



Prof. dr hab. Włodzisław Duch
Katedra Informatyki Stosowanej
i Laboratorium Neurokognitywne
Uniwersytet Mikołaja Kopernika, Toruń

DZIEKANAT
SEKCJA ds. DOKTORANCKICH

Wpłynęło dnia 2021-01-28 A.P.



Recenzja rozprawy doktorskiej napisanej przez mgr Gabrielę Jurkiewicz.
„Badanie zjawiska fizjologicznego i epifenomenalnego sprzężenia typu faza-
amplituda w sygnałach elektrofizjologicznych”.

Mgr Gabriela Jurkiewicz (z domu Bernatowicz) przygotowała rozprawę doktorską w Zakładzie Fizyki Biomedycznej Instytutu Fizyki Doświadczalnej Wydziału Fizyki Uniwersytetu Warszawskiego, pod opieką dr hab. Jarosława Żygierewicza, profesora UW. W swojej pracy zajmowała się analizą zjawisk oscylacyjnych, poszukując metody wiarygodnej detekcji i określania źródła sprzężenia typu faza-amplituda (PAC). Takie badania plasują się na styku fizyki układów złożonych, biofizyki, psychologii eksperymentalnej i neuroinformatyki, stąd współpraca z Instytutem Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN, oraz Wydziałem Psychologii Uniwersytetu Warszawskiego. Pracownicy tych instytucji zainteresowani analizą elektrofizjologicznych sygnałów polegają na modelach matematycznych i oprogramowaniu rozwijanemu przez fizyków. Są też współautorami wszystkich publikacji, w których mgr Jurkiewicz (z domu Bernacka) brała udział. To bardzo dobry przykład szerokiej, interdyscyplinarnej współpracy.

Badania aktywności mózgu w ostatnim dziesięcioleciu pokazały, że oscylacje w różnych pasmach częstotliwości mają różne znaczenie dla procesów percepcji i procesów poznawczych. Ważna jest też interakcja pomiędzy wolnymi i szybkimi rytmemi, która może prowadzić do sprzężeń typu amplituda-amplituda, faza-faza, faza-częstotliwość lub faza-amplituda. Badanie sprzężenia typu faza-amplituda jest obecnie bardzo popularnym tematem. Google Scholar pokazuje ponad 5000 pozycji z frazą „Phase-amplitude coupling” (PAC), w tym ponad 1600 wzmianek w tym i ubiegłym roku. Nic dziwnego, że mgr Jurkiewicz nie odniosła się do wszystkich interesujących metod oceny PAC, np. opartej na adaptacyjnej dekompozycji sygnału metody Pittman-Polletta i inn. Z pracy „Detecting phase-amplitude coupling with high frequency resolution using adaptive decompositions. *Journal of Neuroscience Methods*, 226, 15–32, 2014, która może stanowić dobry punkt odniesienia dla jej własnych wyników.

Sprzężenia faza-amplituda są istotne w przypadku percepcji w różnych modalnościach, mechanizmów uwagi, różnych rodzajów pamięci, zaburzeń neurologicznych i chorób psychicznych. Faza oscylacji o niskiej częstotliwości ma w tym przypadku wpływ na moc sprzężonych oscylacji o wysokiej częstotliwości. Prawdopodobnym wyjaśnieniem jest nie tylko silne pojedyncze źródło ale i synchronizacja oscylacji z kilku obszarów, które będąc zgodne w fazie mogą wymieniać informację niesioną przez oscylacje o wysokiej częstotliwości.

W swojej rozprawie doktorskiej mgr Jurkiewicz przedstawiła nową miarę sprzężenia PAC, nazwaną rozszerzonym indeksem modulacji (eMI), oceniła jej przydatność na symulowanych danych dla modelowych systemów, oraz zastosowała ją do danych elektrofizjologicznych zebranych z badań na szczurach w Instytucie Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN. Udostępniła też opracowany przez siebie pakiet programów do oceny eMI, zawierający również dwie metody referencyjne i przykładowe skrypty pozwalające na wykorzystanie Matlaba i EEGLab do wykonania analiz sprzężenia faza-amplituda na załączonych danych testowych, jak i analizę własnych danych.

Ponieważ zastosowania PAC są liczne warto było dokonać we wstępie choćby krótkiego ich przeglądu by podkreślić wagę zagadnienia. Autorka skupiła się na poszukiwaniu wiarygodnej metody oceny czy obserwacja PAC jest wynikiem synchronizacji powolnych i szybkich oscylacji wynikających ze sprzężenia fizjologicznych procesów, czy też wynika z innych przyczyn, np. reakcji na wielokrotnie powtarzany bodziec, czy też zjawisk wynikających z dynamiki nieliniowej. Odróżnienie fizjologicznych i epifenomenalnych sprzężeń wymaga spełnienia licznych warunków podanych w pracy Aru i inn. z 2015 roku. W przynajmniej pięciu publikacjach zaproponowano częściowe rozwiązanie problemu odróżniania epifenomenalnych sprzężeń od fizjologicznie istotnych. W podrozdziale 1.4 nie wymieniono metody opublikowanej w grudniu 2019 roku (time-frequency based PAC, t-f PAC), cytowanej w spisie literatury [55], ale ta publikacja pojawiła się dopiero w czasie kończenia pracy doktorskiej mgr Jurkiewicz. Ambicją doktorantki było stworzenie optymalnej metody, uwzględniającej większość rekomendacji pozwalających na właściwą interpretację. Autorska metoda nazwana została Rozszerzonym Indeks Modułacji (eMI). Głównym celem rozprawy doktorskiej było sformułowanie i komputerowa implementacja metody eMI i pokazanie, że ma ona kilka zalet, które przebadano w kolejnych rozdziałach. Do weryfikacji użyto danych z wykonanych w IBD PAN eksperymentów nad działaniem subanestetycznej dawki ketaminy na mózgi szczurów.

Rozdział drugi opisuje dwa referencyjne sposoby obliczania indeksów PAC, indeks modulacji (MI) oraz znormalizowaną wersję średniej długości zespolonych wektorów (MVL), nazywaną bezpośrednią estymatą PAC (dPAC). Indeks modulacji wykorzystuje dwustronny filtr o skończonej odpowiedzi impulsowej (FIR), używany w EEGLAB, po czym tworzony jest rozkład amplitud oscylacji o wysokiej częstotliwości względem fazy oscylacji o niskiej częstotliwości. Indeks MI to po prostu dywergencja Kullbacka-Leibnera tego rozkładu w stosunku do rozkładu płaskiego. Indeks dPAC to uśredniony moduł iloczynu chwilowej amplitudy wysokiej częstotliwości i zespolonej funkcji $\exp(i\phi(t))$ wolnych oscylacji fazy. Zastosowanie zamiast prawdziwej fazy sygnału fazy przefiltrowanego białego szumu Gaussowskiego zapewnia brak sprzężenia PAC, co jest przydatne do oceny błędów miar tego sprzężenia.

Metoda eMI została zaprezentowana w schematyczny sposób na Rys. 2.1 rozprawy, a następnie szczegółowo omówiona w pozostałej części rozdziału drugiego. Opis tej metody został opublikowany w czasopiśmie „Neuroinformatics” (Jurkiewicz, Hunt, i Żygierewicz, Addressing Pitfalls in Phase-Amplitude Coupling Analysis with an Extended Modulation Index Toolbox. *Neuroinformatics* 2020), udostępniono też toolbox Matlaba do wykonywania obliczeń na własnych i na przykładowych danych za pomocą nowej metody eMI i dwóch metod referencyjnych. Zadaniem tej metody jest ocena statystycznej istotności korelacji pomiędzy częstotliwością fazy wolnych oscylacji i amplitudy szybkich oscylacji. Takie korelacje przedstawia się na wykresach nazywanych komodulogramami. Nowością w stosunku do metod referencyjnych jest heurystyczny algorytm klasyfikacji sprzężeń PAC jako właściwe lub wątpliwe, czyli prawdopodobnie epifenomenalne. Procedura prowadząca do tej klasyfikacji i estymacji indeksu eMI jest dość skomplikowana, składa się z kilkunastu kroków, nie będę więc jej szczegółowo omawiać. W założeniu rys. 2.1 miał spełniać rolę szkicu metody, ale nie sprawdza się to zbyt dobrze, kolory na wykresach są słabo widoczne. Wybór heurystycznych parametrów (długości i liczby okienek czasowych, sekwencji różowego szumu, liczby falkowej, przedziałów fazowych, progu istotności), wybranych filtrów i transformacji, oraz tworzenia danych zastępczych warto było w tym miejscu lepiej uzasadnić. W tym miejscu brakuje mi opisu motywacji przedstawiającej ogólną ideę rozwijanej metody i jej możliwe warianty, a przynajmniej odwołania do następnego rozdziału, w którym przedstawione zostały eksperymenty numeryczne pozwalające na empiryczny dobór niektórych wartości.

W rozdziale 3 zawarte jest porównanie nowej metody z dwoma powszechnie używanymi metodami referencyjnymi. Zbadano w nim wpływ wyboru różnych parametrów na czułość i

swoistość każdej z metod dla symulowanych sygnałów, zmieniając długość sygnału, stosunek amplitud sygnału o wysokiej i niskiej częstotliwości oraz poziom szumu. W tym celu przygotowano 5 modeli sygnałów, dodając w ustalonej fazie wolnozmiennego sygnału sinusoidalnego jedną lub dwie paczki oscylacji o wysokiej częstotliwości, zmieniając losowo fazę w której pojawiają się te paczki, modulując amplitudę sygnału lub dodając do niego filtrowany szum. Użyto też sygnałów elektrofizjologicznych uzyskanych z opuszki węchowej szczura po podaniu ketaminy. Analizy statystyczne wykonano bardzo starannie. Rys. 3.7 pokazuje komodulogramy i wykresy wartości miary PAC dla sygnału z paczkami oscylacji z poziomem szumu 0.05, ale oznaczenie (a-d) powinno być raczej (a-b), bo rysunki c i d odnoszą się do poziomu szumu od 0 do 0.4. Poziom fałszywych detekcji zbadano dla sygnałów w których nie ma sprzężeń PAC: było to 100 realizacji sygnału z losowo rozmieszczonymi paczkami i 100 realizacji filtrowanego szumu. Rysunek 3.8 pokazuje w pierwszym przypadku błędy na poziomie 3-9%, a w drugim 3-11%. Najlepsze wyniki osiąga tu referencyjna metoda MI. Ogólnie wyniki wszystkich 3 metod oscylują wokół błędów na poziomie 5%. Miara PAC szybko maleje dla poziomu szumu powyżej 0.1, niepokojący jest jednak wynik dla poziomu szumu około 0.03, gdzie metoda eMI wskazuje jako właściwe 9% fałszywych detekcji, a referencyjna metoda MI tylko 1%. Za to przy niskich poziomach sprzężeń PAC metoda eMI odznacza się najwyższą czułością, co widać na rys. 3.9. W sumie można uznać tezę o porównywalnej jakości metody eMI z metodami referencyjnymi pod względem czułości i swoistości dla różnego typu sygnałów za uzasadnioną.

Rozdział 4 dotyczy największej zalety nowej metody, czyli wspierania właściwej interpretacji wykrytego sprzężenia. Za model sprzężenia właściwego może posłużyć sygnał z paczkami wysokiej częstotliwości pojawiającymi się w określonej fazie. Zbadano kilka modeli sprzężenia epifenomenalnego, opartych na oscylatorze van der Pola (nagłe skoki amplitud) z białym szumem, sygnałów z nagłymi skokami amplitudy nazwanych „arkadami”, pojawieniem się periodycznych, szybko opadających i narastających struktur, oraz zaburzeniami sygnału funkcjami Gaussa w nieregularnych odstępach. Są to modele zjawisk obserwowanych w różnych warunkach w sygnałach elektrofizjologicznych. Oprócz sygnałów symulowanych użyto też odpowiednio przygotowanych danych z zapisu napadów padaczkowych u szczura, wspomnianych już zapisów z opuszki węchowej po podaniu szczurowi ketaminy, oraz lokalnych potencjałów z elektrody na korze czuciowej człowieka, zapisanych w trakcie eksperymentu, w którym widoczny był rytm *mu*. Tak bogaty zestaw różnych sygnałów pozwolił na identyfi-

kację cech właściwego sprzężenia PAC. Rezultaty przedstawione są na wykresach pomocniczych 4.8 do 4.13. Nie jest jasne w jaki sposób powstają obwiednie na wykresach czas-częstotliwość. F. Vialatte (RIKEN, Japonia) przygotował toolbox BUTIF do wykrywania takich obszarów, który może zautomatyzować analizy obwiedni. W większości przypadków analiza eMI prawidłowo wykryła wątpliwe pochodzenie PAC. W szczególności dla szczura z napadami padaczkowymi i rytmu *mu* człowieka udało się oznaczyć PAC jako wątpliwy, a w przypadku efektów ketaminy jako właściwy sygnał fizjologicznego sprzężenia. Analiza wykresów pomocniczych pozwala na identyfikację cech właściwego i epifenomenalnego sprzężenia nawet w przypadku pomyłek heurystycznego algorytmu, co zilustrowano w podrozdziale 4.2.2. Wnioski wyciągnięte z analizy sygnałów symulowanych jak i rzeczywistych wydają się poprawne i obejmują zapewne większość sytuacji, z jakimi mogą mieć do czynienia elektrofizjodzy. Pozostaje pytanie, czy obejmują wszystkie możliwe zaburzenia sygnału, które mogą prowadzić do epifenomenalnych wysokich wartości PAC?

Ten rozdział kończy się komentarzami pokazującymi w jakim stopniu metoda eMI zgodna jest z rekomendacjami z pracy Aru. Z 9 kryteriów nie udało się uwzględnić tylko badania niestacjonarności związanych z bodźcem. Spełnienie tak licznych rekomendacji jest zasługą analizy pomocniczych wykresów, oferowanych przez toolbox implementujący metodę eMI. To duża zaleta w porównaniu z metodami referencyjnymi.

Rozdział 5 poświęcony jest uzasadnieniu tezy, że informacja o fazie wolnej oscylacji dla której występuje sprzężenie jest użyteczną cechą różnicującą indeks PAC w różnych warunkach eksperymentalnych. W tym celu analizie poddano dane z zapisów LFP dotyczące swobodnej aktywności szczurów i efektów środka psychoaktywnego, czyli ketaminy. W pierwszym przypadku spodziewano się sprzężenia pomiędzy rytmem teta 4-8 Hz i gamma 40-80 Hz, a w drugim teta i wysokich częstotliwości (HFO) rzędu 150 Hz. Wyniki były zgodne z oczekiwaniami i schematem eksperymentalnym, widać różnice w fazie oscylacji teta sprzężonej z rytmem gamma i HFO. Autorka pokusiła się na podstawie tych wyników o interpretację dotyczącą różnic w czasach reakcji dwóch typów komórek opuszki węchowej, ale takie hipotezy wymagają dalszych badań. Patrząc na wykresy 5.6 i 5.7 z podrozdziału 5.2 trudno uwierzyć, że test Kolmogorova-Smirnowa daje wyniki na poziomie $p \sim 10^{-57}$, tak małe wartości nie dają się wiarygodnie ocenić z powodów błędów numerycznych.

Rozdział 6 ma na celu pokazanie użyteczności metody eMI do badania dynamiki sprzężeń faza-amplituda. Jest to próba weryfikacji hipotez postawionych przez neurofizjologów, zwią-

zanych z wpływem rytmu oddechowego na generację oscylacji HFO w opuszce węchowej. Dane pochodziły z trzech eksperymentów a ich analiza pomaga w interpretacji elektrofizjologicznych efektów działania ketaminy i haloperidolu na mózgi szczurów. Interpretacja tych wyników wymaga zagłębienia się w neurofizjologię i jest zapewne przydatna specjalistom. Zbadano również siłę sprzężenia PAC z sygnałem HFO w obszarach wzrokowych i przedczołowych pokazując, jak wygląda dynamika zmian tego sprzężenia po podaniu ketaminy. Znaczna część wyników w tym rozdziale zgadza się z już opisanymi w literaturze, ale badania dynamiki wydają się być nowe.

Podsumowując, Autorka opracowała nową metodę analizy sprzężeń typu faza-amplituda, dokonała jej implementacji w postaci Matlabowego toolboxa wraz przykładowymi danymi, sformułowała 4 tezy, dotyczące własności metody eMI i dokonała ich weryfikacji przeprowadzając liczne eksperymenty komputerowe. Praca napisana jest starannie, dotyczy aktualnej i ważnej tematyki, a jej wyniki są bardzo dobrze uzasadnione. Zasadnicza część wyników opisanych w pracy doktorskiej została już opublikowana w czasopiśmie *Neuroinformatics* a fragmenty są też w kilku innych artykułach. Rozprawa zawiera szereg wyników ciekawych dla wąskiej grupy ekspertów, w Polsce nie jest ich chyba zbyt wielu, dlatego szkoda, że nie została napisana w języku angielskim. Wykonanie opisanych w niej badań wymagało interdyscyplinarnego podejścia integrującego elementy wielu dyscyplin naukowych, co warto docenić. Cele pracy zostały w pełni osiągnięte. Dlatego z przyjemnością wnioskuję o dopuszczenie mgr Gabrieli Jurkiewicz do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Prof. Włodzisław Duch,

Toruń, 25 grudzień 2020