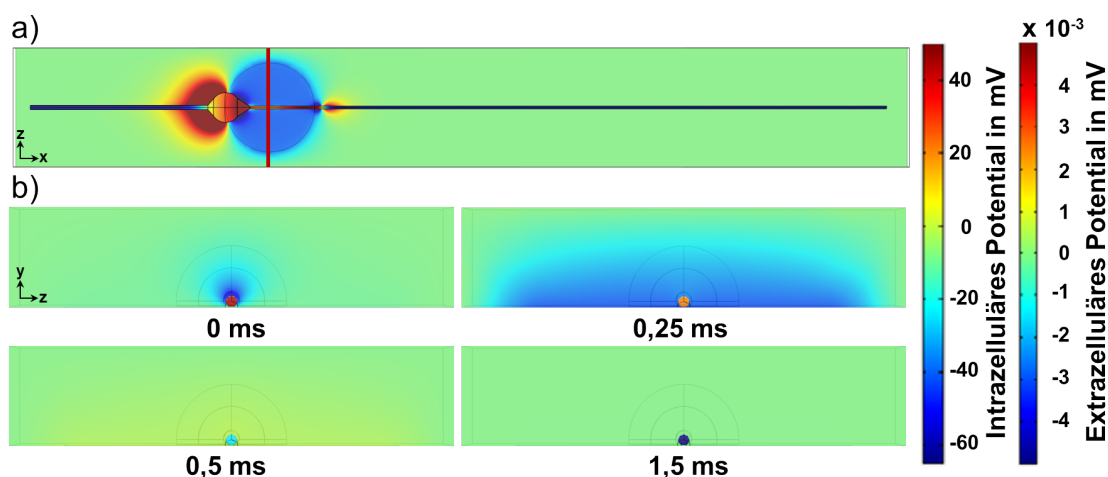
Der einzige Unterschied zwischen Modell VI und VII ist die implementierte MEA-Elektrode. Dies legt den Schluss nahe, dass diese einen merklichen Einfluss auf das resultierende Potential im extrazellulären Raum ausübt. Eine Betrachtung der extrazellulären Potentialverteilung während der AP-Ausbreitung innerhalb von Modell VII bestätigt diese Vermutung (siehe Abb. 6.3).



**Abbildung 6.3:** Verlauf des intra- und extrazellulären Potentials in Modell VII in der Ansicht von oben. Im Rahmen der lokalen AP-Generierung nahe der Elektrode ergibt sich ein näherungsweise einheitliches Potential direkt oberhalb der MEA-Elektrode, so dass deren Kontur eindeutig erkennbar ist.

Der Mittelpunkt der Elektrode ist in diesem Fallbeispiel um  $5 \mu\text{m}$  vom Übergang zwischen Axonhügel und AIS ( $x = 10 \mu\text{m}$ ) versetzt. Im Rahmen der AP-Generierung nimmt die Elektrode ein näherungsweise einheitliches elektrisches Potential mit Werten im einstelligen Mikrovoltbereich an.

Eine Betrachtung in der Vorderansicht zeigt, dass sich dies auf die gesamte Verteilung des extrazellulären Potentials in der  $yz$ -Ebene oberhalb der Elektrode auswirkt (siehe Abb. 6.4).



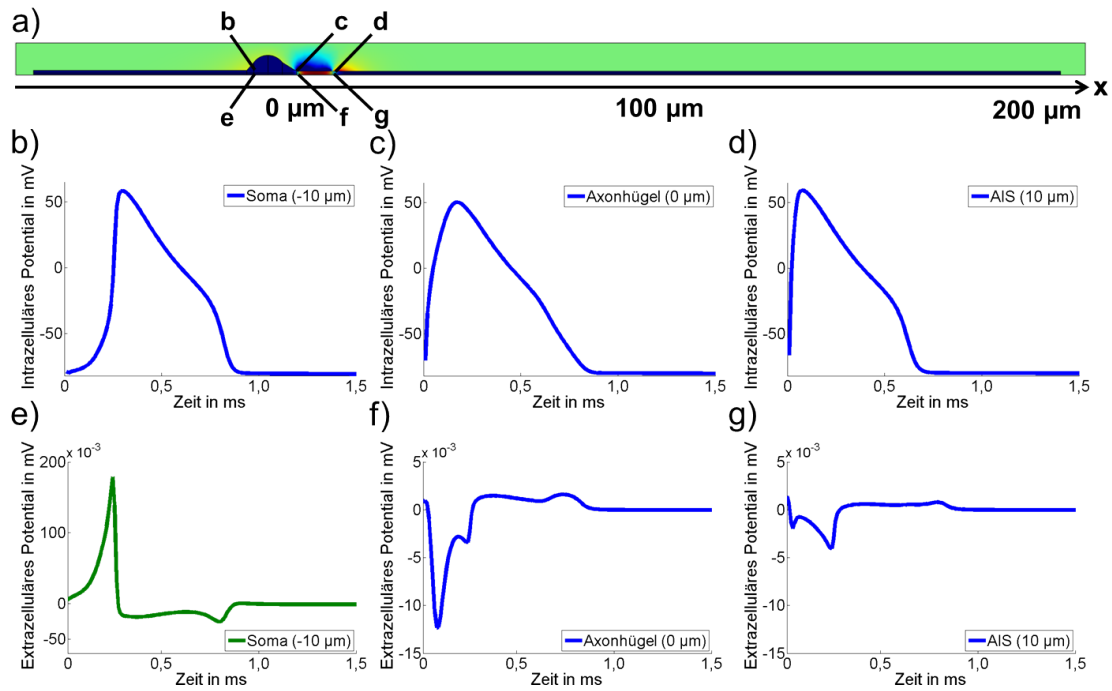
**Abbildung 6.4:** Verlaufe des intra- und extrazellulären Potentials in Modell VII in der Vorderansicht. a) Die rote Linie zeigt die Lage der betrachteten Ebene im Zentrum der Elektrode aus der Ansicht von oben. b) Das Potential der MEA-Elektrode erzeugt eine Potentialverteilung im extrazellulären Raum, die mit dem Abstand zur Elektrode in Richtung der äußeren Ränder abnimmt.

Ausgehend von der Elektrodenoberfläche fällt das elektrische Potential stetig in Richtung der Ränder des extrazellulären Raums ab, an denen ein Potential von 0 V definiert ist. Analog zu den Ergebnissen in Abbildung 6.3 ergeben sich auch oberhalb der Elektrode lediglich Werte im einstelligen Mikrovoltbereich. Das entsprechende elektrische Feld bildet sich jedoch erst aus, nachdem das Neuron im Rahmen der AP-Generierung eine Änderung des Elektrodenpotentials hervorgerufen hat. Noch deutlicher wird dieser Effekt bei der Betrachtung der zeitlichen Verläufe des extrazellulären Potentials am unteren Rand der Zellmembran (siehe Abb. 6.5).

Die extrazellulären Potentialverläufe an der Außenseite von Axonhügel und AIS zeigen signifikant geringere Amplituden im Vergleich zu Modell VI (siehe Abb. 6.5f und 6.5g). Hierbei sinkt die Amplitude im Bereich des AIS von  $-27,19 \mu\text{V}$  auf  $-4,07 \mu\text{V}$  und am Axonhügel von  $-166,71 \mu\text{V}$  auf  $-12,28 \mu\text{V}$  (vgl. Abbildung 5.27). Des Weiteren verändert sich der zeitliche Verlauf an beiden Stellen und weist jeweils eine zusätzliche Potentialspitze auf, die eine gedämpfte Form der jeweils anderen Amplitude darstellt. Der Grund hierfür ist, dass beide Verläufe durch das sich ergebende Elektrodenpotential beeinflusst werden, welches sich wiederum aus der Summe der einzelnen Potentialverläufe im extrazellulären Raum ergibt.

Verglichen mit Modell VI verändert sich die Form des Potentialverlaufs zwischen Soma und Dendrit nicht, jedoch verringert sich auch an diesem Punkt die Amplitude des Verlaufs von  $239 \mu\text{V}$  auf  $179 \mu\text{V}$  (siehe Abb. 6.5e). Die Potentialverläufe im Inneren des Neurons bleiben hingegen identisch (siehe Abb. 6.5b-6.5d).

In Summe zeigen die Ergebnisse einen eindeutigen Effekt der MEA-Elektrode auf die extrazelluläre Potentialverteilung. Während alle vorangegangenen Modelle einen Bezug zum Massepotential an den Außenrändern des Modells aufwiesen, bietet die Elektrode eine zusätzliche Verbindung zur elektrischen Masse, über den der Ionenstrom des Neurons abfließen kann (vgl. Abbildung 3.13). Durch die zusätzliche elektrische Verbindung zum Massepotential ergibt sich ein elektrischer Stromteiler analog zum Ersatzschaltbild aus Abbildung 3.12.



**Abbildung 6.5:** Zeitlicher Verlauf des intra- und extrazellulären Potentials in Modell VII mit geometrischer Referenz ( $t = 0,01$  ms, Farbskala analog zu Abb. 6.4) gezeigt in a). b-d) Im Vergleich zu Modell VI sind keine Unterschiede bei den Potentialen im intrazellulären Raum zu erkennen. e) Im Bereich zwischen Soma und Dendrit, ist die Amplitude des extrazellulären Potentials weiterhin im dreistelligen Mikrovolt-Bereich, jedoch bereits geringer als in Modell VI (vgl. Abbildung 5.25e). f) und g) Direkt oberhalb der Elektrode ist das extrazelluläre Potential deutlich geringer und der Einfluss des Potentialverlaufs der Elektrode ist erkennbar.

Die Werte des Stromteilers sind jedoch innerhalb des FEM-Modells positionsabhängig, wodurch ein Großteil der von der Neuronengeometrie generierten Transmembranströme direkt zu den äußeren Rändern des Modells fließt, da die elektrische Impedanz auf diesem Weg wesentlich geringer ist als über die MEA-Elektrode. Im Bereich, in dem das Neuron direkt an der Elektrode adheriert ist, haben die Werte des Stromteilers hingegen eine ähnliche Größenordnung. Folglich teilt sich der dort generierte Ionenstrom auf und ein Teil wird über die Elektrodenimpedanz ausgeglichen, da ein resultierender Strom von der Elektrode zur Masse des Messverstärkers erzeugt wird.

Die zusätzliche Verbindung zur elektrischen Masse über die MEA-Elektrode in Modell VII bewirkt dabei, dass die Gesamtimpedanz von der Unterseite des Neurons zum Massepotential geringer wird. Aufgrund des Ohmschen Gesetzes führt dies im Vergleich zu Modell VI zu einem geringeren extrazellulären Potential in der Nähe der MEA-Elektrode. Des Weiteren bewirkt die Leitfähigkeit der Elektrode, dass sich ein näherungsweise einheitliches Potential an der Elektrodenoberfläche ausbildet, da der erzeugte Ausgleichsstrom die komplette Fläche des elektrischen Leiters ausnutzt. Es ergibt sich eine Potentialdifferenz zwischen Elektrodenoberfläche und den auf Massepotential liegenden Außenseiten des extrazellulären Raums. An den Stellen, die nicht vom Neuron bedeckt sind, ist die elektrische Impedanz zu diesen Rändern geringer als zur Masse des Messverstärkers, da



dessen Eingangswiderstand  $R_{Amp}$  mit einem Wert von  $100\text{ G}\Omega$  sehr hochohmig ist. Als Folge daraus fließt ein Teil des Stroms nicht in Richtung des Messverstärkers, sondern ebenfalls zur Masse des extrazellulären Raums. Somit ergibt sich ein elektrisches Feld zwischen den Außenrändern des extrazellulären Raums und der MEA-Elektrode und führt zur extrazellulären Potentialverteilung aus Abbildung 6.4.

Die Ergebnisse zeigen, dass das deutlich verringerte extrazelluläre Potential in Modell VII verglichen mit Modell VI durch die Effekte am Übergang zwischen extrazellulärem Raum und MEA-Elektrode erklärt werden kann. Jedoch bieten sie keine Begründung für die Amplitude der simulierten Elektrodensignale, die im Vergleich zu gemessenen Signalverläufen deutlich geringer ist.

Für diese Diskrepanz kommen vor allem zwei potentielle Ursachen in Frage. Zum einen wird die Elektrodenoberfläche in Modell VII als planar angenommen. In der Praxis hat sich jedoch gezeigt, dass die gemessene Signalamplitude durch eine erhöhte Oberflächenrauigkeit deutlich vergrößert werden kann (vgl. [Gerwig et al., 2012]). Zum anderen ist die Elektrodenoberfläche oft nicht nur von einem einzelnen Neuron, sondern von mehreren Zellen bedeckt, z.B. Gliazellen oder weiteren Neuronen. Hierbei konnte bereits nachgewiesen werden, dass sich die Impedanz zwischen der MEA-Elektrode und der Referenzmasse des extrazellulären Mediums mit zunehmender Bedeckung der Elektrode signifikant erhöht [Buitenweg et al., 1998].

Um zunächst den generellen Einfluss der Zell-Elektroden-Kopplung auf das resultierende Elektrodensignal besser verstehen zu können, wird der Einfluss geometrischer bzw. positionsabhängiger Faktoren auf die Stärke der Kopplung untersucht. Die Rauigkeit der Elektrodenfläche kann aufgrund der daraus resultierenden Komplexität in den folgenden Modellen nicht genauer betrachtet werden. Grundsätzlich ist jedoch davon auszugehen, dass die Modellierung einer rauen Elektrodenoberfläche, die Amplitude des resultierenden Elektrodensignals um ein Vielfaches erhöht (vgl. [Nick, 2015]).

Im Gegensatz dazu ist die Modellierung einer durch Gliazellen bedeckten MEA-Elektrode deutlich weniger problematisch und der resultierende Effekt wird im nachfolgenden Abschnitt analysiert.

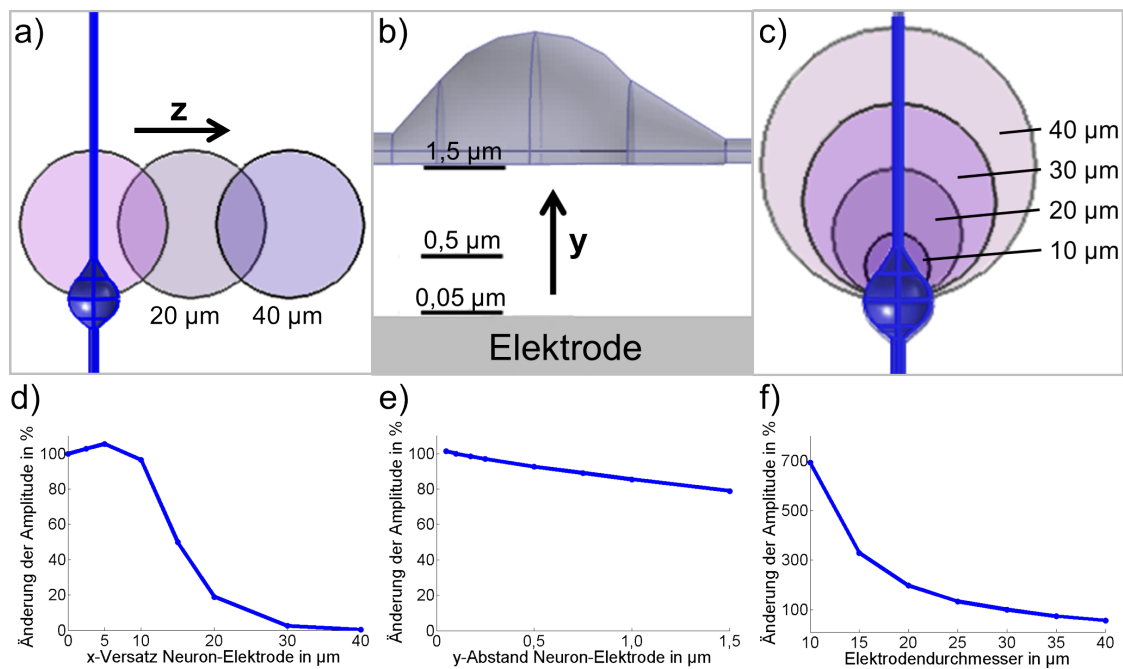
### 6.1.2 Einfluss der Zell-Elektroden-Kopplung - Modell VIII

Die simulierten Elektrodensignale aus Modell VII basieren auf einer idealen Positionierung der MEA-Elektrode direkt unterhalb der Neuronengeometrie mit einem Adhäsionsabstand von  $0,1\text{ }\mu\text{m}$ . Bei einem Versatz zwischen Neuron und Elektrode ist grundsätzlich davon auszugehen, dass die Amplitude des gemessenen Signals sich verringert. Dies geschieht, da sich das Verhältnis zwischen der bedeckten Oberfläche zur Gesamtoberfläche der Elektrode verringert und somit die Zell-Elektroden-Kopplung schwächer wird (vgl. [Fejtl et al., 2006]). Für die Stärke der Zell-Elektroden-Kopplung ist auch die Größe der MEA-Elektrode relevant, da sie das Verhältnis von bedeckter zu nicht bedeckter Oberfläche der Elektrode beeinflusst (vgl. [Cogan et al., 2008]). Darüber hinaus verändert sich die Kopplung zwischen Zelle und MEA-Elektrode in Abhängigkeit von der Größe des dazwi-

schen liegenden Spalts, da dieser den elektrischen Widerstand zwischen der Unterseite der Zellmembran und der Referenzmasse des extrazellulären Raums beeinflusst.

Um den Effekt dieser Faktoren auf das resultierende Elektrodensignal zu ermitteln, wird deren Einfluss im Folgenden in einer Parameterstudie genauer untersucht. Als Basismodell wird hierbei Modell VII verwendet und eine Referenz-Elektrodenposition mit einem Versatz von  $5\ \mu\text{m}$  in  $z$ -Richtung gegenüber dem Anfang des AIS definiert. Ausgehend von diesem Referenzmodell wird die relative Änderung der Signalamplitude in Abhängigkeit der positionsabhängigen Parameter der Zell-Elektroden-Kopplung bestimmt.

Die Ergebnisse zeigen spezifische Abhängigkeiten zwischen der Amplitude des abgeleiteten Signals und dem Wert des jeweiligen Parameters (siehe Abb. 6.6).



**Abbildung 6.6:** Relative Änderung der Amplitude des Elektrodensignals in Abhängigkeit zu den Parametern visualisiert in a-c). d) Ein Versatz der Elektrodenfläche gegenüber der Neuronengeometrie führt innerhalb der ersten  $5\ \mu\text{m}$  zu einer geringfügigen Erhöhung der Signalamplitude. Bei größer werdendem Versatz nimmt diese jedoch immer weiter ab. e) Die Vergrößerung des Abstands von Neuron zu Elektrode in  $y$ -Richtung ergibt hingegen nur einen kleinen Abfall der Amplitude des abgeleiteten Signals. f) Demgegenüber ergibt sich bei einer Verringerung des Elektrodendurchmessers ein signifikanter Anstieg.

Bei einer Verschiebung der MEA-Elektrode entlang der  $z$ -Achse des Modells ergibt sich zunächst ein geringfügiger Anstieg der Signalamplitude bei einem Versatz von  $5\ \mu\text{m}$  (siehe Abb. 6.6a und 6.6d). Dies ist darauf zurückzuführen, dass die Elektrode in der Ausgangsposition direkt unterhalb der Neuronengeometrie auch einen Teil der positiven Potentialverteilung ableitet, die sich zwischen Soma und Dendrit ausbildet. Aufgrund der kreisförmigen Form der Elektrode genügt jedoch ein geringfügiger Versatz der Elektrode, damit dieses Potential keinen Einfluss mehr auf den resultierenden Verlauf des Elektrodensignals ausübt. Ab einem Abstand von  $10\ \mu\text{m}$  verringert sich die Amplitude des abgeleiteten Signals kontinuierlich mit größer werdenden Abständen.

Bereits bei einem Versatz von  $30\ \mu\text{m}$  ist die Amplitude des Elektrodensignals um  $97,5\%$  gesunken. Obwohl die Amplitude mit höheren Abständen zwischen Zelle und Elektrode abnimmt, bleibt die Form des abgeleiteten Signals weitestgehend unverändert.

Eine Änderung des Abstands in  $y$ -Richtung hat demgegenüber nur geringfügige Änderungen der Signalamplitude zur Folge (siehe Abb. 6.6b und 6.6e). Eine Vergrößerung des Spalts zwischen Neuron und Elektrode von  $0,1\ \mu\text{m}$  auf  $1,5\ \mu\text{m}$  bewirkt ein Absinken der Amplitude um lediglich  $21\%$ . Demgegenüber erhöht sich die Signalamplitude bei einem Abstand von  $0,05\ \mu\text{m}$  nur marginal um  $1,3\%$ . Die geringfügige Auswirkung der Größe des Spalts ist zunächst überraschend, da dieser die elektrische Impedanz zwischen der Unterseite des Neurons und der Referenzmasse des extrazellulären Raums entscheidend definiert. Die vergleichbare Parameterstudie auf Basis von Modell V zeigte in diesem Zusammenhang deutlich, dass eine Verkleinerung des Spalts zu signifikant höheren Amplituden des extrazellulären Potentials führt (vgl. Abb. 5.25).

Die Implementierung der MEA-Elektrode in Modell VII verändert zwar die elektrische Kopplung zwischen der Unterseite des Neurons und der elektrischen Masse, jedoch führt eine Verkleinerung des Spalts auch in diesem Fall dazu, dass die Impedanz zwischen der Zellunterseite und der Massereferenz an den Außenrändern des extrazellulären Raums ansteigt. In Modell VII sollte dies wiederum den Anteil des Ionenstroms beeinflussen, der über die MEA-Elektrode zur Masse des Messverstärkers abgeleitet wird. Da dies jedoch nicht der Fall ist, führt dies zu dem Schluss, dass bereits bei einem kleinen Spalt zwischen Neuronenunterseite und Elektrodenoberfläche ein hoher Anteil des Ionenstroms zur Masse des extrazellulären Raums und nicht in Richtung des Messverstärkers fließt. Demzufolge ist die Eingangsimpedanz des Messverstärkers bereits deutlich höher als die Impedanz zur Referenzmasse des extrazellulären Raums und eine zusätzliche Verringerung hat nur noch geringfügige Auswirkungen. Unter Berücksichtigung der Erkenntnisse aus Abschnitt 6.1.1 ergibt sich daraus jedoch ein stimmiges Gesamtbild. Dort zeigte sich, dass ein signifikanter Anteil des generierten Ionenstroms über die nicht bedeckte Oberfläche der MEA-Elektrode zur Referenzmasse des extrazellulären Raums abfließt. Eine Größenänderung des Spalts zwischen Neuron und Elektrode hat jedoch keinerlei Auswirkung auf die Impedanz zwischen den nicht bedeckten Bereichen der Elektrode und der Masse des extrazellulären Raums und somit nur einen begrenzten Einfluss auf den Wert der Gesamtimpedanz. Folglich ist in diesem Fall auch die Auswirkung auf die Amplitude des sich ergebenden Elektrodensignals gering.

Wird demgegenüber die Oberfläche der Elektrode verkleinert und dadurch der Anteil der nicht bedeckten Elektrodenfläche reduziert, erhöht sich die Amplitude des Elektrodensignals deutlich (siehe Abb. 6.6c und 6.6f). Um eine einheitliche Signalform zu erhalten, wurde die Position der Elektrode so fixiert, dass diese stets das extrazelluläre Potential unterhalb des Axonhügels jedoch nicht die positive Potentialverteilung auf der gegenüberliegenden Seite des Soma ableitet. Auf Basis dieser Definition ergibt sich bei einem Elektrodendurchmesser von  $10\ \mu\text{m}$  eine Signalamplitude von  $-28,82\ \mu\text{V}$  gegenüber  $-4,16\ \mu\text{V}$  beim Referenzdurchmesser von  $30\ \mu\text{m}$ , was einer Erhöhung um  $692\%$  entspricht. Analog dazu, verringert sich bei Elektroden mit größeren Durchmessern die Signalamplitude, jedoch fällt die relative Änderung entsprechend geringer aus.

Zusammenfassend zeigen die Resultate der Parameterstudie, wie entscheidend die Bedeckung der Elektrodenoberfläche die Amplitude des abgeleiteten Signals beeinflusst. Aus diesem Grund wurde mit Modell VIII ein zusätzliches Modell entwickelt, mit dem die Auswirkung einer isolierenden Zellschicht auf der Elektrodenoberfläche untersucht werden kann. Hierfür wird beispielhaft eine Lage aus Gliazellen in das Modell VIII integriert, die sich aus mehreren ellipsoidförmigen Zellen unterschiedlicher Größe zusammensetzt. Die Halbachsen der jeweiligen Zellgeometrien befinden sich hierbei im Wertebereich von 2-7  $\mu\text{m}$  (vgl. Abbildung 6.7).

Jede Gliazelle besitzt ein Ruhepotential von ca.  $-90\text{ mV}$ , erzeugt jedoch keine  $\text{Na}^+$ - oder  $\text{K}^+$ -Ionenströme [Amzica, Steriade, 2000]. Somit ergeben sich lediglich kapazitive bzw. resistive Leckströme auf Basis des Hodgkin-Huxley-Modells über die Zellmembran. Für die spezifische Membrankapazität der Gliazellen wird ein Wert von  $c_m = 0,75\text{ F/m}^2$  angenommen, während die spezifische Leitfähigkeit der Lipid-Doppelschicht mit  $g_L = 1 \cdot 10^{-5}\text{ S/m}^2$  definiert ist [Montal, Mueller, 1972].

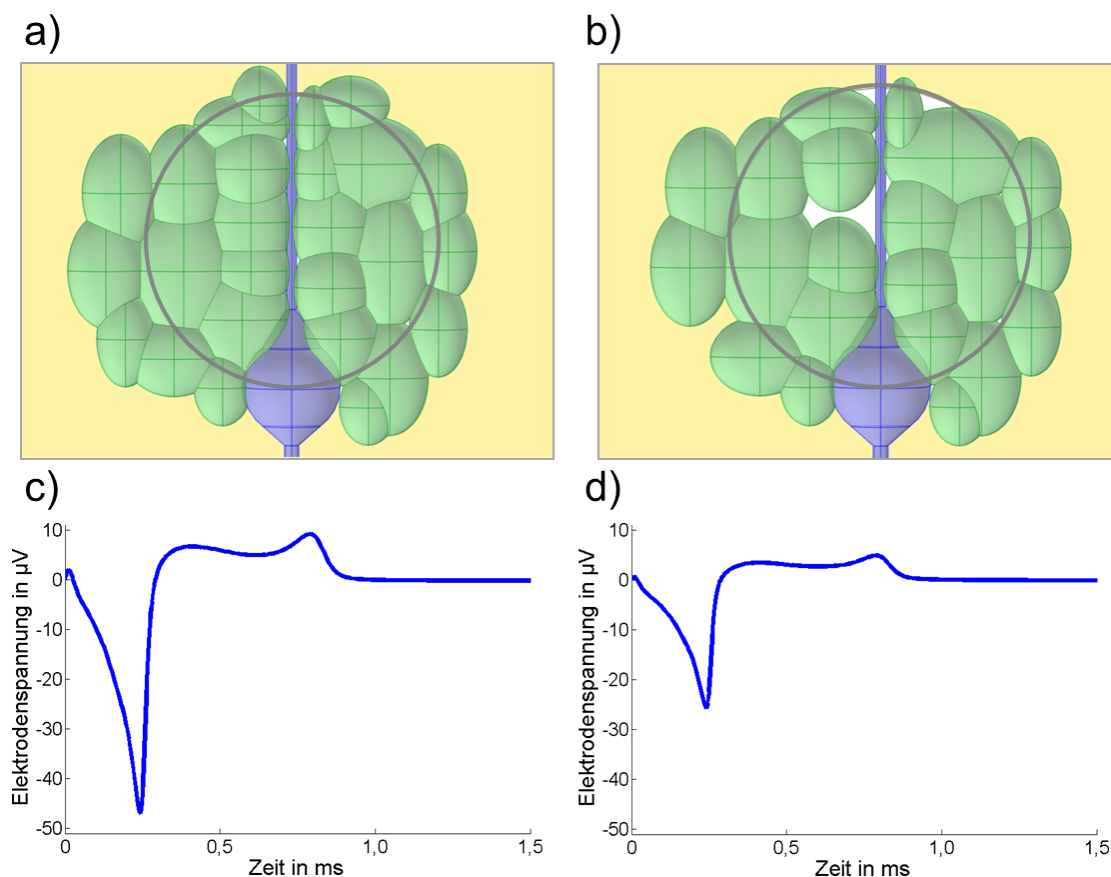
Um eine zusätzliche Bedeckung der MEA-Elektrode nachzubilden, ist die resultierende Lage aus Gliazellen direkt oberhalb der Elektrodenfläche positioniert und schmiegt sich gleichzeitig an die Geometrie des Neurons an. Der Abstand zur Elektrode sowie zur Neuronengeometrie ist mit  $0,1\text{ }\mu\text{m}$  definiert. Die Referenzposition der MEA-Elektrode wird im Vergleich zu Modell VII beibehalten.

Gemäß den Erwartungen bewirkt das Hinzufügen der Schicht aus Gliazellen einen signifikanten Anstieg der Amplitude des abgeleiteten Elektrodensignals (siehe Abb. 6.7).

Bei einer dichten Lage aus Gliazellen erhöht sich die Amplitude des Elektrodensignals auf  $-46,48\text{ }\mu\text{V}$  und ist folglich etwa zehn Mal größer als im unbedeckten Fall (siehe Abb. 6.7a und 6.7c). Allerdings bewirken bereits kleinere Lücken in der Schicht ein signifikantes Abfallen der resultierenden Signalamplitude auf  $-25,67\text{ }\mu\text{V}$  (siehe Abb. 6.7b und 6.7d). In beiden Fällen bleibt wiederum die Form des Elektrodensignals weitestgehend unbeeinflusst. Zudem zeigt sich, dass aufgrund der vergleichsweise hohen elektrischen Impedanz keine erkennbaren Ströme über die Membran der Gliazellen feststellbar sind.

Die Resultate bestätigen, dass das Verhältnis von bedeckter zu unbedeckter Elektrodenfläche ein entscheidender Faktor ist, der die Amplitude des abgeleiteten Signals signifikant beeinflusst. Zudem zeigt sich, dass durch diesen Parameter auch der Einfluss des Spaltes zwischen Zelllage und Elektrodenoberfläche verändert wird. Eine Verkleinerung des Spalts von  $100\text{ nm}$  auf  $50\text{ nm}$  bei einer nahezu lückenlosen Bedeckung der Elektrode erzeugt eine deutliche Steigerung der Signalamplitude auf  $56,53\text{ }\mu\text{V}$  (121 %). Analog dazu, sinkt die Signalamplitude bereits bei einem Abstand von  $250\text{ nm}$  auf einen Wert von  $32,05\text{ }\mu\text{V}$  (69 %).

Die Ergebnisse der Parameterstudie zeigen, dass eine Reihe von Faktoren die Amplitude des abgeleiteten Elektrodensignals bestimmen und dass Interdependenzen zwischen den einzelnen Parametern existieren. Durch das Zusammenspiel von Elektrodenposition, Adhäsionsabstand und Bedeckung der MEA-Elektrode ergibt sich ein komplexer Zusammenhang zwischen der Zell-Elektrodenkopplung und dem daraus resultierenden Elektrodensignal.



**Abbildung 6.7:** Einfluss einer zusätzlichen Bedeckung der MEA-Elektrode durch Gliazellen. a) und b) Modellierung der Schicht aus Gliazellen in Modell VIII in der Nähe der MEA-Elektrode in der Ansicht von oben. Die Elektrode (Kontur in grau) wird durch die Geometrie des Neurons (blau) sowie einer Lage aus Gliazellen (grün) bedeckt. c) Durch die zusätzliche Abdeckung erhöht sich die Amplitude des abgeleiteten Signals um das Zehnfache. d) Bereits kleinere unbedeckte Stellen (weiße Flächen in b) bewirken jedoch eine merkliche Reduktion der Signalamplitude.

Verglichen mit gemessenen Signalverläufen zeigt sich, dass bei planaren Elektroden realistische Signalamplituden im zweistelligen Mikrovoltbereich erreicht werden können, wenn eine dichte Bedeckung der Elektrodenoberfläche durch Gliazellen angenommen wird. Unter idealen Bedingungen und unter Berücksichtigung einer rauen Oberfläche können damit Signalverläufe im dreistelligen Mikrovoltbereich erzielt werden (vgl. [Nam, Wheeler, 2011; Nick, 2015]). Werden hingegen suboptimale Parameter angenommen, z.B. eine unvollständige Bedeckung der Elektrodenoberfläche, würden sich wiederum Signalamplituden im zweistelligen Mikrovoltbereich ergeben.

Eine weitere entscheidende Feststellung ist, dass die untersuchten Faktoren keinen signifikanten Einfluss auf die generelle Form des abgeleiteten Signals haben. Im Rahmen dieser Arbeit bedeutet dies, dass die gezeigten Signalverläufe aus Abschnitt 6.1.1 grundsätzlich stimmig sind. Zwar sind die Amplituden der dort gezeigten Elektrodensignale generell ca. eine Größenordnung zu klein, das Verhältnis zwischen den positionsabhängigen Amplituden aber dennoch aussagekräftig. Folglich ist es deutlich wahrscheinlicher extrazelluläre Ableitungen mit ausreichenden Signalamplituden zu erhalten, wenn sich die Elektrode

in der Nähe des Soma anstatt unterhalb des Axons befindet, da die Anforderung an die Stärke der Zell-Elektrodenkopplung bedeutend geringer ist.

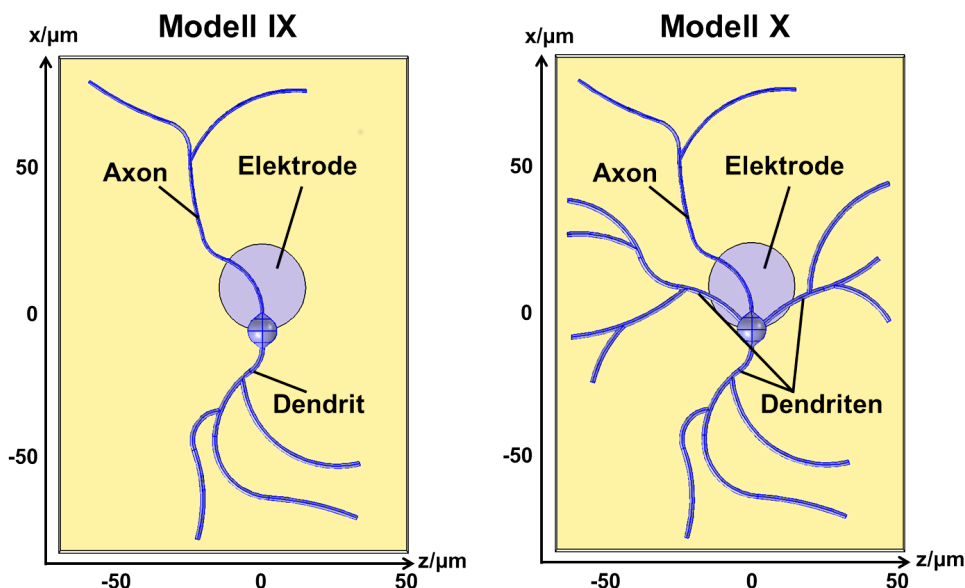
Die exakte Form sowie die Richtung des resultierenden Signalausfalls werden wiederum durch die genaue Lage der einzelnen Bereiche des Neurons in Bezug zur MEA-Elektrode bestimmt. Aufgrund der vereinfachten Geometrie des modellierten Neurons reduzierte sich dieser Parameter in den bisherigen Modellen auf die Position der MEA-Elektrode. Generell kann in diesem Zusammenhang auch die Form des Neurons von Bedeutung sein, z.B. der genaue Verlauf von Axon und Dendriten ausgehend vom Soma. Um diesen Einfluss auf das resultierende Elektrodensignal zu ermitteln, wird im folgenden Abschnitt die Geometrie des modellierten Neurons weiter verfeinert und die sich ergebenden Auswirkungen exemplarisch untersucht.

## 6.2 Elektrodensignale auf Basis realistischer Neurongeometrien - Modell IX und X

Bereits im Rahmen von Abschnitt 2.4 wurde ersichtlich, dass verschiedene Nervenzellarten sehr unterschiedliche Formen aufweisen und sich auch die Geometrie der Neuronen eines bestimmten Zelltyps unterscheiden. Die bisherigen Modelle wurden zwar auf Basis der generellen Parameter eines Pyramidalneurons entwickelt, die Komplexität der Neuronengeometrie jedoch bewusst gering gehalten, um die übrigen Modellparameter ausgiebig analysieren zu können. Aufbauend auf den resultierenden Ergebnissen wird in einem nächsten Schritt die Geometrie des modellierten Neurons im Rahmen von Modell X verfeinert, um die charakteristische Form eines Pyramidalneurons besser nachzubilden. Die entsprechende Neuronengeometrie besitzt drei unabhängige Dendritenbäume die sich ausgehend vom Soma in unterschiedliche Richtungen ausdehnen und in mehrere Äste aufteilen (vgl. Abbildung 2.7). Parallel dazu wird mit Modell IX eine reduzierte Geometrie simuliert, die weiterhin eine bipolare Form aufweist und somit den Vergleich mit den Ergebnissen der vorangegangenen Modellen erleichtert (siehe Abb. 6.8).

Die grundlegenden Geometrieparameter, wie z.B. der Durchmesser von Axon und Dendriten sowie die Größe des Soma, bleiben gegenüber den Vormodellen IV-VIII unverändert und stimmen mit den Werten aus Tabelle 5.2 überein. Analog dazu ist die Unterseite von Modell IX und X abgeflacht und der Abstand zur Bodenfläche des Modells beträgt weiterhin  $0,1 \mu\text{m}$ . Zur besseren Vergleichbarkeit bleiben zudem die elektrophysiologischen Parameter beider Modelle unangetastet und entsprechen den Werten für das modifizierte Hodgkin-Huxley-Modell aus Tabelle 5.4.

Des Weiteren ist in beiden Modellen die in Modell VII eingeführte MEA-Elektrode integriert und eine Referenzposition mit einem Versatz von  $5 \mu\text{m}$  in  $x$ -Richtung in Bezug auf den Anfang des AIS definiert. Auf die Modellierung einer Lage aus Gliazellen wird hingegen verzichtet, um die Komplexität des Modells nicht zusätzlich zu erhöhen und die Vergleichbarkeit zu den vorangegangenen Simulationen zu gewährleisten. Da die Größenordnungen der Modellgeometrie nicht verändert wurden, erfolgt die Ortsdiskretisierung beider Modelle mit derselben Auflösung wie in den Modellen IV-VIII.



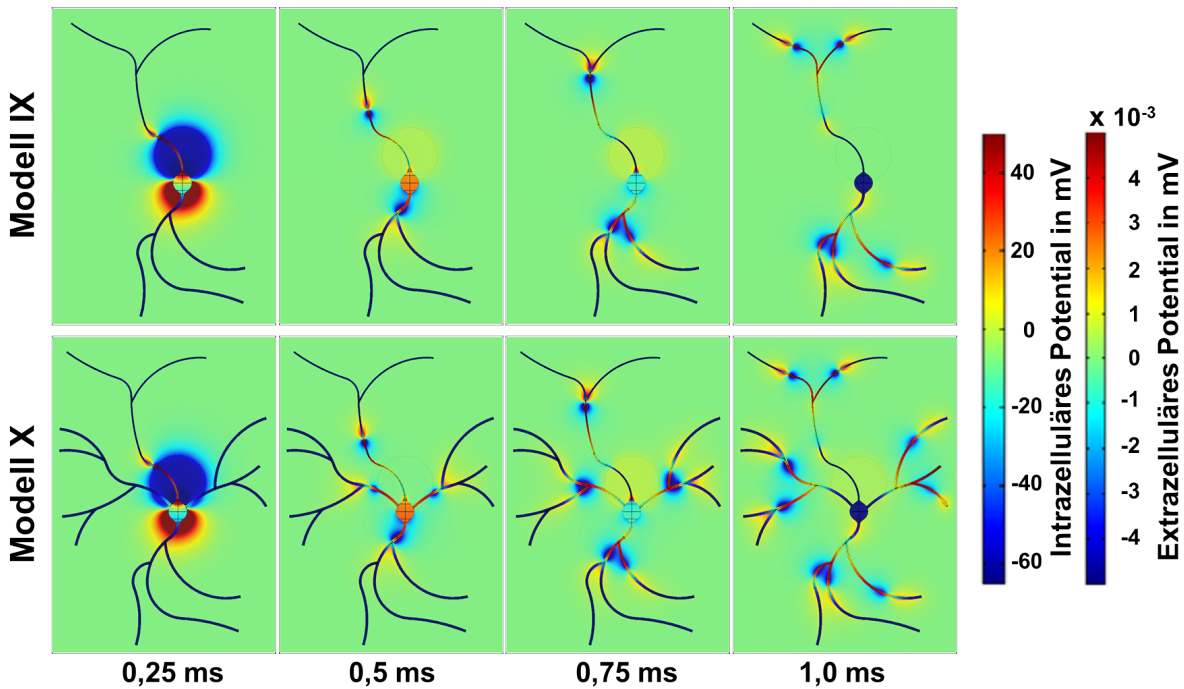
**Abbildung 6.8:** Verfeinerte Neuronengeometrien von Modell IX und X in der Ansicht von oben. Das Neuron in Modell IX besteht weiterhin aus nur einem Dendriten, weist aber bereits geschwungene Verläufe von Dendrit und Axon auf, die sich zudem in mehrere Äste aufteilen. Das Neuron in Modell X verfügt hingegen über die charakteristischen Dendritenbäume eines Pyramidalneurons, die sich vom Soma in mehrere Richtungen ausbreiten.

Dadurch ergibt sich für Modell IX eine Diskretisierung mit 840.000 Freiheitsgraden bzw. 517.000 Tetraederelementen erster Ordnung und mit 1.740.000 Freiheitsgraden beziehungsweise 1.081.000 Tetraederelementen für Modell X. Durch die deutlich komplexere Modellgeometrie erhöht sich die notwendige Berechnungszeit für beide Modelle. Die Simulation eines Zeitraums von 1,5 ms benötigte für Modell IX ca. 31 Stunden und für Modell X 35 Stunden.

Obwohl die AP-Ausbreitung in beiden Modellen grundsätzlich identisch verläuft, ergeben sich aufgrund der unterschiedlichen Geometrie von Modell IX und X verschiedene Potentialverteilungen im extrazellulären Raum (siehe Abb. 6.9).

Die intrazellulären Potentiale sowie die AP-Ausbreitungsgeschwindigkeit ist in beiden Modellen gleich, so dass das AP zum jeweiligen Zeitpunkt an derselben Stelle zu finden ist. Bis auf einen geringfügigen Zeitversatz von ca. 20  $\mu\text{s}$  bei der initialen AP-Generierung können keine sichtbaren Unterschiede hinsichtlich AP-Verlauf und -Ausbreitungsgeschwindigkeit gegenüber Modell VII festgestellt werden (vgl. Abbildung 6.3).

Aufgrund der modifizierten Geometrie verändert sich in Modell IX und X die Potentialverteilung im extrazellulären Raum gegenüber Modell VII. Allerdings weist die extrazelluläre Potentialverteilung von Modell IX im Bereich von Soma, AIS und Axon weiterhin große Ähnlichkeiten zu Modell VII auf. Unterschiede zwischen den Modellen VII und IX sind lediglich in Bereichen erkennbar, in denen sich das Axon bzw. Dendrit von Modell IX in mehrere Äste aufteilt. An diesen Verzweigungen ergeben sich sowohl in Modell IX als auch in Modell X höhere extrazelluläre Potentiale, da im Rahmen der AP-Ausbreitung, ähnlich wie am Übergang von AIS zu Soma, ein größeres intrazelluläres Volumen depolarisiert werden muss.



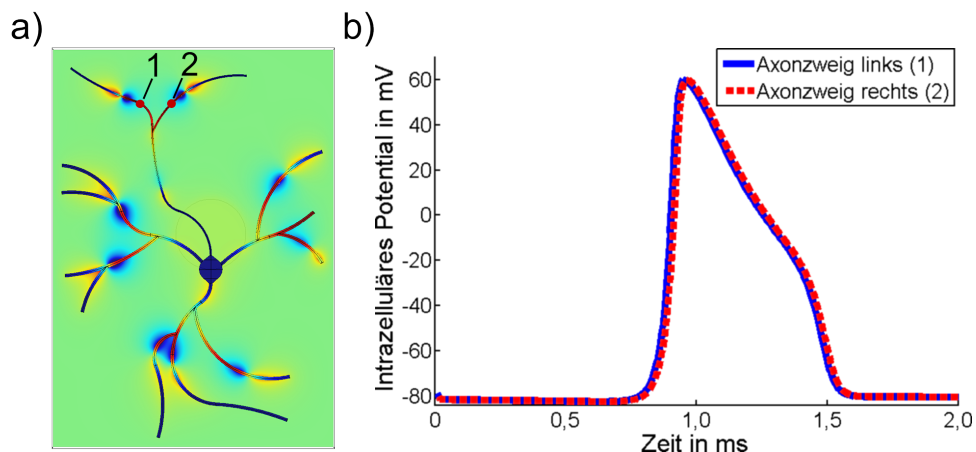
**Abbildung 6.9:** Verlauf des intra- und extrazellulären Potentials in Modell IX und X in der Ansicht von oben. Die AP-Ausbreitung entlang des Axons und des gegenüberliegenden Dendriten erfolgt in beiden Modellen identisch und führt zu vergleichbaren Potentialverteilungen im extrazellulären Raum. Die Ausbreitung des AP in den beiden zusätzlichen Dendriten von Modell X führt jedoch zu einer Veränderung der extrazellulären Potentialverteilung im Umkreis des Soma und somit auch zu unterschiedlichen Potentialen an der Elektrodenoberfläche. (Videos verfügbar unter: <https://www.h-ab.de/biomems/forschung/>)

Zudem überlagern sich an diesen Stellen die resultierenden extrazellulären Potentiale der einzelnen Zweige, da sich das propagierende AP parallel in den einzelnen Zweigen fortpflanzt. Dabei wird das AP in den einzelnen Zweigen separat neu generiert und weitergeleitet (siehe Abb. 6.10).

An der Verzweigung des Axons ergibt sich folglich keine Abschwächung des AP und es breitet sich in beiden Zweigen mit unveränderter Form und Amplitude aus. Gleiches gilt für die Verzweigungen der Dendriten, an denen sich das AP im Rahmen der *backpropagation* aufteilt und anschließend in den einzelnen Zweigen weitergeleitet wird. Im Rahmen des Vergleichs der Modelle IX und X ergeben sich zudem weder an der Verzweigung des Axons noch entlang der sich aufspaltenden Dendriten Unterschiede zwischen beiden Modellen. Die Resultate der Modelle IX und X stimmen zudem mit bereits publizierten Ergebnissen vergleichbarer Modelle überein, die ebenfalls eine verlustfreie Aufteilung des AP zeigen (vgl. [Xylouris et al., 2010; Appali et al., 2015]).

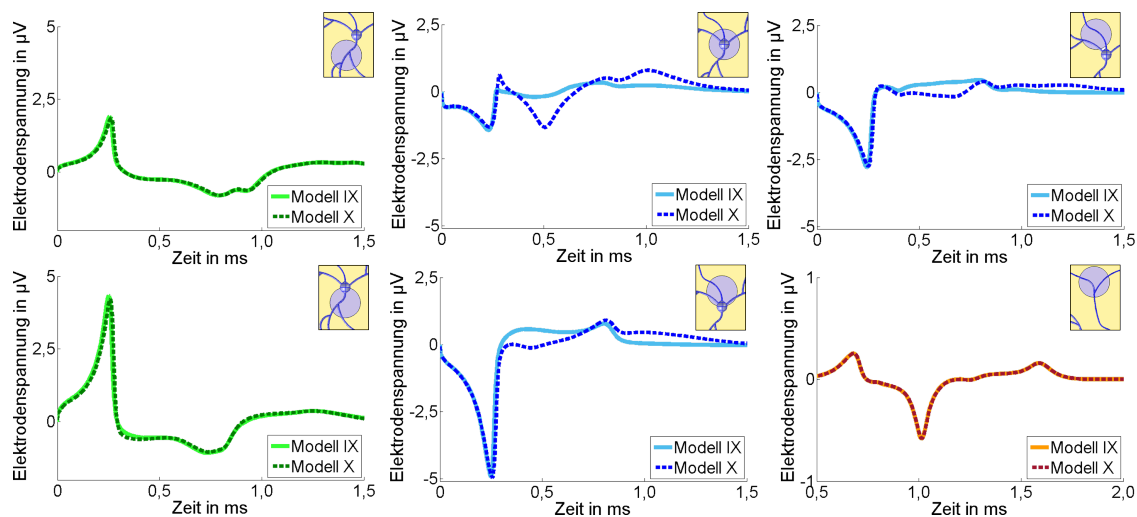
Die einzige Abweichung zwischen den Ergebnissen der Modelle IX und X ist die unterschiedliche extrazelluläre Potentialverteilung im Umkreis des Soma. Die AP-Ausbreitung in den zusätzlichen Dendriten von Modell X führt zu weiteren Ionenströmen, die sich nahe des Soma mit den dortigen Transmembranströmen überlagern und dadurch das lokale extrazelluläre Potential beeinflussen.





**Abbildung 6.10:** Zeitlicher Verlauf des intrazellulären Potentials in den Axonverzweigungen von Modell X mit geometrischer Referenz ( $t = 1,0$  ms) gezeigt in a). b) Das entlang des Axons propagierende AP breitet sich an der Verzweigung in beide Axonzweige aus und wird separat in jedem Zweig im Rahmen der kontinuierlichen Erregungsleitung neu generiert. Dadurch bleibt die Form des propagierenden AP auch nach der Verzweigung unverändert in beiden Axonzweigen und die ursprüngliche Amplitude des AP bleibt in beiden Zweigen erhalten.

Dies verändert wiederum das resultierende Potential an der MEA-Elektrode, die das extrazelluläre Potential in ihrer Umgebung aufsummiert. Folglich ergeben sich unterschiedliche Zeitverläufe für das Elektrodenpotential, wenn es in der Nähe des Soma positioniert ist (siehe Abb. 6.11).



**Abbildung 6.11:** Simulierte Elektrodensignale in Abhängigkeit von der Elektrodenposition anhand von Modell IX und X. Die verschiedenen Farben der Spannungsverläufe weisen auf eine unterschiedliche Skala der  $y$ -Achse hin. Die simulierten Signale sind in den Bereichen des Axons und in der Nähe des Übergangs von Soma zu dem in beiden Modellen implementierten Dendriten identisch. Nahe der Position der beiden zusätzlichen Dendriten, weicht das Resultat von Modell X jedoch deutlich vom Verlauf in Modell IX ab.

Der Effekt der zusätzlichen Dendriten wirkt sich am stärksten aus, wenn die MEA-Elektrode direkt unterhalb des Soma positioniert ist und es bildet sich ein zweiter negativer Signalausschlag in Modell X aus. Auch in der Umgebung des Soma sind die Auswirkungen der Geometrie von Modell X erkennbar, erzeugen jedoch dort lediglich geringfügige Änderungen der Form des abgeleiteten Signals.

Für die Positionen, an denen die Geometrien von Modell IX und X identisch sind, ergibt sich wiederum ein identisches Elektrodensignal. Werden zudem die Ergebnisse von Modell IX und Modell VII gegenübergestellt, können nur geringfügige Unterschiede zwischen den Signalverläufen an miteinander vergleichbaren Positionen erfasst werden (vgl. Abbildung 6.2).

Im Bereich der Verzweigung des Axons ergibt sich ein erhöhter Spannungsausgang innerhalb des Elektrodensignals von Modell IX und X verglichen mit den restlichen Bereichen des Axons. Der Grund hierfür ist, dass bei der AP-Ausbreitung ein größerer Transmembranstrom in diesem Bereich generiert werden muss, um die Ausbreitung des AP in beide Äste des Axons zu gewährleisten.

In der Zusammenfassung zeigen die Ergebnisse einen eindeutigen Einfluss von einigen geometrischen Parametern des Neurons auf die Form des sich ergebenden Elektrodensignals. Hierbei hat die verfeinerte Geometrie von Modell IX gegenüber der vereinfachten Geometrie von Modell VII generell nur geringfügige Auswirkungen. Die Ausnahme sind hierbei Verzweigungen von Axon und Dendrit, an denen sich die Signalverläufe aufgrund höherer Transmembranströme verändern. Wird die Komplexität der Neuronengeometrie in Modell X jedoch weiter erhöht und die Form eines Pyramidalneurons realistischer angenähert, ergeben sich signifikantere Änderungen in den Verläufen der abgeleiteten Signale. Diese sind dabei von besonderer Relevanz, da hierbei die Signalformen betroffen sind, die in direkter Umgebung zur Soma abgeleitet werden können und aufgrund ihrer Amplitude mit der höchsten Wahrscheinlichkeit messbar sind.

Darüber hinaus ergibt sich eine weitere Ebene der Komplexität, wenn zusätzliche Zellen in der Umgebung der realistischen Neuronengeometrie angenommen werden. Wie bereits in Modell VIII gezeigt, führt eine Lage aus Gliazellen zu höheren Amplituden des abgeleiteten Signals, da die Unterseite der Zellgeometrie stärker von der Referenzmasse des extrazellulären Raums abgeschirmt wird. Wird in diesem Zusammenhang eine inhomogene Gliaschicht angenommen, welche beispielsweise an den Dendriten von Modell X dichter ist als im Bereich des Axons, würde der Verlauf des resultierenden Elektrodensignals stärker von diesen beeinflusst werden und sich dadurch die Form des abgeleiteten Signals verändern.

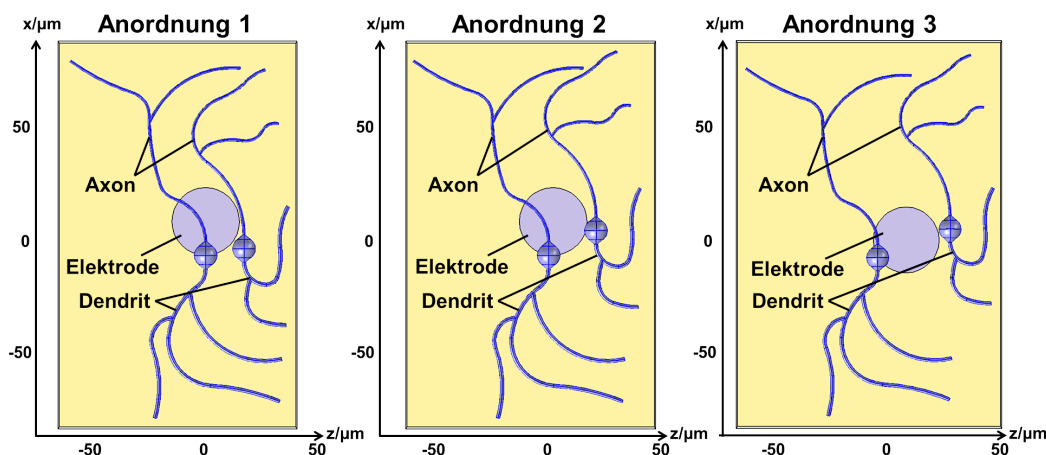
Alternativ kann das abgeleitete Elektrodensignal auch durch ein benachbartes Neuron verändert werden. Basierend auf dessen Geometrie und Position zur Elektrode würde dieses Neuron wiederum ein spezifisches Elektrodensignal generieren und die beiden Signale würden sich theoretisch gegenseitig überlagern. Um die Auswirkung einer solchen Situation genauer zu untersuchen, wird im folgenden Abschnitt das FEM-Modell um ein zusätzliches Neuron ergänzt und das sich ergebende Elektrodensignal auf Basis der Überlagerung beider Zellsignale für unterschiedliche Konstellationen ermittelt.

## 6.3 Überlagerung der Signale benachbarter Neuronen - Modell XI

Als Basis für die Simulation zweier benachbarter Neuronen dient Modell IX, da dessen Zellgeometrie eine Vielzahl an Möglichkeiten der Positionierung beider Zellen bietet ohne die Aussagekraft des Simulationsergebnis einzuschränken. Das zweite Neuron ist analog zur Zelle in Modell IX auf Basis der Parameter aus Tabelle 5.2 und 5.4 modelliert. Es bildet ebenfalls ein bipolares Neuron nach, jedoch ist die Form der Zelle umfassend modifiziert. Die Berechnung der AP-Generierung und -Ausbreitung innerhalb des zweiten Neurons erfolgt analog zur ersten Zelle auf Basis des adaptierten Hodgkin-Huxley-Modells und des EQS-Ansatzes. Allerdings werden separate Variablen für das zusätzliche Differentialgleichungssystem des intrazellulären Raums des zweiten Neurons eingeführt.

Um einen Zeitversatz in der initialen AP-Generierung beider Neuronen zu erzeugen, ist im Differentialgleichungssystem von Zelle zwei der Anfangswert der Variable  $m$  von 0,31 auf 0,21 reduziert. Dadurch verzögert sich die Ausbildung des AP innerhalb des AIS von Neuron zwei um ca. 0,1 ms gegenüber Neuron eins.

Durch diese Erweiterung ist es mit dem resultierenden Modell XI möglich, verschiedene Konstellationen der beiden Neuronen sowie unterschiedliche Elektrodenpositionen zu simulieren. Hierfür wurden drei Beispielkonstellationen modelliert, die sich in der Anordnung der beiden Zellen in Bezug zur MEA-Elektrode unterscheiden (siehe Abb. 6.12).



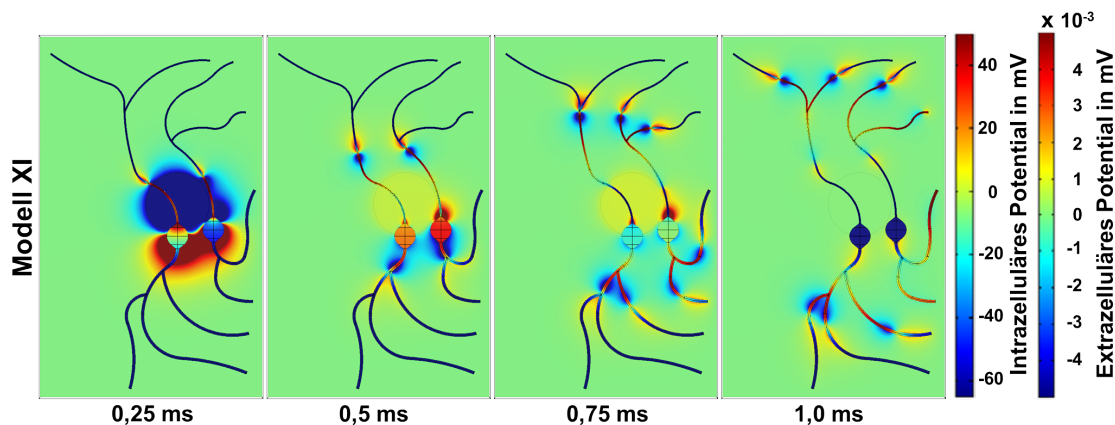
**Abbildung 6.12:** Geometrie von Modell XI mit zwei benachbarten Neuronen mit verschiedenen Anordnungen in Bezug zur MEA-Elektrode in der Ansicht von oben.

In Anordnung 1 und 2 ist die Lage des ersten Neurons unverändert gegenüber Modell IX und auch die MEA-Elektrode befindet sich an der bisherigen Referenzposition mit einem Versatz von 5  $\mu\text{m}$  in  $x$ -Richtung gegenüber dem Anfang des AIS von Neuron eins. Dadurch kann der Einfluss einer Überlagerung der extrazellulären Potentiale beider Zellen auf das Elektrodensignal von Modell XI besser mit dem entsprechenden Ergebnis in Modell IX verglichen werden (siehe Abb. 6.11). Für Anordnung 3 ist die Lage des linken Neurons hingegen um ein paar Mikrometer in  $x$ - und  $z$ -Richtung versetzt.

Der Abstand zwischen den Somata beider Zellen beträgt  $7,7 \mu\text{m}$  in Anordnung 1,  $15,6 \mu\text{m}$  in Anordnung 2 und  $27,8 \mu\text{m}$  in Anordnung 3.

Die Ortsdiskretisierung der Geometrie von Modell XI erfolgt mit der identischen Auflösung von Modell IX und X. Dies ergibt für Modell XI ein Diskretisierungsgitter mit 1.222.000 Freiheitsgraden bzw. 710.000 Tetraederelementen. Die Implementierung eines zweiten Neurons führt zu einer signifikanten Erhöhung der Rechenintensität von Modell XI, so dass die Lösung des Modells für einen Zeitraum von  $1,5 \text{ ms}$  ca. 68 Stunden benötigt. Dies kann auf den deutlich höheren Aufwand zur Lösung des Hodgkin-Huxley-Modells zurückgeführt werden, das in Modell XI parallel für zwei Neuronen berechnet werden muss.

Eine Analyse der sich ergebenden intra- und extrazellulären Potentiale zeigt, dass die Nähe beider Zellen keine Auswirkung auf die jeweilige AP-Generierung und -Ausbreitung hat (siehe Abb. 6.13).



**Abbildung 6.13:** Verlauf des intra- und extrazellulären Potentials in Modell XI für Anordnung 1 in der Ansicht von oben. Obwohl der geringe Zeitversatz in der AP-Generierung und anschließenden -Ausbreitung erkennbar ist, verlaufen sie in beiden Zellen gleichförmig. Im extrazellulären Raum ist hingegen eine Überlagerung der generierten Potentiale im Bereich der Somata zu erkennen. (Video verfügbar unter: <https://www.h-ab.de/biomems/forschung/>)

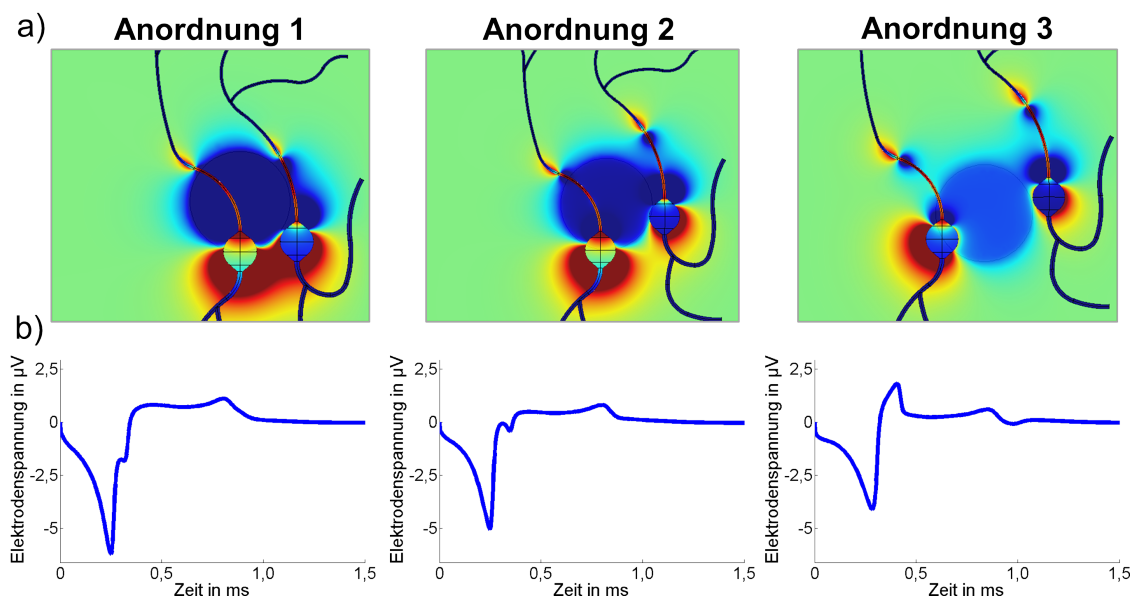
Durch den implementierten Zeitversatz der initialen AP-Generierung wird das Soma des linken Neurons früher depolarisiert als im rechten. Davon abgesehen, ergeben sich keine sichtbaren Unterschiede im Rahmen der AP-Ausbreitung und beide Zellen zeigen die bereits bekannten Phänomene in Abhängigkeit ihrer geometrischen Eigenschaften. Obwohl die Axone und Dendriten beider Neuronen nur wenige Mikrometer voneinander entfernt sind, ergibt sich keinerlei erkennbare Überlagerung der generierten extrazellulären Potentiale in diesen Bereichen. Im Bereich beider Somata ist dieser Effekt jedoch deutlich sichtbar, da hier die generierten Potentialverläufe im extrazellulären Raum am ausgeprägtesten sind.

Doch selbst nahe der beiden Somata ergeben sich hierbei lediglich extrazelluläre Potentiale im einstelligen Mikrovoltbereich, so dass keinerlei ephaptische Kopplung zwischen beiden Neuronen zustande kommt. Generell beschreibt dieser Effekt den Einfluss eines Neurons auf direkt benachbarte Neuronen, bei der die Änderung des extrazellulären Potentials im Rahmen der AP-Generierung des Neurons, das Transmembranpotential der benachbarten

Zellen soweit verändert, dass deren elektrische Aktivität dadurch beeinflusst wird (vgl. [Holt, Koch, 1999; Anastassiou et al., 2011; Xylouris, Wittum, 2015]). Zwar reicht diese Kopplung i.d.R. nicht dazu aus, um ein benachbartes Neuron zur AP-Generierung anzuregen, jedoch zeigen die Simulationen in [Holt, Koch, 1999] und [Xylouris, Wittum, 2015], dass bereits extrazelluläre Potentiale von ca. 0,1 mV ausreichen können, um Änderungen in der AP-Generierung bzw. -Weiterleitung des Nachbarneurons herbeizuführen. Darüber hinaus zeigen experimentelle Daten in [Anastassiou et al., 2011], dass die ephaptische Kopplung bei der Synchronisation der elektrischen Aktivität von benachbarten Neuronen eine Rolle spielt.

Im Vergleich dazu sind die extrazellulären Potentiale in Modell XI um ein bis zwei Größenordnungen geringer, so dass das resultierende Transmembranpotential weder zwischen den Axonen beider Zellen noch zwischen beiden Somata merklich durch das anliegende extrazelluläre Potential beeinflusst wird. Hierbei ist jedoch hervorzuheben, dass die extrazelluläre MEA-Elektrode die Amplitude des extrazellulären Potentials zwischen beiden Zellen effektiv verringert (vgl. Abb. 5.27 bzw. Abb. 6.4). Somit legen die Ergebnisse von Modell XI den Schluss nahe, dass die MEA-Elektrode in einer *in vitro* Kultur die ephaptische Kopplung zwischen zwei benachbarten Zellen merklich abschwächt, wenn sich diese in direkter Nähe zur Elektrode befinden.

Allerdings beeinflussen die sich überlagernden extrazellulären Potentiale beider Zellen den resultierenden Verlauf des Elektrodensignals, wobei der exakte Verlauf stark von der Position beider Zellen in Bezug zur MEA-Elektrode abhängig ist (siehe Abb. 6.14).



**Abbildung 6.14:** Simulierte Elektrodensignale auf Basis von Modell XI. a) Zum besseren Vergleich der resultierenden Signale ist der intra- und extrazelluläre Potentialverlauf der jeweiligen Position zum Zeitpunkt 0,25 ms dargestellt (Farbskala analog zu Abb. 6.13). b) Je nach Lage beider Neuronen im Hinblick auf die Elektrodenposition führt die Überlagerung beider Zellsignale zu Änderungen der Signalamplitude sowie zu unterschiedlichen Signalverläufen.

Verglichen mit dem entsprechenden Signalverlauf innerhalb von Modell IX erhöht sich im Fall von Anordnung 1 die Amplitude des abgeleiteten Signals um ca. 1  $\mu\text{V}$  auf -6,21  $\mu\text{V}$ .

Abgesehen von einem leichten Abknicken an der steigenden Flanke des Signalverlaufs, bleibt die generelle Form des Elektrodensignals jedoch weitgehend unverändert.

Demgegenüber ist die Auswirkung des zweiten Neurons für Anordnung 2 weniger offensichtlich, obwohl hierbei das rechte Neuron lediglich um ein paar Mikrometer nach oben verschoben ist. Statt einer konstruktiven Überlagerung, wie innerhalb von Anordnung 1, überdeckt das vom linken Neuron generierte Elektrodensignal das des rechten Neurons fast vollständig. Dadurch ist lediglich ein kleiner negativer Ausschlag innerhalb des resultierenden Signals zu erkennen. Zudem ist der nachfolgende Verlauf geringfügig nach unten verschoben und somit etwas weniger ausgeprägt.

Im Fall von Anordnung 3 ist der Versatz beider Neuronen in Bezug zur MEA-Elektrode größer als in den beiden vorangegangenen Fallbeispielen. Folglich ist die Amplitude des abgeleiteten Signalverlaufs mit  $-4,11 \mu\text{V}$  niedriger als für die Anordnungen 1 und 2. Zudem ergibt sich direkt hinter der negativen Signalspitze ein deutlicher positiver Signalausschlag, der durch die positive Potentialverteilung am Übergang von Soma zu Dendrit von Neuron zwei erzeugt wird.

Die beispielhafte Analyse zeigt deutlich den Effekt, den zwei benachbarte Neuronen auf ein abgeleitetes Elektrodensignal haben können. Auf Basis der Ergebnisse von Modell XI ist die Voraussetzung hierfür, dass die Somata beider Zellen sich in der direkten Nähe der MEA-Elektrode befinden, da ansonsten die generierten Potentiale im extrazellulären Raum zu gering sind, um eine deutliche Überlagerung zu erzeugen. Darüber hinaus führt bereits eine geringe Änderung der Lage beider Neuronen in Bezug zur MEA-Elektrode zu signifikanten Auswirkungen auf den Verlauf des abgeleiteten Signals.

Aufgrund dieses Zusammenhangs ist eine umfassende Analyse des Phänomens außerhalb des Rahmens dieser Arbeit, da allein die Anzahl an denkbaren Positionskonstellationen zusammen mit möglichen Modifikationen der beiden Neuronengeometrien zu einer hochkomplexen Fragestellung führt. Diese Komplexität kann zudem wiederum erhöht werden, wenn eine inhomogene Glia-schicht in die Modellgeometrie implementiert wird, da dadurch die Kopplung der jeweiligen Zelle mit der MEA-Elektrode zusätzlich modifiziert werden kann.

Die Ergebnisse von Modell XI zeigen jedoch, dass das in dieser Arbeit entwickelte FEM-Modell auch zur Simulation mehrerer, parallel aktiver Neuronen geeignet ist. Somit ist es in der Lage, verschiedenste Konstellationen von einem oder mehreren Neuronen nahe einer MEA-Elektrode nachzubilden und das sich ergebende Elektrodensignal in Abhängigkeit von einer Vielzahl von Parametern, wie z.B. Zellgeometrie, Ionenkanaldichte, Umgebungstemperatur oder einer Bedeckung durch Gliazellen zu ermitteln.

## 7 Zusammenfassung und Ausblick

Ein essentieller Baustein, um die Funktionsweise des Gehirns zu verstehen, ist die präzise Analyse der elektrischen Aktivität des sich dahinter verbergenden Netzwerks. Diese Aktivität bildet sich aus einer Vielzahl an Aktionspotentialen heraus, die von Neuron zu Neuron gesendet werden. Die Signale können mit extrazellulären Elektroden gemessen werden und ermöglichen somit einen Einblick in die Aktivität des gesamten Zellnetzwerks. Allerdings ergibt sich bei dieser Methode die Problemstellung, dass im Rahmen der extrazellulären Ableitung neuronaler Zellsignale oft verschiedene Signalformen auftreten (vgl. Abb. 1.1), jedoch die Ursachen hierfür noch zu großen Teilen ungeklärt sind. Dies führt dazu, dass abgeleitete Zellsignale innerhalb einer Messung nicht zweifelsfrei erkannt bzw. detektiert werden können. Die Unsicherheit bei der Detektion der Signale des Netzwerks ist jedoch ein kritischer Schritt bei der Auswertung entsprechender Messdaten, da ein Großteil der nachfolgenden Analysen auf Basis dieses Ergebnisses berechnet werden. Folglich können Fehler bei der Detektion einen deutlichen Einfluss auf das Ergebnis wissenschaftlicher Studien haben und die Aussagekraft dieser Studien signifikant einschränken.

Ein essentieller Schritt, um diese Unsicherheit zu adressieren ist es, das Spektrum der möglichen Signalformen zu erfassen und die Ursachen für dieses Phänomen zu ermitteln. Vor diesem Hintergrund wurde in dieser Arbeit ein dreidimensionales Simulationsmodell entwickelt, in dem die extrazelluläre Ableitung eines neuronalen Signals detailliert nachgebildet wird. Der Vorteil dieses Lösungsansatzes ist, dass die sich ergebenden intra- und extrazellulären Potentiale eingehend analysiert werden können. Die detaillierte Einbindung einer MEA-Elektrode in das 3D-Modell erlaubt es zudem, die geometrischen Parameter der Zell-Elektrodenkopplung auf das resultierende Elektrodensignal umfassend zu untersuchen.

Im Verlauf dieser Arbeit wurden auf Basis der Finiten-Elemente-Methode verschiedene neuronale Modelle mit sukzessive zunehmender Komplexität generiert. Zur Beschreibung der elektrischen Aktivität wurde das etablierte Hodgkin-Huxley-Modell verwendet. Hierbei zeigte sich, dass die Implementierung der grundlegenden Hodgkin-Huxley-Gleichung nicht für eine realistische Nachbildung der AP-Generierung und -Ausbreitung innerhalb eines Säugetierneurons geeignet ist, da die resultierende AP-Ausbreitungsgeschwindigkeit mit ca. 30 mm/s unterhalb des gemessenen Bereichs liegt. Mit Hilfe der Implementierung der modifizierten Hodgkin-Huxley-Gleichung nach [Yu et al., 2012], das u.a. eine stimmige Temperaturanpassung auf 37 °C ermöglicht, konnte diese Problemstellung adressiert und eine realistische Ausbreitungsgeschwindigkeit von ca. 100 mm/s innerhalb des Modells erreicht werden.

Als Basis für die mathematische Beschreibung der AP-Ausbreitung wurde ein EQS-basierter Ansatz verwendet, der in einer Vergleichsstudie dem gewöhnlich verwendeten CE-basierten Ansatz gegenübergestellt wurde. Hierbei ergab sich einerseits, dass die Ergebnisse beider Ansätze generell übereinstimmen. Andererseits zeigte die Gegenüberstellung die Vorteile des EQS-basierten Ansatzes auf, da dessen Herleitung auf weniger Annahmen beruht, wodurch er auch für nicht symmetrische Geometrien anwendbar ist.

Innerhalb der Modellstudie wurde in einem ersten Schritt untersucht, welche Parameter das resultierende extrazelluläre Potential im Rahmen der AP-Generierung und -Ausbreitung beeinflussen.

Mit Hilfe der Modelle I-VI wurde gezeigt, dass die Verteilung des extrazellulären Potentials direkt aus den Transmembranströmen hervorgeht, die während der lokalen AP-Generierung im entsprechenden Bereich des Neurons erzeugt werden. Die generierten Transmembranströme werden hierbei deutlich von der Ionenkanalverteilung entlang der Zellmembran sowie von der Kinetik der Ionenkanäle beeinflusst. Zum einen führt die Ionenkanalkinetik des für Säugetierneuronen angepassten Hodgkin-Huxley-Modells zu generell höheren Ionenströmen über die Zellmembran als das grundlegende Modell und somit zu höheren Potentialen im extrazellulären Raum. Zum anderen beeinflusst eine inhomogene Ionenkanalverteilung das Verhalten der Ionenkanäle im entsprechenden Übergangsbereich, so dass die erzeugten Transmembranströme signifikant verändert werden. Darüber hinaus bewirkt eine ortsabhängige Änderung des Verhältnisses von Membranoberfläche zu intrazellulärem Volumen eine Veränderung der Ionenkanalkinetik in der Nähe des Soma der Neuronengeometrie.

Darauf aufbauend wurde in einem zweiten Schritt die extrazelluläre Ableitung des Zellsignals simuliert und die sich ergebenden Elektrodensignale ermittelt. Zudem wurde die Auswirkung verschiedener Parameter, die die Zell-Elektroden-Kopplung beeinflussen, auf den sich ergebenden Signalverlauf im Detail beleuchtet. Anhand der Simulationsergebnisse der Modelle VII-X wurde hierbei gezeigt, dass sowohl Form als auch Amplitude des resultierenden Signalverlaufs signifikant von der Position der extrazellulären Messelektrode abhängig sind. Dies ist wiederum darauf zurückzuführen, dass die Verteilung des extrazellulären Potentials, das aus der elektrischen Aktivität des Neurons resultiert, deutlich entlang der Geometrie des Neurons variiert.

Daraus ergibt sich, dass die abgeleiteten Signale in der Nähe des Soma deutlich höhere Amplituden aufweisen als extrazelluläre Ableitungen entlang von Axon und Dendrit. Somit ist die Wahrscheinlichkeit wesentlich höher, Messsignale mit ausreichender Amplitude zu erhalten, wenn sich die Elektrode unterhalb oder in direkter Nähe zum Soma befindet. Des Weiteren konnte anhand der Modelle VII und VIII gezeigt werden, dass die Stärke der Zell-Elektroden-Kopplung einen entscheidenden Einfluss auf die Amplitude des abgeleiteten Signalverlaufs hat. Neben Position und Abstand der Elektrode in Bezug zur Neuronengeometrie ist vor allem die Bedeckung der Elektrodenoberfläche ein essentieller Faktor, der die Amplitude des resultierenden Signals beeinflusst. Es zeigt sich hierbei, dass eine teilweise Bedeckung der Elektrode selbst bei optimaler Positionierung lediglich zu Signalverläufen im einstelligen Mikrovoltbereich führt. Wird jedoch eine zusätzliche Bedeckung, z.B. durch eine Lage aus Gliazellen, angenommen, erhöht sich die Amplitude des Signals um etwa eine Größenordnung und es ergeben sich Signalverläufe, die innerhalb experimenteller Messungen eindeutig nachweisbar sind.

In einer abschließenden Studie wurde mit Hilfe von Modell XI die Auswirkung zweier benachbarter Neuronen demonstriert. Hierbei überlagern sich die extrazellulären Potentiale, die aus der elektrischen Aktivität beider Zellen resultieren. Auf Basis dieser Überlagerung ergeben sich unterschiedliche Verläufe des abgeleiteten Elektrodensignals, deren Signal-



form stark von der Anordnung der beiden Neuronen bzw. deren Somata sowie der extrazellulären Elektrode abhängig ist.

Zusammenfassend zeigen die Ergebnisse dieser Arbeit die verschiedenen Ursachen, die zu unterschiedlichen Signalformen bei der extrazellulären Ableitung neuronaler Zellsignale führen. Das Zusammenspiel der verschiedenen Einflussgrößen liefert eine stimmige Erklärung für die unterschiedlichen Signalformen, die mit Hilfe von MEA-Elektroden gemessen werden können (siehe Abb. 1.1). In diesem Zusammenhang zeigt sich, dass die komplexe dreidimensionale Darstellung sowie die direkte Implementierung der extrazellulären Elektrode in das FEM-Modell entscheidend ist, um sämtliche Parameter berücksichtigen zu können, die für die Ausbildung des abgeleiteten Elektrodensignals relevant sind.

Somit verdeutlichen die Simulationen die hohe Komplexität und die vielen Einflussgrößen dieses Prozesses. Folglich erscheint eine vollständige Erfassung aller möglichen Signalverläufe nicht praktikabel, da die Vielzahl an Variablen und Freiheitsgraden zu einer unüberschaubaren Anzahl an Konstellationen führt. Eine extensive Parameterstudie ist zudem aufgrund der benötigten Rechenzeit, die vor allem bei den detaillierten Modellen IX-XI mehr als 30 Stunden beträgt, zum jetzigen Zeitpunkt nur sehr eingeschränkt möglich.

Stattdessen bietet das in dieser Arbeit entwickelte FEM-Modell die Möglichkeit, experimentelle Messung und Simulation direkt zu kombinieren und gezielt die Kopplung zwischen Neuron und Elektrode innerhalb einer realen Zellkultur nachzubilden. Die daraus resultierende Verknüpfung erlaubt es, die Vorteile mathematischer Modellierung für die Auswertung und Interpretation gemessener Datensätze nutzbar zu machen.

In diesem Zusammenhang kann die modellierte Neuronengeometrie so angepasst werden, dass sie der Form eines spezifischen Neurons innerhalb einer *in vitro*-Kultur entspricht. Hierfür kann z.B. die Form eines kultivierten Neurons mit schichtweisen Mikroskopaufnahmen in ein dreidimensionales Modell umgewandelt und in das Modell integriert werden. Zudem ist es möglich, weitere Daten, wie z.B. die Dichte der Ionenkanäle oder den Adhäsionsabstand, in das Modell zu implementieren oder alternativ durch qualifizierte Annahmen zu ersetzen. Auf diese Weise könnten Simulation und Experiment parallel erfolgen und im Anschluss der simulierte Signalverlauf mit den gemessenen Daten verglichen werden, um dadurch z.B. die vorab lediglich abgeschätzten Parameter zu verifizieren.

Zudem ist es grundsätzlich möglich, die Oberfläche einer extrazellulären Elektrode genauer anzunähern, indem diese z.B. mit Hilfe von Rasterelektronen- oder Rasterkraftmikroskopie vermessen und anschließend in das FEM-Modell überführt wird. Dies würde zwar die notwendige Rechenkapazität merklich erhöhen, ist jedoch bei entsprechender Simulationshardware denkbar.

Darüber hinaus kann das Simulationsmodell problemlos auf andere Neuronentypen angepasst werden, indem die geometrischen und elektrophysiologischen Eigenschaften innerhalb des Modells adaptiert werden. Die Implementierung weiterer Ionenströme bzw. weiterer Ionenkanaltypen, wie z.B. Kalzium- oder kalziumabhängige Kaliumkanäle, würde zudem die Nachbildung von AP-Abfolgen oder Burst-Ereignissen ermöglichen. In diesem Kontext können die Randbedingungen an den Dendritenenden des modellierten Neurons

modifiziert werden und an diesen Stellen eine zeitabhängige Änderung des intrazellulären Potentials implementiert werden. Dies entspräche einer Verknüpfung des FEM-Modells mit einem umgebenden Netzwerk, bei denen an den Dendritenenden ankommende AP als Stimulus für die AP-Generierung der modellierten Zelle dienen. Analog kann diese Form der Stimulation auch zur weiteren Untersuchung von zwei, sich überlagernden Zellsignalen verwendet werden, da dadurch der Zeitversatz in der AP-Generierung beider Zellen in größerem Maß variiert werden kann.

In weiterführenden Schritten kann das FEM-Modell zudem um weitere physikalische Aspekte erweitert werden, um dadurch z.B. die Effekte von elektromagnetischen Feldern, von Ultraschall oder von lokalen Wärmeeinträgen nachzubilden. Dies würde wiederum den Vergleich der Simulationsergebnisse mit entsprechenden experimentellen Daten ermöglichen und dadurch die Analyse und Interpretation der Messdaten vereinfachen bzw. verbessern.

# Literaturverzeichnis

**3Brain 2017:** *BioCam X User Guide*. URL:[http://www.3brain.com/websites/3brain/downloads/BioCAM-X\\_userguide.pdf](http://www.3brain.com/websites/3brain/downloads/BioCAM-X_userguide.pdf) (besucht am 17.12.2017).

**L. F. Abbott, C. van Vreeswijk 1993:** *Asynchronous states in networks of pulse-coupled oscillators*. Phys. Rev. E 48, 1483.

**L. F. Abbott 1999:** *Lapicque's introduction of the integrate-and-fire model neuron (1907)*. Brain Res. Bull. 1999 Nov-Dec;50(5-6):303-4.

**A. Agudelo-Toro, A. Neef 2013:** *Computationally efficient simulation of electrical activity at cell membranes interacting with self-generated and externally imposed electric fields*. J. Neural Eng., 10, 2.

**F. Amzica, M. Steriade 2000:** *Neuronal and glial membrane potentials during sleep and paroxysmal oscillations in the neocortex*. J. Neurosci., 20(17):6648-6665.

**C. A. Anastassiou, R. Perin, H. Markram, C. Koch 2011:** *Ephaptic coupling of cortical neurons*. Nat. Neurosci., 14(2):217-224.

**R. Appali, K. K. Sriperumbudur, U. van Rienen 2015:** *3D axonal network coupled to microelectrode arrays: A simulation model to study neuronal dynamics*. Conf. Proc. IEEE Eng. Med. Biol. Soc. 2015;2015:4700-4.

**G. A. Ascoli, 2006:** *Mobilizing the base of neuroscience data: the case of neuronal morphologies*. Nat. Rev. Neurosci. 7:318-324.

**N. P. Ayache 2004:** *Handbook of Numerical Analysis Volume 12: Computational Models for the Human Body*. Elsevier North Holland, Amsterdam, Holland.

**P. Bauer, S. Mikulovic, S. Engblom, K. E. Leão, F. Rattay, K. N. Leão 2013:** *Finite element analysis of neuronal electric fields: The effect of heterogeneous resistivity*. Ithaca, NY: Cornell University Library.

**M. F. Bear, B.W. Connors, M. A. Paradiso 2008:** *Neurowissenschaften: Ein grundlegendes Lehrbuch für Biologie, Medizin und Psychologie.*, Heidelberg, Spektrum akademischer Verlag, 3. Auflage.

**A. L. Benabid 2003:** *Deep brain stimulation for Parkinson's disease*. Curr. Opin. Neurobiol., 13(6):696-706.

**A. Bondeson, T. Rylander, P. Ingelström 2000:** *Computational electromagnetics*. Springer Science+Business Media, New York, USA.

**P. Boon, K. Vonck, V. De Herdt, A. Van Dycke, M. Goethals, L. Goossens, M. Van Zandijcke, T. De Smedt, I. Dewaele, R. Achten, W. Wadman, F. Dewaele, J. Caemaert, D. Van Roost 2007:** *Deep brain stimulation in patients with refractory temporal lobe epilepsy*. Epilepsia, 48:1551-1560.

**C. Bernard, D. Johnston 2003:** *Distance-dependent modifiable threshold for action potential back-propagation in hippocampal dendrites*. J. Neurophysiol., 90:1807-1816.

- W. A. Botero, A. H. Salas, S. J. Gonzalez Colorado 2013:** *The Hodgkin-Huxley neuron model on the fast phase plane.* Int. J. Phys. Sci., 8(20):1049-1057.
- D. Braun, P. Fromherz 1998:** *Fluorescence interferometry of neuronal cell adhesion on microstructured silicon.* Phys. Rev. Lett., 81, 5241–5244.
- J. R. Buitenweg, W. L. C. Rutten, W.P.A. Willems, J. W. van Nieuwkastele 1998:** *Measurement of sealing resistance of cell-electrode interfaces in neuronal cultures using impedance spectroscopy.* Med. Biol. Eng. Comput., 36, 630-637.
- M. B. Bunge, R. P. Bunge, H. Ris 1961:** *Ultrastructural study of remyelination in an experimental lesion in adult cat spinal cord.* J. Biophys. Biochem. Cytol., 10(1):67-94.
- Y. Buskila, J. W. Morley, J. Tapsoni, A. van Schaik 2013:** *The adaptation of spike backpropagation delays in cortical neurons.* Front. Cell. Neurosci., 7, 192.
- N. T. Carnevale, M. L. Hines 2006:** *The NEURON book.* Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- R. A. Chapman 1967:** *Dependence on temperature of the conduction velocity of the action potential of the squid giant axon.* Nature 213, 1143–1144.
- S. F. Cogan 2008:** *Neural stimulation and recording electrodes.* Annu. Rev. Biomed. Eng., 10:275-309.
- C. A. Collins, E. Rojas 1982:** *Temperature dependence of the sodium channel gating kinetics in the node of Ranvier.* Q. J. Exp. Physiol., 67(1):41-55.
- COMSOL Multiphysics 2012a:** *COMSOL Multiphysics User's Guide Version 4.3.*  
URL:<http://people.ee.ethz.ch/~fieldcom/pps-comsol/documents/User%20Guide/COMSOLMultiphysicsUsersGuide.pdf> (besucht am 14.12.2017).
- COMSOL Multiphysics 2012b:** *COMSOL Multiphysics Reference Guide Version 4.3.*  
URL:<http://www.lmn.pub.ro/~daniel/ElectromagneticModelingDoctoral/Books/COMSOL4.3/mp3/COMSOLMultiphysicsReferenceGuide.pdf> (besucht am 22.02.2018).
- B. W. Connors, M. J. Gutnick, D. A. Prince 1982:** *Electrophysiological properties of neocortical neurons in vitro.* J. Neurophysiol., 48(6):1302-1320.
- W. Dahmen, A. Reusken 2008:** *Numerik für Ingenieure und Naturwissenschaftler.* 2. Auflage, Springer, Berlin.
- P. Dayan, L. F. Abbott 2001:** *Theoretical neuroscience: Computational and mathematical modelling of neural systems.* Cambridge, MA: MIT Press.
- D. Debanne, E. Campanac, A. Bialowas, E. Carlier, G. Alcaraz 2011:** *Axon physiology.* Physiol. Rev. 91:555–602.
- A. Delorme, s. Makeig, M. Fabre-Thorpe, T. Sejnowski 2002:** *From single-trials EEG to brain area dynamics.* Neurocomputing,44-46:1057-64.
- W. Dement, N. Kleitman 1957:** *Cyclic variations in EEG during sleep and their relation to eye movements, body motility, and dreaming.* Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol., 9(4):673-690.

- P. Deuffhard, F. Bornemann 2012:** *Scientific Computing with Ordinary Differential Equations*. Springer Science+Business Media, New York, USA.
- S. Doi, J. Inoue, Z. Pan, K. Tsumoto 2010:** *Computational Electrophysiology*. Springer Science+Business Media, Tokyo, Japan.
- J. E. Dowling 2001:** *Neurons and Networks: An Introduction to Behavioral Neuroscience*. Harvard University Press, Cambridge MA, USA.
- B. J. Dworak, B. Wheeler 2009:** *Novel MEA platform with PDMS microtunnels enables detection of action potential propagation from isolated axons in culture*. *Lab Chip*, 7; 9(3):404–410.
- G. T. Einevoll, C. Kayser, N. K. Logothetis, S. Panzeri 2013:** *Modelling and analysis of local field potentials for studying the function of cortical circuits*. *Nat. Rev. Neurosci.*, 14, 770–785.
- A. K. Engel, C. K. E. Moll, I. Fried, G. A. Ojemann 2005:** *Invasive recordings from the human brain: clinical insights and beyond*. *Nat. Rev. Neurosci.*, 6:35–47.
- M. Fejtl, A. Stett, W. Nisch, K. H. Boyen, A. Möller 2006:** *On Micro-Electrode Array revival: Its development, sophistication of recording, and stimulation*. In: M. Taketani, M. Baudry (eds) *Advances in Network Electrophysiology*. Springer, Boston MA, USA.
- D. Feldmeyer, J. Lübke, R. A. Silver, B. Sakmann 2002:** *Synaptic connections between layer 4 spiny neurone–layer 2/3 pyramidal cell pairs in juvenile rat barrel cortex: physiology and anatomy of interlaminar signalling within a cortical column*. *J. Physiol.*, 538.3:803–822.
- J. Flehr 2007:** *Simulation des extrazellulären elektrischen Feldes von Nervenzellen während eines Aktionspotentials*. Logos Verlag, Berlin.
- J. F. Fohlmeister 2015:** *Voltage gating by molecular subunits of  $\text{Na}^+$  and  $\text{K}^+$  ion channels: higher-dimensional cubic kinetics, rate constants, and temperature*. *J. Neurophysiol.* 113:3759–3777.
- N. Fourcaud-Trocme, D. Hansel, C. van Vreeswijk, N. Brunel 2003:** *How Spike generation mechanisms determine the neuronal response to fluctuating inputs*. *J. Neurosci.*, 23(37):11628–11640.
- L. Formaggia, F. Saleri, A. Veneziani 2012:** *Solving Numerical PDEs: Problems, Applications, Exercises*. Springer Science+Business Media, Mailand, Italien.
- A. Forster, E. Hendryx, A. Murillo, M. Salas, E. J. Morales-Butler, S. Suslov, M. Herrera-Valdez 2010:** *Extensions of the cable equation incorporating spatial dependent variations in nerve cell diameter*. Tempe: College of Liberal Arts and Sciences, Arizona State University.
- J. J. Fox, G. T. Buzzard, R. Miller, F. Siso-Nadal 2007:** *Massively parallel simulation of cardiac electrical wave propagation on blue gene*. *Parallel Comput.*, 38, 609–616.
- M. J. Frank, J. Samanta, A. A. Moustafa, S. J. Sherman 2007:** *Hold your horses: Impulsivity, deep brain stimulation and medication in Parkinsonism*. *Science*, 318:1309–1312.
- B. Frankenhäuser, L. E. Moore 1963:** *The effect of temperature on the sodium and potassium permeability changes in myelinated nerve fibres of *Xenopus Laevis**. *J. Physiol.*, 169:431–437.

- D. N. Franz, A. Iggo 1968:** *Conduction failure in myelinated and non-myelinated axons at low temperatures.* J. Physiol., 199:319-345.
- R. Gerwig, K. Fuchsberger, B. Schroepel, G. S. Link, G. Heusel, U. Kraushaar, W. Schuhmann, A. Stett, M. Stelzle 2012:** *PEDOT-CNT composite microelectrodes for recording and electrostimulation applications: fabrication, morphology, and electrical properties.* Front. Neuroeng., 5:8.
- C. Gold, D. A. Henze, C. Koch, G. Buzsáki 2006:** *On the origin of the extracellular action potential waveform: A modeling study.* J. Neurophysiol., 95, 3113–3128.
- G. González-Burgos, G. Barrionuevo, D. A. Lewis 2000:** *Horizontal synaptic connections in monkey prefrontal cortex: An in vitro electrophysiological study.* Cereb. Cortex, 10, 80-92.
- S. Grein, M. Stepniewski, S. Reiter, M. M. Knodel, G. Queisser 2014:** *1D-3D hybrid modelling-from multi-compartmentmodels to full resolutionmodels in space and time.* Front. Neuroinform., 8, 68.
- D. Göddeke 2010:** *Fast and accurate Finite-Element multigrid solvers for PDE simulations on GPU clusters.* Dissertation, Fakultät Mathematik, Technische Universität Dortmund.
- M. Herrera-Valdez, S. Suslov 2010:** *A graphical approach to a model of neuronal tree with variable diameter.* Ithaca, NY: Cornell University Library.
- M. L. Hines, N. T. Carnevale 1997:** *The neuron simulation environment.* Neural Comput., 9, 1179–1209.
- A. L. Hodgkin, A. F. Huxley 1952:** *A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve.* J. Physiol., 117, 500–544.
- J. D. Hoffman, S. Frankel 2001:** *Numerical methods for engineers and scientists, Second Edition.* CRC Press, New York, USA.
- G. R. Holt, C. Koch 1999:** *Electrical interactions via the extracellular potential near cell bodies.* J. Comput. Neurosci., 6, 169–184.
- H. Hu, P. Jonas 2014:** *A supercritical density of fast  $Na^+$  channels ensures rapid propagation of action potentials in GABAergic interneuron axons.* Nat. Neurosci., 17(5):686–693.
- E. M. Izhikevich 2003:** *Simple model of spiking neurons.* IEEE Trans. Neural. Netw. 14:1569-72.
- E. M. Izhikevich 2007:** *Dynamical systems in neuroscience.* Cambridge, MA: MIT Press.
- S. Joucla, A. Glière, B. Yvert 2014:** *Current approaches to model extracellular electrical neural microstimulation.* Front. Comput. Neurosci., 9, 13.
- E. R. Kandel 2013:** *Principles of neural science, Fifth Edition.* McGraw Hill Professional, New York, USA.
- J. Keener, J. Sneyd 1998:** *Mathematical Physiology.* Springer, New York, USA.

- R. A. Koene, B. Tijms, P. van Hees, F. Postma, A. de Ridder, G. J. A. Ramakers, J. van Pelt, A. van Ooyen 2009:** *NETMORPH: A framework for the stochastic generation of large scale neuronal networks with realistic neuron morphologies.* Neuroinform., 7:195–210.
- H. C. Lai, L. Y. Jan 2006:** *The distribution and targeting of neuronal voltage-gated ion channels.* Nat. Rev. Neurosci., 7(7):548-62.
- A. Larkman, A. Mason 1990:** *Correlations between morphology and electrophysiology of pyramidal neurons in slices of rat visual cortex. I. establishment of cell classes.* Neurosci., 10, 1407–1414.
- L.L.N.L. SUNDIALS 2017:** *User Documentation for IDA v3.0.0 (SUNDIALS v3.0.0).* Dokument des Lawrence Livermore National Laboratory URL:[https://computation.llnl.gov/sites/default/files/public/ida\\_guide.pdf](https://computation.llnl.gov/sites/default/files/public/ida_guide.pdf) (besucht am 22.03.2018).
- M. K. Lewandowska, D. J. Bakkum, S. B. Rompani, A. Hierlemann 2015:** *Recording large extracellular spikes in microchannels along many axonal sites from individual neurons.* PLoS ONE, 10(3): e0118514.
- F. Lieb, H. G. Stark, C. Thielemann 2017:** *A stationary wavelet transform and a time-frequency based spike detection algorithm for extracellular recorded data.* J. Neural Eng. 14(3).
- K. A. Lindsay, J. R. Rosenberg, G. Tucker 2004:** *From Maxwell's equations to the cable equation and beyond.* Prog. Biophys. Mol. Biol., 85, 71–116.
- T. Loddenkemper, A. Pan, S. Neme, K. B. Baker, A. R. Rezai, D. S. Dinner, E. B. Jr. Montgomery, H. O. Lüders 2001:** *Deep brain stimulation in Epilepsy.* J. Clin. Neurophysiol., 18(6):514-532.
- A. Logg, K.-A. Mardal, G. Wells 2012:** *Automated solution of differential equations by the Finite Element Method: The FEniCS Book.* Springer Science+Business Media, Berlin.
- A. Longstaff 2005:** *Neuroscience.* Garland Science, New York, USA.
- Z. F. Mainen, T. J. Sejnowski 1996:** *Influence of dendritic structure on firing pattern in model neocortical neurons.* Garland Science, Nature 382:363–366.
- C. A. Maldonado, B. D. Wooley, J. J. Pancrazio 2015:** *The excitatory effect of temperature on the Hodgkin-Huxley model.* Impulse: The Premier Undergraduate Neuroscience Journal.
- S. Martinoia, P. Massobrio, M. Bove, G. Massobrio 2004:** *Cultured neurons coupled to microelectrode arrays: circuit models, simulations and experimental data.* IEEE Trans. Biomed. Eng. 51.5.
- J. Martinez, C. Pedreira, M. J. Ison, R. Q. Quiroga 2009:** *Realistic simulation of extracellular recordings.* J. Neurosci. Methods, 184, 285-293.
- P. Massobrio, G. Massobrio, S. Martinoia 2016:** *Interfacing cultured neurons to microtransducers arrays: A review of the neuro-electronic junction models.* Front Neurosci., 10:282.
- D. R. Matteson, C. M. Armstrong 1982:** *Evidence for a population of sleepy sodium channels in squid axon at low temperature.* J. Gen. Physiol., 79:739-758.

- M. Mayer 2017:** *Einfluss ionisierender Strahlung auf die elektrophysiologischen Eigenschaften sich entwickelnder neuronaler Netzwerke*. Dissertation, Fachbereich Biologie, Technische Universität Darmstadt.
- C. C. McIntyre, A. G. Richardson, W. M. Grill 2002:** *Modeling the excitability of mammalian nerve fibers: Influence of afterpotentials on the recovery cycle*. Neurophysiol., 87:995–1006.
- N. L. Mitra 1955:** *Quantitative analysis of cell types in mammalian neo-cortex*. J Anat., 89:467–483.
- M. Montal, P. Mueller 1972:** *Formation of bimolecular membranes from lipid monolayers and a study of their electrical properties*. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 69(12):3561-3566.
- C. Moulin, A. Gliere, D. Barbie, S. Joucla, B. Yvert, P. Mailley, R. Guillemaudi 2008:** *A new 3-D finite-element model based on thin-Film approximation for microelectrode array recording of extracellular action potential*. IEEE Trans. Bio. Med. Eng., 55, 2.
- G. Moruzzi, H. W. Magoun 1949:** *Brain stem reticular formation and activation of the EEG*. Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol., 1(4):455-473.
- Multichannel Systems 2017a:** *MEA Manual*. URL:[https://www.multichannelsystems.com/sites/multichannelsystems.com/files/documents/manuals/MEA\\_Manual.pdf](https://www.multichannelsystems.com/sites/multichannelsystems.com/files/documents/manuals/MEA_Manual.pdf) (besucht am 18.12.2017)
- Multichannel Systems 2017b:** *Datasheet 60Standard MEA*. URL:[https://www.multichannelsystems.com/sites/multichannelsystems.com/files/60StandardMEA\\_Layout.pdf](https://www.multichannelsystems.com/sites/multichannelsystems.com/files/60StandardMEA_Layout.pdf) (besucht am 18.12.2017)
- J. Nagumo, S. Arimoto, S. Yoshizawa 1962:** *An active pulse transmission line simulating nerve axon*. Proc. IRE 50:2061–2070.
- Y. Nam, B. C. Wheeler 2011:** *In vitro Microelectrode Array technology and neural recordings*. Crit. Rev. Biomed. Eng., 39(1):45–62.
- F.H. Netter 1987:** *Farbatlant der Medizin: Nervensystem; 1. Neuroanatomie und Physiologie*. Thieme Verlag, Stuttgart.
- C. Nick 2015:** *Mikrointegrierte Nanostrukturen mit hohem Aspektverhältnis als neuronale Schnittstelle*. Dissertation, Fachbereich Elektrotechnik und Informationstechnik, Technische Universität Darmstadt.
- C. Nick, H. F. Schlaak, C. Thielemann 2017:** *PEDOT:PSS coated gold nanopillar microelectrodes with ultralow impedance for neural interfaces*. Int. J. Nanomanuf., 13, 2.
- M. E. Obien, K. Deligkaris, T. Bullmann, D. J. Bakkum, U. Frey 2015:** *Revealing neuronal function through microelectrode array recordings*. Front. Neurosci., 8, 423.
- S. L. Palay, C. Sotelo, A. Peters, P. M. Orkand 1968:** *The axon hillock and the initial segment*. J. Cell Biol., 38, 193–201.
- A. Peters, C. C. Proskauer, I. R. Kaiserman-Abramof 1969:** *The small pyramidal neuron of the rat cerebral cortex*. Zeitschrift für Zellforschung und Mikroskopische Anatomie, 100(4), 487–506.



- R. Plonsey, R. C. Barr 2007:** *Bioelectricity: A Quantitative Approach*. Springer, New York, USA.
- J. Pods, J. Schönke, P. Bastian 2013:** *Electrodiffusion models of neurons and extracellular space using the Poisson-Nernst-Planck equations-numerical simulation of the intra and extracellular potential for an axon model*. *Biophys. J.*, 105, 242–254.
- M. Pospischil, M. Toledo-Rodriguez, C. Monier, Z. Piwkowska, T. Bal, H. Markram, A. Destexhe 2008:** *Minimal Hodgkin-Huxley type models for different classes of cortical and thalamic neurons*. *Biol. Cybern.*, 99:427–441.
- Z. Qu, J. Kil, F. Xie, A. Garfinkel, J. N. Weiss 2000:** *Scroll wave dynamics in a three-dimensional cardiac tissue model: Roles of restitution, thickness, and fiber rotation*. *Biophys. J.*, 78, 2761–2775.
- W. Rall 1962:** *Electrophysiology of a dendritic neuron model*. *Biophys. J.*, 2, 145–167.
- M. Rapp, Y. Yarom, I. Segev 1996:** *Modeling back propagating action potential in weakly excitable dendrites of neocortical pyramidal cells*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 93, 11985–11990.
- F. Rattay 1990:** *Electrical Nerve Stimulation: Theory, Experiments and Applications*. Springer, Wien, Österreich.
- D. A. Robinson 1968:** *The electrical properties of metal microelectrodes*. *Proc. IEEE* 56, 1065–1071.
- D. Ropireddy, R. Scorcioni, B. Lasher, G. Buszaki, G. A. Ascoli 2011:** *Axonal morphometry of hippocampal pyramidal neurons semi-automatically reconstructed after in vivo labelling in different CA3 locations*. *rain Struct. Funct.*, 216:1–15.
- T. Rylander, P. Ingelström, A. Bondeson 2013:** *Computational Electromagnetics*. Springer Science+Business Media, New York, USA.
- H. A. Sackheim, A. J. Rush, M. S. George, L. B. Marangell, M. M. Husain, Z. Nahas, C. R. Johnson, S. Seidmann, C. Giller, S. Haines, R. K. Simpson, R. R. Goodman 2001:** *Vagus nerve stimulation (VNS™) for treatment-resistant depression: Efficacy, side effects, and predictors of outcome*. *Neuropsychopharmacology*, 25(5):713-728.
- J. C. Sanchez, A. Gunduz, P. R. Carney, J. C. Principe 2008:** *Extraction and localization of mesoscopic motor control signals for human ECoG neuroprosthetics*. *J. Neurosci. Methods*, 167:63–81.
- M. Scanziani, M. Häusser 2009:** *Electrophysiology in the age of light*. *Nature*, 461(7266):930-939.
- S. C. Schachter, C. B. Saper 1998:** *Vagus nerve stimulation*. *Epilepsia*, 39(7):677-686.
- O. Schenk, K. Gärtner 2004:** *Solving unsymmetric sparse systems of linear equations with PARDISO*. *Future Gener. Comput. Syst.*, 20(3):475-487.
- T. E. Schlaepfer, M. X. Cohen, C. Frick, M. Kosel, D. Brodessa, N. Axmacher, A. Young Joe, M. Kreft, D. Lenartz, V. Sturm 2007:** *Deep brain stimulation to reward circuitry alleviates anhedonia in refractory major depression*. *Neuropsychopharmacology*, 33:368–377.

- U. Schreiber, J. Flehr, V. Motrescu, U. van Rienen 2004:** *The electro-quasistatic model in different applications*. In: W.H.A. Schilders, E.J.W. ter Maten, S.H.M.J. Houben (eds) Scientific Computing in Electrical Engineering. Mathematics in Industry, vol 4. Springer, Berlin.
- N. Spruston, G. Stuart, M. Häusser 2016:** *Dendrites, Third edition*. Oxford University Press, Oxford, UK.
- D. Sterratt, B. Graham, A. Gillies, D. Willshaw 2011:** *Principles of Computational Modelling in Neuroscience*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- A. Siegel, H. N. Saprú 2010:** *Essential Neuroscience*. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia PA, USA
- P. H. Smith, E. L. Bartlett, A. Kowalkowski 2006:** *Unique combination of anatomy and physiology in cells of the rat paralamina thalamic nuclei adjacent to the medial geniculate body*. J. Comp. Neurol. 2006 May 20; 496(3): 314–334.
- R. B. Stein 1967:** *Some models of neuronal variability*. Biophys. J., 7(1):37–68.
- G. Stuart, N. Spruston, B. Sakmann, M. Häusser 1997:** *Action potential initiation and backpropagation in neurons of the mammalian CNS*. Trends Neurosci., 20, 125–131.
- J. W. Thomas 1995:** *Numerical Partial Differential Equations: Finite Difference Methods*. Springer Science+Business Media, New York, USA.
- A. J. Trevelyan, J. Jack 2002:** *Detailed passive cable models of layer 2/3 pyramidal cells in rat visual cortex at different temperatures*. J. Physiol., 539, 623–636.
- W. Truccolo, J. A. Donoghue, L. R. Hochberg, E. N. Eskandar, J. R. Madsen, W. S. Anderson, E. N. Brown, E. Halgren, S. S. Cash 2011:** *Single-neuron dynamics in human focal epilepsy*. Nat. Neurosci., 14(5):635–641.
- A. Tveito, K. H. Jaeger, G. T. Lines, L. Paszkowski, J. Sundnes, A. G. Edwards, G. T. Einevoll 2017:** *An evaluation of the accuracy of classical models for computing the membrane potential and extracellular potential for neurons*. Front. Comput. Neurosci., 11, 27.
- U. van Rienen 2001:** *Numerical methods in computational electrodynamics: linear systems in practical applications*. Springer, Berlin.
- U. van Rienen, J. Flehr, U. Schreiber, V. Motrescu 2003:** *Modeling and simulation of electro-quasistatic fields*. International Series of Numerical Mathematics, 146, 17–31.
- K. Witt, C. Daniels, J. Reiff, P. Krack, J. Volkmann, M. O. Pinsker, M. Krause, V. Tronnier, M. Kloss, A. Schnitzler, L. Wojtecki, K. Bötzel, A. Danek, R. Hilker, V. Sturm, A. Kupsch, E. Karner, G. Deuschl 2008:** *Neuropsychological and psychiatric changes after deep brain stimulation for Parkinson's disease: a randomised, multicentre study*. Lancet Neurol. 2008, 7:605–614.
- K. Xylouris, G. Queisser, G. Wittum 2010:** *A three-dimensional mathematical model of active signal processing in axons*. Comput. Visual Sci. 13:409–418.
- K. Xylouris, G. Wittum 2015:** *A three-dimensional mathematical model for the signal propagation on a neuron's membrane*. Front. Comput. Neurosci., 9, 94.

**Y. Yu, A. P. Hill, D. A. McCormick 2012:** *Warm body temperature facilitates energy efficient cortical action potentials.* PLoS Comput. Biol., 8(4), e1002456.

**S. Zeng 2005:** *Spatial distribution and function of ion channels on neural axon.* Dissertation, Department of Physics and Astronomy, College of Arts and Sciences of Ohio University.

**Y. Zhang, K. Wang, Y. Yuan, D. Sui, H. Zhang 2014:** *Effects of maximal sodium and potassium conductance on the stability of Hodgkin-Huxley Model.* Comput. Math. Methods Med. 2014:761907.

**D. G. Zill 2016:** *Advanced Engineering Mathematics.* 6. Auflage, Jones & Bartlett Publishers, Sudbury MA, USA.

## Selbstständigkeitserklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Titel *Simulation neuronaler Aktionspotentiale in Hinblick auf Zellform und Physiologie sowie deren Ableitung mittels extrazellulärer Mikroelektroden* selbstständig und ohne fremde Hilfe und nur unter Verwendung der von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel verfasst habe.

Aschaffenburg, den 24.04.2018

Robert Bestel

# Thesen

zur Dissertation

## **Simulation neuronaler Aktionspotentiale in Hinblick auf Zellform und Physiologie sowie deren Ableitung mittels extrazellulärer Mikroelektroden**

von Robert Bestel

### **These 1**

Die Datenanalyse von Messungen der elektrischen Aktivität neuronaler *in vitro* Kulturen wird stark durch unterschiedliche Signalformen beeinträchtigt, die aus der extrazellulären Ableitung der erzeugten Zellsignale resultieren. Hierbei erschweren die verschiedenen Formen eine fehlerfreie Erkennung der Zellsignale sowie die Abgrenzung neuronaler Signale gegenüber im Messsignal auftretenden Rauschartefakten.

### **These 2**

Die Form des abgeleiteten Elektrodensignals ist zum einen von den geometrischen und elektrophysiologischen Eigenschaften des gemessenen Neurons, zum anderen von der elektrischen Kopplung zwischen Neuron und Elektrode abhängig.

### **These 3**

Um den Einfluss von Zellgeometrie, Zellelektrophysiologie sowie der Zell-Elektroden-Kopplung auf das abgeleitete Elektrodensignal eingehender untersuchen zu können, ist die Nachbildung des Prozesses innerhalb eines detaillierten Finite-Elemente-Methode-Modells ideal, da es eine parametrische Analyse der einzelnen Einflussgrößen ermöglicht.

### **These 4**

Die aus der elektrischen Aktivität eines Neurons resultierenden Potentiale im intra- und extrazellulären Raum können mit Hilfe eines elektro-quasistatischen-Differentialgleichungsmodells nachgebildet werden. Dieser Ansatz liefert vergleichbare Ergebnisse wie der gewöhnlich verwendete Ansatz auf Basis der Kabelgleichung, seine Anwendung ist jedoch im Gegensatz dazu nicht auf rotationssymmetrische Geometrien beschränkt.

### **These 5**

Das im Rahmen einer extrazellulären Messung der elektrischen Aktivität einer *in vitro* Zellkultur abgeleitete Elektrodensignal ist eine direkte Konsequenz aus der Verteilung des extrazellulären Potentials im Umkreis der Messelektrode.

## These 6

Die Verteilung des extrazellulären Potentials ist das Resultat der Transmembranströme, die während der elektrischen Aktivität des Neurons erzeugt werden und resultiert wiederum aus dem Öffnungs- und Schließverhalten der verschiedenen Ionenkanäle in der Zellmembran.

## These 7

Neben der lokalen Verteilung der Ionenkanäle ist deren zugrundeliegende Ionenkanalkinetik, d.h. das zeit- und spannungsabhängige Öffnen und Schließen der verschiedenen Ionenkanäle entscheidend für die Form des erzeugten Aktionspotentials sowie für dessen Ausbreitungsgeschwindigkeit innerhalb der Neuronengeometrie. Eine schnellere Ausbreitungsgeschwindigkeit bedingt hierbei höhere Transmembranströme, da die lokale Generierung des Aktionspotentials schneller erfolgen muss. Als Folge dessen erhöht sich die Amplitude des extrazellulären Potentials bei schnellerer AP-Ausbreitung.

## These 8

In Bereichen des Neurons, die eine Inhomogenität in der Ionenkanaldichte entlang der Zellmembran aufweisen, verändert der entsprechende Gradient das Öffnungs- und Schließverhalten der Ionenkanäle. Dies führt zu veränderten Transmembranströmen während der lokalen Generierung des Aktionspotentials und beeinflusst dadurch signifikant die Verteilung des extrazellulären Potentials in diesem Bereich.

## These 9

Ortsabhängige Änderungen des Verhältnisses zwischen dem intrazellulären Volumen und der Oberfläche der umgebenden Zellmembran führen ebenfalls zu einem veränderten Verhalten der lokalen Ionenkanäle. Dadurch ergeben sich wiederum deutlich veränderte Potentialverteilungen im angrenzenden extrazellulären Raum.

## These 10

Durch den Einfluss der neuronalen Geometrie auf die lokale Ionenkanalkinetik ergeben sich deutlich höhere extrazelluläre Potentiale im Bereich des Soma der Zelle. Somit ist die Amplitude des abgeleiteten Elektrodensignals in diesem Bereich signifikant höher als entlang der Neurite der Zelle. Aufgrund der sich ausbildenden extrazellulären Potentialverteilung ist zudem die Form des abgeleiteten Signals signifikant von der Position der Messelektrode in Bezug zum Soma abhängig.

## These 11

Unter Berücksichtigung der unterschiedlichen elektrischen Eigenschaften sind die Ergebnisse des Modells auf Basis einer *in vitro* Umgebung auf die Situation *in vivo* grundsätzlich übertragbar.

# Wissenschaftlicher Werdegang

**Persönliche Daten** Robert Richard Bestel  
geb. 09. März 1984 in Cottbus

**Adresse** Bayernstraße 10  
63739 Aschaffenburg

**E-Mail** robert.bestel@mailbox.org



## Studium

- 2013–2018 Externer Doktorand an der Universität Rostock,  
Fakultät für Informatik und Elektrotechnik  
Kollegiat im Graduiertenkolleg 1505 *welisa*
- 2010–2011 Masterstudium der Elektro- und Informationstechnik an der  
Hochschule für Angewandte Wissenschaften Aschaffenburg.  
Abschluss mit Gesamtnote 1,4. Thema der Masterarbeit:  
*Implementierung elaborierter Algorithmen zur  
neuronalen Signalverarbeitung*
- 2006–2010 Bachelorstudium des Wirtschaftsingenieurwesens an der  
Hochschule für Angewandte Wissenschaften Aschaffenburg.  
Abschluss mit Gesamtnote 2,3. Thema der Bachelorarbeit:  
*Signalverarbeitung für zellbasierte Biosensoren*
- 2004–2006 Besuch der Fachoberschule Ingolstadt.  
Abschluss mit Gesamtnote 2,4

## Berufliche Tätigkeiten und Auslandsaufenthalte

- 2010–2017 Wissenschaftlicher Mitarbeiter im BioMEMS-Labor, Fakultät  
Ingenieurwissenschaften, Hochschule für Angewandte  
Wissenschaften Aschaffenburg. Arbeitsschwerpunkt im  
Bereich der neuronalen Signalverarbeitung und der  
Modellierung und Simulation neuronaler Zellen.
- 2008–2009 20 wöchiges Praktikum im Bereich Qualitätsmanagement  
und Produktion, Continental AG, Ingolstadt
- 2004–2006 Freiwillig verlängerter Grundwehrdienst als Flugbetriebsoldat  
im Taktischen Luftwaffengeschwader 74 in Neuburg a.d. Donau
- 2013, 2014 Jeweils mehrwöchiger Forschungsaufenthalt im Rahmen des  
von BAYLAT/FAPESP geförderten Projekts Cortical Networks  
an der Universität São Paulo, Campus São Carlos, Brasilien

## Veröffentlichungen und Fachvorträge

### Veröffentlichungen

---

- 2017 **R. Bestel, R. Appali, C. Thielemann, U. van Rienen 2017:** *Effect of morphologic features of neurons on the extracellular electric potential: A simulation study using cable theory and electro-quasi-static Equations.* Neural Comput. 29, 2955–2978.
- 2013 **C. Nick, M. Goldhammer, R. Bestel, F. Steger, A.W. Daus and C. Thielemann 2013:** *DrCell – A software tool for the analysis of cell signals recorded with extracellular microelectrodes.* Signal Processing: An International Journal (SPIJ) 7(2), 96-109.
- 2012 **R. Bestel, A. W. Daus and C. Thielemann 2012:** *A novel automated spike sorting algorithm with adaptable feature extraction.* J. Neurosci. Methods, 211(1):168–178.
- 

### Konferenzbeiträge

---

- 2014 **M. Stern, C. Nick, R. Bestel and C. Thielemann 2014:** *A Novel LabVIEW based multi-channel closed-loop stimulator.* 9th International Meeting on Substrate-Integrated Micro-electrode Arrays, Reutlingen, 2014.
- 2014 **A. Daus, R. Bestel and C. Thielemann 2014:** *A multivariate spike-detection algorithm to assess activity patterns of three-dimensional in vitro models.* 9th International Meeting on Substrate-Integrated Micro-electrode Arrays, Reutlingen, 2014.
- 2013 **C. Nick, R. Bestel, F. Steger and C. Thielemann 2013:** *Spike detection, sorting and propagation of cell signals recorded with extracellular microelectrodes.* Engineering in Medicine and Biology Society. IEMBS'13. 35th Annual International Conference of the IEEE, 2013.
- 2011 **A. Daus, R. Bestel and C. Thielemann 2011:** *Spike detection, refinement and Interpretation of recordings in three-dimensional in vitro systems.* RMSC, Beijing, China, 2011.
-