

Doktori (PhD) értekezés tézisei

**Dynamic Causal Modelling alapú neurális modellkereső
algoritmusok karakterizálása, és alkalmazása klinikai és
preklinikai kutatásokban**

Aranyi Sándor Csaba

Témavezető: Dr. Emri Miklós



DEBRECENI EGYETEM

Molekuláris Orvostudomány Doktori Iskola

Debrecen, 2022

Dynamic Causal Modelling alapú neurális modellkereső algoritmusok karakterizálása, és alkalmazása klinikai és preklinikai kutatásokban

Értekezés a doktori (PhD) fokozat megszerzése érdekében
a elméleti orvostudományok tudományágban

Írta: Aranyi Sándor Csaba okleveles programtervező informatikus

Készült a Debreceni Egyetem Molekuláris Orvostudomány Doktori Iskolája
(Élettan és neurobiológia programja) keretében

Témavezető: Dr. Emri Miklós, PhD

A doktori szigorlati bizottság:

elnök: Prof. Dr. Csernoch László, az MTA doktora
tagok: Kormosné Dr. Goda Katalin Klára, PhD
Prof. Dr. Bogner Péter, PhD

A doktori szigorlat időpontja: DE ÁOK, Nukleáris Medicina Intézet, 107,
2022. július 19. 11:00

Az értekezés bírálói:

Prof. Dr. Hajdú András, az MTA doktora
Dr. Kozák Lajos Rudolf, PhD

A bírálóbizottság:

elnök: Prof. Dr. Csernoch László, az MTA doktora
tagok: Prof. Dr. Hajdú András, az MTA doktora
Dr. Kozák Lajos Rudolf, PhD
Kormosné Dr. Goda Katalin Klára, PhD
Prof. Dr. Bogner Péter, PhD

Az értekezés védésének időpontja: DE ÁOK, Nukleáris Medicina Intézet, 107,
2022. július 19. 13:00

A nyilvánosságot online módon biztosítjuk. Amennyiben a vitán részt kíván venni, úgy jelezze az aranyi.csaba@med.unideb.hu e-mail címre küldött üzenettel, a vitát megelőző nap (2022. július 18.) 14 óráig. A határidő lejártát követően technikai okokból nincs lehetőség a védéshez kapcsolódni.

1. A doktori értekezés előzményei és célkitűzései

A neurális képalkotás fejlődésével az agy kutatással foglalkozó tudományterületek egyre összetettebb módszereket dolgoztak ki agyi funkciók megfigyelésére és vizsgálatára. Funkcionális agyi felvételekből származó adatok elemzésén túl felmerült annak az igénye is, hogy megértsük, miként keletkeznek a funkcionális neurális képalkotásból származó adatok az agy neurális ingerlésre adott válasza alapján, illetve az agy különböző területei együttműködve egymással hogyan dolgozzák fel a kapott információt. A kiváltott válasz több, anatómiailag elkülöníthető területet érint az agyban. Ezen “funkcionális szegregáció” ellenére az idegi folyamatok feldolgozása jóval összetettebb az egyes területek szinkronban történő munkavégzésénél. Az agyi régiók együttműködéséhez kommunikációra van szükség, melynek során a feldolgozott információ optimális módon jut a többi régióhoz a megfelelő viselkedés eléréséhez. Ezt hívjuk “funkcionális integrációnak”.

Nem-invazív funkcionális mágneses rezonanciás felvételekkel (fMRI) jól mérhető az eltérés a mágneses mező homogenitásában az oxi- és a dezoxi-hemoglobin között. A vér deoxigenálódását tekinthetjük a aktivitás indirekt mutatójának. A metabolikusan aktívabb agyi területek megemelkedett vér szükséglete akár 2-4% intenzitás változást is okozhat a képi felvételeken, ami feltehetően 4-8 másodperccel a neurális intenzitásemelkedést követően tetőzik. Napjainkban a klinikumban használt funkcionális MR szekvenciák lehetővé teszik, hogy 2-3 másodperc repetíciós idővel (TR) mintavételezzük a teljes koponya térfogatot. Ennek eredményeként időben változó vér-oxigén szint függő (blood oxygen level dependen – BOLD) jeleket nyerhetünk ki az agy bármely területéről, amelyek felhasználhatók agyi régiók egymás közötti interakcióinak, vagy agyi hálózatok kapcsolatrendszerének feltárására. A BOLD-válaszból indirekt módon következtethetünk az agykéreg valódi neurális aktivitására, viszont a hemodinamikai hatásokon kívül számos ismert (külső stimuláció) és ismeretlen (neurofiziológiás és mérési zaj, mágneses mező inhomogenitás) tényező befolyásolja a mintavételezett adatokat. Ezért a képsorozat analízis előtti

feldolgozásakor elengedhetetlen az adatok temporális és térbeli korrekciója és standardizálása a vizsgálat szempontjából hasznos jelek kiemeléséhez.

A BOLD-jel tulajdonságai és a neurális aktivitással való összefüggései régóta kutatás tárgyát képezik. Az agyi konnektivitás inter-regionális összeköttetések mintázatát tárja fel agyi vizsgálatokban. Az kapcsolatokat többféle megközelítésből vizsgálhatjuk neuronok, vagy neuroncsoportok, illetve agyi struktúrák (kortikális régiók) között: strukturális (vagy neuroanatómiai), funkcionális és effektív konnektivitásról beszélhetünk. Strukturális konnektivitással jellemezhetőek az anatómiai kapcsolatok mintázatai. A strukturális konnektivitás pontos meghatározása nem egyértelmű, de általában azonban az agyi régiókon átívelő idegpályák összeköttetéseit értjük alatta. Ez egybevág anatómiai ismereteinkkel. Ilyen információt nyerhetünk ki például diffúziós tenzor képalkotás (DTI) segítségével. Funkcionális konnektivitással agyi régiók aktivitásának statisztikai függőségeit vizsgálhatjuk. A kapcsolódás mértékét régiók időbeli aktivitásváltozásának korrelációjával becsülhetjük. Bár a funkcionális konnektivitás nagyon hasznos lehet a normálistól eltérő kapcsolati minták leírására, nem képes felfedni a rejtett ok-okozati összefüggéseket. Az effektív konnektivitás ezzel szemben azzal a hatással definiálható, amit egy neurális rendszer kifejt egy másikra. Ezáltal neuroncsoportok között oksági összefüggéseket tárhatunk fel, ahol jellemzően a régiók közötti irányított kapcsolatokat vizsgáljuk. A konnektivitást becsülő eljárások többsége agyi aktivitást reprezentáló idősorokat használ, úgy mint elektroencefalográfiából (EEG), lokális mezőpotenciál (LFP) vizsgálatból, vagy funkcionális MRI-ből származó adatokat.

A napjainkban széles körben alkalmazott effektív konnektivitási módszer a dinamikus oksági modellezés (dynamic causal modelling - DCM), amellyel a korábbi gyakorlattól eltérően, agyi neurális hálózatok dinamikusan perturbálható rendszerét hozzuk létre, és a kísérleti stimulusnak megfelelő bemenet hatására generálható kimenetet (pl. BOLD-jel) hasonlítjuk a valódi mérési adatokhoz. Ez a megközelítés jelentősen eltér a hagyományos módszertantól, és sokkal pontosabban tükrö-

zi a neurális interakciók nem-lineáris és dinamikus jellegét. A modellező feladata meghatározott csomópontok (pl. agyi régiók) közötti összeköttetések és a bemenetek direkt, vagy kapcsolat moduláló hatásainak, mint modell paramétereknek a specifikálása egy gráf modellben. A DCM ezen prior paraméterekből egy Bayes-i optimalizációs eljárás során becslést ad a paraméterek posterior eloszlására, amelyből következtethetünk a csomópontok közötti irányított kapcsolatok erősségére. A posterior paraméter eloszlásokból továbbá megadható egy közelítés a modell mérési adatokra vonatkozó evidenciájára, amely annak a mérőszáma, hogy a modell mekkora valószínűséggel illeszthető a valódi regionális idősorokra. Matematikailag a modell differenciál egyenletrendszerekkel írható le. Ezek az egyenletek definiálják az agyi régiók rejtett állapotait, azaz a dinamikusan változó neurális aktivitásukat, ahol az állapotok közötti feltételes függőségek effektív konnektivitásként kifejezhetőek.

Eredetileg a DCM egy hipotézis-vezérelt módszer volt, amely korlátozott számú modell kiértékelésére használható neurobiológiailag releváns kérdések megválaszolására. A hipotetikus agyi modellek összehasonlítását Bayes-i modell kiválasztás (Bayesian model selection - BMS) módszerével végezhetjük, hogy megtaláljuk a mérési adatokra legjobban illeszkedő BOLD-jelet előállító modellt minimális komplexitás mellett. Későbbi DCM fejlesztések lehetővé tették modell halmazok, vagy modell családok összehasonlítását, amely kiküszöbölte az egyes modellek összehasonlításából származó statisztikai bizonytalanságot.

A hipotézis-vezérelt felfogással szemben számos tanulmányban követték azt a stratégiát, hogy szisztematikusan felépített modellek feltérképezésével kiválasztották az adatokra legjobban illeszkedő modellt, és abból vontak le következtetéseket. Azonban az optimális modell megtalálása sokszor nem triviális, ugyanis a teljes modelltér számossága hiperexponenciális mértékben nő a modellt strukturálisan alkotó csomópontok számával. Az optimalizációs probléma megoldására használt Bayes-i modell redukció (Bayesian model reduction - BMR) hatékonyan képes

megállapítani, hogy egy adott modellben melyek azok a paraméterek, amelyek az adatok függvényében valószínűsíthetően nem járulnak hozzá a modell evidenciájához, avagy log-likelihood értékéhez. Azonban a BMR-en alapuló *post-hoc* eljárások egyik hátránya, hogy a szűkített modellek evidenciája csak akkor egzakt, ha az eredeti modell lineáris. Továbbá ez a tisztán statisztikai módszer nem veszi figyelembe a hálózat topológiáját, így a statisztikailag optimális modell struktúrája nem minden esetben értelmezhető neurobiológiai szempontok alapján. Előfordulhat, hogy az optimális modellben egy külső hatás olyan kapcsolatot modulál, amelyet a BMR eltávolított az endogén kapcsolati paraméterek közül.

A paraméterbecslés és a modell kiválasztás mellett a Bayes-i modellezés egyik legjelentősebb problémája a struktúra tanulás (structure learning). A mérési adatokat legnagyobb valószínűséggel magyarázó modellek keresése és nagy méretű modellek teljes felfedezése a hiperexponenciális időbonyolultság miatt egy nehéz probléma. Számos adatvezérelt eljárás létezik hálózati topológiák felfedezésére Bayes-i hálózatok esetében. Azonban az irodalomban nagyon kevés DCM-re adaptált kereső algoritmus létezik. A kevés modellkereső eljárástól eltekintve a struktúra tanulás DCM-ben még nem megoldott a paraméter becslés nagy számításigénye miatt.

A DCM humán tanulmányok esetében az egyik leggyakrabban alkalmazott effektív konnektivitási módszer. Azonban kisállat-kísérleteken alapuló preklinikai kutatásokban a módszert eddig legtöbbször EEG mérések elemzésére használták. A humán és patkány agyi tevékenység BOLD válaszai közötti különbségek miatt az emberi jelekre parametrizált hemodinamikai modell alkalmazása nincs validálva patkány fMRI vizsgálatokra. Munkánk során szeretnénk demonstrálni a DCM keretrendszer alkalmazását preklinikai állatkísérletekben is.

A munkánk során célunk volt módszereket kidolgozni teljes DCM modellek gráfelméleti módszerekkel történő feltérképezésére DCM-hez adaptált modellkereső algoritmusokkal. A nagy számosságú modellterben való keresés magas számítási igényét a DCM algoritmus optimalizált újraimplementációjával szeretnénk csökken-

teni. Bemutatjuk a saját fejlesztésű ReDCM szoftvert, amellyel lehetőség van DCM modellek gyors kiértékelésére, ezzel segítve a modellkereső algoritmusok fejlesztését és tesztelését. Továbbá demonstráljuk a DCM keretrendszer alkalmazását preklinikai állatkísérletekben. A munkát megelőzőleg célunk volt kidolgozni egy korszerű és robusztus munkafolyamatot az fMRI felvételek előfeldolgozására, amely alkalmazható a Debreceni Egyetemen használt szekvenciák előkészítésére. Ezen fejlesztések nem képezik tárgyát jelen értekezésnek, és bővebb kifejtésük a Függelékben található. A kutatási téma kidolgozása során szeretnénk az alábbi módszertani fejlesztéseket végrehajtani:

1. A Dynamic causal modelling futási időre optimalizált verziójának implementációja, amely lehetővé teszi nagy számosságú modellek vizsgálatát. A fejlesztés során elsődleges szempontként vesszük figyelembe a nagy számítási igényű eljárások teljesítményorientált optimalizálását, valamint a program alkalmazhatóságát nagy számítási teljesítményű számítógép klasztereken.
2. Agyi hálózati topológián alapuló modellkeresés lehetőségeinek vizsgálata DCM keretrendszerben.
 2. a) Gráfelméletből és hálózattudományból ismert modellkereső algoritmusok adaptálása DCM-hez, valamint alkalmazása egyedi és csoportszintű analízis kapcsán.
 2. b) Egy olyan keretrendszer kidolgozása, amelyben lehetőség van a modellkereső algoritmusok Bayes-i modellbecslésen és a modellek topológiai összehasonlításán alapuló karakterizálására. Megfelelő metrikák alkalmazásával a különböző kereső és modell optimalizáló algoritmusok teljesítménye kvantitatív módszerekkel mérhetőek és összehasonlíthatóak.
3. A DCM adaptálása és alkalmazása preklinikai környezetben, effektív konnektivitás becslése patkány fMRI képsorozatok alapján. Szakirodalmi ismereteink alapján nem jellemző kisállat-felvételek vizsgálata DCM-ben.

2. Módszerek

DCM számítási igénye, és a ReDCM kifejlesztése

A kapcsolati és fiziológiai paraméterek becslését végző variációs Laplace (VL) algoritmus iteratív lépésekben generál regionális BOLD-jeleket az aktuális modell paraméterek alapján, majd azoknak az fMRI-vel mért BOLD-jelekkel való összehasonlításából származó hiba minimalizálása érdekében frissíti a modell paramétereit. A neurális és hemodinamikai állapotegyenletek előrecsatolt modelljének inverziója meglehetősen számításigényes folyamat a differenciálegyenlet rendszer ismételt integrálása miatt. A futási idő profilozása alátámasztja, hogy az képletek numerikusan történő integrálásának folyamata jelenti a DCM számításának legjelentősebb részét (a teljes futási idő 87.2%-a). A munkánk során törekedtünk arra, hogy az eredeti implementációban használt algoritmust megtartva korszerű számítási szoftverkönyvtárak felhasználásával érjünk el sebességnövekedést, és felkészítsük a DCM-et nagyteljesítményű számításokat (high performance computing - HPC) végző számítógép klasztereken való futtatásra. A DCM munkánk során kifejlesztett újraimplementált változatára ReDCM néven hivatkozunk.

A ReDCM célja, hogy hatékony számítási keretrendszert nyújtson determinisztikus DCM modellek inverziójára, modellek összehasonlítására és modellkereső algoritmusok kifejlesztésére és karakterizálására. Ehhez ideális környezetet nyújt az R programozási nyelv, amellyel szabadon, tetszőleges méretű számítógép klaszteren egymással szimultán módon végezhető nagy számú DCM modell becslése. A futási idő profilozás eredményei alapján kiemeltük az állapotegyenletek integrálását végző kódrészletet és C programozási nyelvre ültettük át, ahol a GNU Scientific Library (GSL) szoftverkönyvtár segítségével hatékonyan hajthatóak végre a mátrix műveletek. Szimulált idősor adatokon összehasonlítottuk a ReDCM és a DCM12 teljesítményét. A BOLD idősorok szimulációjához -0.5 és 0.5 intervallumban véletlenszerű kapcsolatmátrixokat generáltunk 3x3, 5x5 és 7x7 méretben, biztosítva

azt, hogy az inhibitoros hatásokat jelző önkapcsolatok negatívak legyenek. Minden modellhez két bináris vektort generáltunk a megfelelő hosszúságú stimulusfüggvények meghatározásához. Mindkét stimulus az összes régióra fejtett ki direkt hatást. A regionális szintetikus adatokat az SPM-ben implementált `spm_dcm_generate` függvénnyel állítottuk elő.

Modellkeresés lehetőségei és feltételrendszere DCM-ben

A mérési adatokra legjobban illeszkedő modell megtalálása az egyik legfontosabb probléma a Bayes-i modellezés területén. Azonban nagy számosságú modelterek feltérképezése nem triviális DCM-ben, ugyanis az alternatív modellek száma hiperexponenciális mértékben nő a modell csomópontjainak és a külső hatásoknak a számával. A DCM keretrendszerben több lehetőség közül választhatunk a hálózati struktúra feltárására:

- Egyedi szinten az adott régiórendszer által definiált összes lehetséges modell alternatívát kiértékeljük, és kiválasztjuk azt, amelynek a legmagasabb az evidenciája az fMRI idősorok alapján.
- Alkalmazhatjuk a BMR módszerén alapuló *post-hoc* modell kiválasztást, amely egyetlen modell becslését igényli, és annak bármely beágyazott modelljét hatékonyan képes kiértékelni analitikus módszerekkel. Egy heurisztikus algoritmus addig szűkíti a modell kapcsolati paramétereit, amíg a kapott modell evidencia maximum értéket nem vesz fel.
- Keresést hajthatunk végre csoportszintű parametrikus empirikus Bayes (PEB) analízis beágyazott modelljei között.

A modellkereső algoritmusok használata megköveteli, hogy minden egyes modellt potenciónalisán egyenlően valószínűnek tekintsünk. Valós helyzetekben általában egyes modellek neurobiológiailag relevánsabbak lehetnek másoknál, azonban

ezt figyelmen kívül hagyjuk Bayes-i modell összehasonlítás során. Ezért a modellkereső algoritmusok alkalmazására olyan esetben lehet szükség, amikor nincs előzetes információnk a valódi hálózat jellemzőiről.

További problémát jelent, hogy az adatokat generáló modellre vonatkozó előzetes hipotézis nélkül a megtalált modell kapcsolatrendszere nehezen értelmezhető lehet, és nem reprodukálható egy másik alany, vagy más bemenő adatok elemzésekor. Ezért a gyakorlatban gyakran modell családokat alkotunk, amelyek mindegyike egy hipotézis köré szisztematikusan felépített modelleket tartalmaz. Mivel a modell családok összehasonlításához szükséges a bennük foglalt modellek paraméterillesztése, a modellkereső algoritmusok hasznosnak bizonyulhatnak, ha a keresés eredménye képes előrejelezni a győztes családot.

Topológiai modellkeresés DCM-ben

Bayes-i hálózatok keresésére számos eljárás létezik. Ezek között található az egyszerű mohó algoritmusok, vagy komplexebb, például szimulált hűtést, vagy genetikus algoritmusokat alkalmazó módszerek. Az alkalmazott kereső algoritmustól függően a modell alternatívák száma továbbra is magas lehet. Az algoritmusfejlesztés és tesztelés megkönnyítése érdekében a modell alternatívák becslését helyettesítettük a teljes modelltér adatbázisából az alternatívákra vonatkozó rekordok beolvasásával.

További módja a modellkeresés hatékonyságának növelésére, ha az alternatívák közül töröljük azokat a modelleket, amelyek pusztán olyan paraméterekben különböznek a korábban már számításba vett modellektől, amik feltehetően nem változtatják a modell evidenciát. Ezért kifejlesztettük az általunk adaptált topológiai modellkereső algoritmusok optimalizált változatát, amely figyelmen kívül hagy egy modellt, ha olyan kapcsolatot adunk hozzá, vagy vonunk el belőle, amelynek az átlagos posterior paraméter valószínűsége nem ér el, vagy meghalad egy meghatározott küszöb értéket az addig számításba vett DCM modellek alapján. Ezzel a változtatással biztosítani tudjuk, hogy magas átlagos valószínűségű kapcsolati paraméterek

nem törölhetőek a modellből, illetve hogy a valószínűtlen kapcsolatokkal bővülő modelleket figyelmen kívül hagyjuk.

Az alábbi algoritmusokat adaptáltuk DCM környezetben:

- **Greedy equivalence search (GES):** Az eljárást a modelltér egy véletlenszerűen kiválasztott elemével inicializáljuk. Az algoritmus során két típusú folyamat megy végbe: az egyik egy előre haladó, a másik egy visszafelé haladó keresés. Az előbbi során modell alternatívának választjuk az összes modellt, amely a kiinduló modellhez képest eggyel kevesebb kapcsolatot tartalmaz. Majd a DCM modellek közötti Fe szerinti győztes modellt kiválasztjuk a következő iteráció kiinduló modelljének. Amikor elérjük azt az állapotot, amikor a kapcsolatok további eltávolítása a modellből nem módosítja a győztes modellt, elindul a visszafelé haladó keresési folyamat, amely iterációként hozzáad egy kapcsolatot a kiinduló modellekhez. Ezek az előre- és visszafelé haladó kereső folyamatok váltakoznak mindaddig, amíg bármely lépés javít a modell evidencián. Az algoritmus előnye, hogy a kiinduló modell determinálja azt a lokális maximumot, ahol az algoritmus konvergál. Ugyanakkor viszont képtelen átlépni rajta és nem biztos, hogy elérheti a legjobb modellt.
- **Greedy Hamming-distance search (GHD):** A GES módszer egy általánosabb változata, amely a modell priorokat bináris vektornak tekinti. A véletlenszerűen kiválasztott iniciális modell alternatíváit az attól legfeljebb 1 Hamming-távolságra található modellekként választjuk ki. A következő lépésben kiválasztjuk a legmagasabb evidenciájú alternatívát, és megismételjük az eljárást addig, amíg az algoritmus nem konvergál.
- **Genetikus algoritmus (GA):** A genetikus algoritmusok széles körben elterjedt megközelítése olyan optimalizálási és keresési problémáknak, amik procedurálisan nehezen megoldhatóak. A megoldás lehetséges jelöltjeit (amit egyedeknek, vagy fenotípusnak is hívunk) tulajdonságok (azaz kromoszómák,

vagy genotípus) halmazával reprezentáljuk, amik kombinációja definiálja az egyedeket. Ezek a tulajdonságok kombinálhatóak egyedek keresztezésével (*crossover*), vagy kicserélhetőek mutációs műveletekkel (*mutation*), hogy létrehozzunk életképebb jelölteket a probléma megoldására. Esetünkben a modellek jelentik az egyedeket és azok kapcsolati paraméterei a tulajdonságokat. A genetikai műveletek számos véletlenszerű változásokat okozhatnak az egyedekben, így a korábban bemutatott eljárásokkal szemben nem garantálható a keresés eredménye egy adott inicializálás mellett.

Modellkereső algoritmusok karakterizálása

Az adaptált gráf alapú kereső algoritmusokat a modellillesztés (Fe), a gráf struktúra (relatív Hd a legjobb modellhez képest) és a keresés során becsült modellek számának (N) vonatkozásában karakterizáltuk. Mivel a GES és GHD procedúrák jellemzően determinisztikusan, minden futtatás alkalmával ugyanazt az optimumot érik el egy adott inicializálás során. A kiinduló modell véletlenszerű kiválasztása lehetővé teszi, hogy a keresés hatékonyságát és robusztusságát mérjük. Ezzel szemben a sztochasztikus jellegű GA módszer minden alkalommal különböző ponton konvergálhat az iniciális modell halmaztól függetlenül. Ebből következően az implementált algoritmusok hatékonyságát 20 egymás utáni futtatás alapján mértük mind a 10 kiválasztott alany esetén, és összegeztük a kereső algoritmusokra vonatkozó átlagos karakterisztikáit és szórásukat.

A DCM adatok csoportszintű elemzése a jelenlegi irodalmi ajánlások szerint a vizsgált populáció teljes modelljének (és további hipotetikus modelljeinek) lineáris PEB elemzése. A populációs szintű hálózat feltérképezésére használt eszköz ugyanazon a heurisztikus algoritmuson alapul, mint a *post-hoc* modell kiválasztás, és BMR-t használ nagy számú beágyazott PEB modell kiértékelésére. Mivel a redukált posterior valószínűség egzakt módon levezethető lineáris modellekből, a BMR biztonságosan használható PEB modellekre vonatkoztatva. Ezért beágyazott PEB

modellek közötti keresés esetén az adaptált gráfelméleti algoritmusok döntési kritériumát a BMR által becsült modell evidencia adja. A modellkereső algoritmusok eredményét összehasonlítottuk az SPM-ben implementált automatikus kereséssel, majd ábráztuk azon kapcsolati paraméterek mintázatát, amelyek valószínűen csoportszinten megjelennek a hálózat kapcsolatrendszerében.

DCM alkalmazása preklinikai kísérletben

A Richter Gedeon Nyrt. Preklinikai Képző Központjával való együttműködés keretében a DCM-et patkány fMRI vizsgálatokban is alkalmaztuk preklinikai kutatásokban. A kutatás során az ismételt, vagy tartós nociceptív stimuláció hatását vizsgáltuk, amely szenzitizálhatja a szenzoros információt feldolgozó neuronokat. A centrális fájdalom gátló rendszerben történő károsodás krónikus fájdalom kialakulásához vezethet. Az így kialakuló centrális szenzitizáció fontos mechanizmusa neuropátiás fájdalommal járó rendellenességeknek, valamint jelen lehet olyan fájdalmas betegségekben, mint a fibromyalgia, irritábilis bél szindróma, endometriózis, vagy a primer fejfájás esetében. A kutatás célja annak feltárása volt, hogy a centrális szenzitizáció hatására milyen változások következnek be a patkányok effektív és funkcionális konnektivitásában. Hipotézisünk szerint a krónikus fájdalom miatt kialakuló centrális szenzitizáció miatt konnektivitásbeli változások mennek végbe a nociceptív hálózat régiói között.

A vizsgálatokhoz 26 felnőtt hím Sprague-Dawley patkányon alkalmaztuk a krónikus gyulladós trigeminális fájdalom modellt. A kisállat modellünkben komplett Freund-adjuváns (complete Freund's adjuvant - CFA) bajuszpárnába történő beinjektálásával idéztünk elő hosszantartó fájdalmat. A CFA-t gyakran használják steril gyulladós reakcióhoz köthető fájdalom tanulmányozására. Az fMRI vizsgálatok során az állatok bajuszpárnájának nem ártalmas "air-puff" stimulációjával váltottunk ki BOLD-választ. Inicialisan egy 240 másodperces nyugalmi szakasz után az 1 bar légnyomású ingerlés 30 másodpercen keresztül 1 Hz frekvenciával történt, 60

másodperces nyugalmi szakasszal követve. Egy mérés során 18 stimulációs blokkot hajtottunk végre. A centrális szenzitizáció hatását több lépcsőben vizsgáltuk, összesen háromszor elvégezve az fMRI kísérletet. A drog-naiv állapotban elvégzett *baseline* mérést (BASE) követően a patkányok megkapták a CFA injekciót. A méréseket két nap elteltével, az akut szakaszban (CFA2), illetve hét nap után a fájdalom tartósulásával (CFA7) ismételtük meg.

Az analízis során kiemelt jelentőséget tulajdonítottunk az anterior cingulate cortex (Cng) közvetítő szerepének a hálózatban centrális szenzitizáltság alatt, ugyanis megváltozott BOLD-választ mutatott a CFA7 mérés során a BASE vizsgálatához képest. Ezért a modellek két családját definiáltuk, hogy két különböző hálózati konfigurációt modellezzük: 1) az egyikben a Cng közvetíti a centrális szenzitizációt a szomatoszenzoros hálózatnak egy komplex, több pályán kapcsolódó rendszerben, illetve 2) a Cng csak a hálózat egyik régiójához kapcsolódva közvetíti a szenzitizált állapotot. A Cng szomatoszenzoros hálózattal való "sűrű" és "ritka" kapcsolatrendszeréből kialakított modell családokat BMS módszerrel hasonlítottuk össze, majd a győztes modell családon Bayes-i modell átlagolást (BMA) hajtottunk végre, hogy csoportszinten összesítsük a DCM paramétereket mind a három mérésre vonatkozóan. Az egyedek közötti varianciát véletlen hatásként kezelve a Bayes-i következtetéseket RFX (random effects) BMS és RFX BMA módszerrel vizsgáltuk.

3. Az értekezés új tudományos eredményei

ReDCM - A DCM algoritmus újraimplementációja

A futási időre vonatkozó limitációk kiküszöbölésére R programozási nyelven létrehoztuk a szoftver részleges újraimplementációját, amely jelenleg tartalmazza a determinisztikus DCM teljes VL becslési algoritmusát és az fMRI-re vonatkozó neurális és hemodinamikai állapotok generatív modelljét egy, vagy kétállapotú, illetve nem-lineáris neurális modellek specifikálásának lehetőségével. Az ReDCM-mel becsült modellek összehasonlítása elvégezhető az R csomagban szintén implementált Bayes-i modell kiválasztás segítségével fix hatások (FFX BMS) és véletlen hatások (RFX BMS) modellezése mellett.

A ReDCM-ben implementált modell becslő eljárás számítási teljesítménye számottevő javulást mutat az eredeti algoritmushoz képest. Összehasonlítottuk a variációs algoritmus iterációinak futási idejét a 18 szintetikus teszt modell esetében, változó adathossz esetében (200, 400, 600, 800, 1 000 és 1 200 időpillanat) három különböző modellmérettel (3, 5 és 7 régió). Bármilyen párhuzamosítási, vagy nagy teljesítményű számítási technika alkalmazása nélkül a ReDCM használatával 296-1 078% teljesítménynövekedést értünk el a modellmérettől és az adathossztól függően.

A ReDCM-ben lehetővé tettük a regionális hemodinamikai jellemzők vizsgálatát. A DCM-ben a Balloon-modell neurobiológiailag alátámasztott rendszere a régiók időben változó neurális állapotát alakítja BOLD-válasszá. A Balloon-modell paraméterei lehetővé teszik az egyes régiók hemodinamikai tulajdonságainak adatvezérelt becslését, amely felhasználható statisztikai elemzésekhez. A modell inverziót követően a ReDCM-ben kiemelhetjük a posterior θ^h hemodinamikai paraméterekkel beállított Balloon-modell, majd a bemeneti regionális neurális aktivitást egy Dirac-delta, azaz tüske impulzus függvénnyel helyettesíthetjük. A Balloon-modell impulzusra adott válaszából megfigyelhetőek a hemodinamikai válaszfüggvény (HRF) tu-

lajdonságai: a válasz amplitúdója, félérték szélessége, valamint a tetőzésig eltelt idő. A Balloon-modell paraméterek és a HRF paraméterek összefüggéseinek demonstrálására az R Shiny környezetben egy, a ReDCM-re épülő web alapú alkalmazást fejlesztettünk ki.

Modellkereső algoritmusok hatékonyságának vizsgálata

Egyedi szintű modellkeresés során a kísérletben definiált modelltérben a GA kis mértékben jobban teljesített a determinisztikus GES és GHD algoritmusoknál – átlagosan 10.59 free energy különbséggel – a legjobb modellhez viszonyítva (dFe). Emellett a sztochasztikus eljárás olyan, a legjobb modellhez közelebb eső struktúrájú modelleket talált meg (3.71 Hd), mint a GES (4.28 Hd) és a GHD (4.07 Hd) módszerek. Ugyanakkor a GA átlagosan 202 modell becslése után konvergált, ami nagyjából kétszer annyi számítást jelent, mint a GES (77) és a GHD (118) esetében. A módosított algoritmusokkal ki tudtuk használni, hogy a DCM minden kapcsolati paraméter valószínűségét képes becsülni. Mindhárom eljárás esetében az implementált módosítások javítani tudtak a keresés hatékonyságán. A paraméterek egyszerű rögzítésével a GA' módszer többször megtalálta a legjobb modellt és átlagosan 7.37 dFe értéket ért el. További javulás, hogy az optimalizált algoritmusok szignifikánsan kevesebb modellszámítást végeztek. A DCM-mel és a BMR-rel becsült modelltérben való kereséssel lehetőségünk nyílt összehasonlítani az adaptált módszereket az SPM-ben megtalálható *post-hoc* kereséssel. A számítások során megállapítottuk, hogy a GES és GHD jobban teljesítettek a BMR térben más módszereknél, de az optimalizált változatok megbízhatatlanná váltak és nem javítottak a keresés hatékonyságán.

Összehasonlítottuk a beágyazott PEB modellek között kereső BMR alapú automatikus modell optimalizációs módszert a három topológiai kereső algoritmussal. A csoportszintű elemzés esetében a GES és a GHD algoritmusokat a teljes modell-lel inicializáltuk, a GA-t pedig véletlenszerű paraméterekkel. A BMR csak a "Szavak"

feladatban a jobboldali frontális régió dorzális területének (rdF) öngátlását moduláló hatását redukálta a modellből. A GES és GHD ugyancsak eltávolította ezt a hatást, valamint a "Képek" moduláló hatását a baloldali ventrális régió (lvF) öngátlásán. A GA szerint 10 futtatás után minden alkalommal a teljes modell jellemzi legjobban az egész populációra vonatkozó kapcsolatrendszer. A PEB modell paramétereiben való keresés során megmutatkoznak a gráfelméleti algoritmusok korlátai. A PEB modell parametrizálása alapján a lineáris modell összes hatását (például populációs átlag, csoport differenciák) becsülni tudjuk a teljes effektív konnektivitáson, azonban a topológiai kereső algoritmusok egyszerre csak az egyik hatásra vonatkozó modell struktúrát képesek keresni. Így továbbra is a BMR a jelenleg ajánlott modell-szűkítési lehetőség csoport szintű PEB modellek esetén.

Centrális szenzitizáció hatásának vizsgálata preklinikai kisállat kísérletben

A centrális szenzitizáció vizsgálatában a BASE és a CFA7 mérések közötti különbségeket emeltük ki. A modell családok Bayes-i modell kiválasztásakor a családok meghaladási (*exceedance*) valószínűsége alapján választottuk ki a győztes családot, amely megmutatja, hogy az adott család (vagy modell) milyen eséllyel magyarázza az adatokat bármely másik, az analízisben szereplő családhoz (vagy modellhez) képest. A BMS felfedte, hogy a "sűrű" modellek szignifikánsan felülmúlják a "ritka" modelleket, mind a BASE (0.981 és 0.019 meghaladási valószínűségi értékkel a két modellcsaládban), mind a CFA7 (0.928 és 0.072) esetében.

Az egyes modellek összehasonlítása során is úgy találtuk, hogy a sűrűbb modell-típusok jobban teljesítenek DCM modellillesztés során. A BASE mérések esetében az M11 (Cng - BF kapcsolat törlése) és az M15 (Cng - M1 kapcsolat törlése) modellek alacsonyabb relatív valószínűséggel rendelkeznek a sűrű modellek között, 0.072 és 0.078 meghaladási valószínűséggel. Ezzel szemben hét nappal a CFA kezelés után épp az M11 és M15 modellek a legjelentősebbek 0.198 és 0.185 meghaladási

valószínűséggel. A ritka modell típusokat tekintve csak a CFA7 mérés M41 (csak a Cng - BF kapcsolat megtartása) és a BASE M45 (csak a Cng - M1 kapcsolat megtartása) modellje haladta meg a 0.01 meghaladási valószínűséget, előbbi 0.069, utóbbi 0.022 értékkel.

Az effektív konnektivitási paraméterek posterior sűrűségeinek csoportszintű következtetéseihez minden egyed esetében BMA módszerrel átlagoltuk a modell paramétereket a győztes család, vagyis a sűrű modell típus tagjai között. Az egyedek így kapott átlagos effektív konnektivitását használtuk RFX-BMA segítségével átlagos BASE és CFA7 modellek létrehozására, illetve differencia képzésére a posterior kapcsolaterősségeken végzett T-tesztek segítségével, false discovery rate (FDR) korrekció után. Mindkét átlag modell esetében azt kaptuk, hogy a BF, M1 és Cng régiók kapcsolataiban a legerősebb az effektív konnektivitás. Az elemzés szintén alátámasztja a striatum szerepét a fájdalom feldolgozásában. Az eredmények megerősítik azt a hipotézist, miszerint striátrális dopamin D2 receptorok jelentős mértékben befolyásolják a fájdalomra adott válaszokat.

4. Összefoglalás

Munkánk célja az volt, hogy létrehozzunk egy DCM alapú effektív konnektivitás számítására alkalmas munkafolyamatot, amely magában foglalja a funkcionális MRI felvételek egységesített és korszerű előfeldolgozását, a definiált régiórendszer automatizált és adatvezérelt térbeli adjusztálását, valamint nagy számosságú modellek feltárásának lehetőségét az adatokra legjobban illeszkedő neurális modellek keresésére. Publikált munkáink során a következő eredményekre jutottunk:

1. A kereső algoritmusok fejlesztésének fő akadálya a DCM magas számításigénye. Ennek kiküszöbölésére létrehoztuk a futási időre optimalizált ReDCM R csomagot, amellyel teljes modellek kiértékelésére is lehetőségünk van. A szoftverrel jelenleg a determinisztikus modellek becslése érhető el, amelyet a későbbiekben szeretnénk kiegészíteni sztochasztikus modellekkel, valamint a spektrális sémával történő modell inverziós eljárással.
2. DCM-ben az adatokat legnagyobb valószínűséggel magyarázó modellek megtalálása nem triviális feladat. Vizsgáltuk a hálózatelméletből ismert kereső algoritmusok alkalmazásának lehetőségeit a DCM keretrendszerben, ahol a modelleket irányított ciklikus gráfnak tekintjük és a gráf topológiáját iteratív módon változtatva keressük a legjobb modellt. Három modellkereső algoritmust adaptáltunk DCM-re. Megállapítottuk, hogy egyedi szinten végzett modellkeresés esetében a topológiai algoritmusok kis mértékben jobban teljesítenek a *post-hoc* modell optimalizálás módszerénél. Csoportszintű PEB modelleken belül azonban megmutatkoznak a gráfelméleti módszerek limitációi.
3. Demonstráltuk, hogy a DCM alkalmazható preklinikai kutatások során kisállatokon végzett kísérletekben, különböző kondíciók alatt vizsgált effektív konnektivitás differenciáinak mérésére. Továbbá a fejlesztéseinket sikerrel alkalmaztuk a Debreceni Egyetemen történő kutatások, valamint külső intézetekkel való együttműködések során.



Nyilvántartási szám: DEENK/97/2022.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Aranyi Sándor Csaba
Doktori Iskola: Molekuláris Orvostudomány Doktori Iskola
MTMT azonosító: 10045991

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Aranyi, S. C.**, Nagy, M., Opposits, G., Berényi, E., Emri, M.: Characterizing Network Search Algorithms Developed for Dynamic Causal Modeling.
Front. Neuroinform. 15, 1-14, 2021.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3389/fninf.2021.656486>
IF: 4.081 (2020)
2. Spisák, T., Pozsgay, Z., **Aranyi, S. C.**, Dávid, S., Kocsis, P., Nyitrai, G., Gajári, D., Emri, M., Czurkó, A., Kincses, Z. T.: Central sensitization-related changes of effective and functional connectivity in the rat inflammatory trigeminal pain model.
Neuroscience. 344, 133-147, 2017.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2016.12.018>
IF: 3.382

További közlemények

3. Gecse, K., Dobos, D., **Aranyi, S. C.**, Galambos, A., Baksa, D., Kocsel, N., Szabó, E., Pap, D., Virág, D., Ludányi, K., Kőkőnyei, G., Emri, M., Bagdy, G., Juhász, G.: Association of plasma tryptophan concentration with periaqueductal gray matter functional connectivity in migraine patients.
Sci. Rep. 12 (1), 1-12, 2022.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-021-04647-0>
IF: 4.379 (2020)
4. Opposits, G., Nagy, M., Barta, Z., **Aranyi, S. C.**, Szabó, D., Makai, A., Varga, I., Galuska, E., Trón, L., Balkay, L., Emri, M.: Automated procedure assessing the accuracy of HRCT-PET registration applied in functional virtual bronchoscopy.
EJNMMI Res. 11 (1), 1-13, 2021.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/s13550-021-00810-w>
IF: 3.138 (2020)





5. Képes, Z., **Aranyi, S. C.**, Forgács, A., Nagy, F., Kukuts, K., Hascsi, Z., Esze, R., Somodi, S., Káplár, M., Varga, J., Emri, M., Garai, I.: Glucose-level dependent brain hypometabolism in type 2 diabetes mellitus and obesity.
Eur. J. Hybrid Imaging. 5 (3), 1-15, 2021.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/s41824-021-00097-z>
6. Béres, A., Emri, M., **Aranyi, S. C.**, Fajtai, D., Nagy, F., Szabó, P., Bödecs, P., Hörcsik, E., Perpékné Papp, É., Tomanek, F., Kuti, M., Petőfalviné, Á., Kisdéákné, H., Biró, G., Kovács, D., Bakos, B., Vinczen, E., Gál, E., Sillinger, R., Szalai, Z., Szilágyi, A., Kiss-Merki, M., Nagyéri, G., Fodor, J., Németh, T., Papp, E., Repa, I.: Healing through faith: meeting a chaplain coupled with biblical readings could produce lymphocyte changes that correlate with brain activity (HEALING study).
F1000Res. 10, 1-20, 2021.
DOI: <http://dx.doi.org/10.12688/f1000research.74504.1>
7. Képes, Z., **Aranyi, S. C.**, Forgács, A., Nagy, F., Kukuts, K., Esze, R., Somodi, S., Káplár, M., Varga, J., Emri, M., Garai, I.: Homocysteine-related alterations of [18F]FDG brain pattern in metabolic diseases.
Hell. J. Nucl. Med. 24 (3), 222-227, 2021.
IF: 1.102 (2020)
8. Clemens, B., Emri, M., **Aranyi, S. C.**, Fekete, I., Fekete, K.: Resting-state EEG theta activity reflects degree of genetic determination of the major epilepsy syndromes.
Clin. Neurophysiol. 132 (9), 2232-2239, 2021.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.clinph.2021.06.012>
IF: 3.708 (2020)
9. Gecse, K., Baksa, D., Dobos, D., **Aranyi, S. C.**, Galambos, A., Kocsel, N., Szabó, E., Kökönyi, G., Emri, M., Bagdy, G., Juhász, G.: Sex Differences of Periaqueductal Grey Matter Functional Connectivity in Migraine.
Front. Pain Res. 2, 1-9, 2021.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3389/fpain.2021.767162>
10. Nagy, M., **Aranyi, S. C.**, Opposits, G., Papp, T., Láncri, L., Berényi, E., Vér, C., Csiba, L., Katona, P., Spisák, T., Emri, M.: Effective connectivity differences in motor network during passive movement of paretic and non-paretic ankles in subacute stroke patients.
PeerJ. 8, 1-22, 2020.
DOI: <http://dx.doi.org/10.7717/peerj.8942>
IF: 2.984
11. Opposits, G., **Aranyi, S. C.**, Glavák, C., Cselik, Z., Trón, L., Sipos, D., Hadjiev, J., Berényi, E., Repa, I., Emri, M., Kovács, Á.: OAR sparing 3D radiotherapy planning supported by fMRI brain mapping investigations.
Medical Dosimetry. 45 (4), e1-e8, 2020.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.meddos.2020.04.003>
IF: 1.482





12. **Aranyi, S. C.**, Opposits, G., Nagy, M., Berényi, E., Vér, C., Csiba, L., Katona, P., Spisák, T., Emri, M.: Population-level Correction of Systematic Motion Artifacts in fMRI in Patients with Ischemic Stroke.
J. Neuroimaging. 27 (4), 397-408, 2017.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/jon.12408>
IF: 1.953
13. Spisák, T., Jakab, A., Kis, S. A., Opposits, G., **Aranyi, S. C.**, Berényi, E., Emri, M.: Voxel-Wise Motion Artifacts in Population-Level W Brain Connectivity Analysis of Resting-State fMRI.
PLOS ONE. 9 (9), e10494, 2014.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0104947>.
IF: 3.234

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 29,443

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapján szolgáló közleményekre):
7,463**

A DEENK a Jelölt által az iDEa Tudóstérbe feltöltött adatok bibliográfiai és tudományometriai ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2022.02.23.

