

UNIwersYTET WARSZAWSKI

ROZPRAWA DOKTORSKA

**Badanie zjawiska fizjologicznego
i epifenomenalnego sprzężenia typu
faza-amplituda w sygnałach
elektrofizjologicznych**

Sprzężenie typu faza-amplituda, Indeks Modulacji, Analiza sygnału



Autor:

mgr Gabriela JURKIEWICZ

Promotor:

dr hab. Jarosław ŻYGIEREWICZ

Zakład Fizyki Biomedycznej
Wydział Fizyki

25 września 2020

Oświadczenia

Oświadczenie autora pracy:

Świadomy odpowiedzialności prawnej oświadczam, że niniejsza praca dyplomowa została napisana przeze mnie samodzielnie i nie zawiera treści uzyskanych w sposób niezgodny z obowiązującymi przepisami.

Oświadczam również, że przedstawiona praca nie była wcześniej przedmiotem procedur związanych z uzyskaniem tytułu naukowego w wyższej uczelni.

Oświadczam ponadto, że niniejsza wersja pracy jest identyczna z załączoną wersją elektroniczną.

Data:

Podpis:

Oświadczenie promotora:

Oświadczam, że niniejsza praca została przygotowana pod moim kierunkiem i stwierdzam, że spełnia ona warunki konieczne do przedstawienia jej w postępowaniu o nadanie tytułu naukowego doktora nauk fizycznych.

Data:

Podpis:

Streszczenie

Zakład Fizyki Biomedycznej

Wydział Fizyki

Badanie zjawiska fizjologicznego i epifenomenalnego sprzężenia typu faza-amplituda w sygnałach elektrofizjologicznych

Gabriela JURKIEWICZ

Przyjmuje się, że sprzężenie typu faza-amplituda (PAC) odgrywa ważną rolę w koordynacji przetwarzania informacji w skali lokalnej i globalnej. W ostatnich latach nastąpił znaczący wzrost zainteresowania metodami detekcji PAC. Jednakże pewne cechy sygnału mogą prowadzić do wykrycia fałszywego, epifenomenalnego sprzężenia. Większość dostępnych metod nie umożliwia określenia genezy PAC, co skutkuje nadinterpretacją uzyskanych wyników.

Aby umożliwić przeprowadzenie rzetelnych badań, zaproponowano autorską metodę detekcji PAC, która uwzględnia większość rekomendacji stanowiących o detekcji właściwego sprzężenia. Oryginalna metoda nazwana Rozszerzonym Indeksie Modulacji (eMI) bazuje na klasycznej mierze sprzężenia – Indeksie Modulacji, ale dodatkowo zawiera innowacyjne rozwiązania, takie jak m.in. heurystyczny algorytm identyfikacji genezy PAC oraz zintegrowane wykresy pomocnicze, które umożliwiają interpretację uzyskanych wyników.

Głównym celem niniejszej pracy jest ewaluacja autorskiej metody detekcji sprzężeń typu faza-amplituda. Aby potwierdzić, że eMI jest narzędziem umożliwiającym rzetelną analizę PAC, przeprowadzono szereg badań mających na celu weryfikację następujących hipotez.

W pierwszej kolejności sprawdzono, czy autorska metoda poprawnie wykrywa sprzężenie PAC, a jej czułość, swoistość i zależność od parametrów analizowanego sygnału jest porównywalna z metodami referencyjnymi. Następnie zbadano, w jakim zakresie autorska metoda eMI, w przeciwieństwie do metod referencyjnych, wspiera interpretację wykrytego sprzężenia. W następnej kolejności zweryfikowano, czy informacja o fazie wolnej oscylacji, dla której występuje sprzężenie, zapewniona przez autorską metodę, stanowi użyteczną cechę charakteryzującą PAC. Na koniec sprawdzono, czy autorska metoda eMI jest użyteczna do badania dynamiki sprzężeń typu faza-amplituda.

Część badań przeprowadzono na sygnałach symulowanych, natomiast część – na sygnałach elektrofizjologicznych, głównie pochodzących od zespołu, który prowadzi obszerne badania nad działaniem subanastetycznej dawki ketaminy na szczury w Instytucie Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN.

Wyniki badań sugerują, że autorska metoda eMI jest narzędziem umożliwiającym dokładną, wielowymiarową i rzetelną analizę PAC. Ponadto pakiet ePAC zawierający autorską metodę eMI, dwie metody referencyjne oraz zestaw przykładowych skryptów i sygnałów jest powszechnie dostępny pod adresem

<https://github.com/GabrielaJurkiewicz/ePAC>.

UNIVERSITY OF WARSAW

Abstract

Biomedical Physics Division
Faculty of Physics

Study of the physiological and epiphenomenal phase-amplitude coupling phenomena

Gabriela JURKIEWICZ

Phase-amplitude coupling (PAC) is proposed to play an essential role in coordinating the processing of information on local and global scales. In recent years, the methods able to reveal trustworthy PAC has gained considerable interest. However, the intrinsic features of some signals can lead to the identification of spurious–epiphenomenal coupling. Most of the currently accessible methods do not support the discrimination of coupling origins, which results in overinterpretation of the results.

In order to assure reliable coupling analysis, we propose the original method, which includes most of the recommendations for detection of proper PAC. This easily accessible tool, called extended Modulation Index (eMI), is based on classical Modulation Index measure of coupling but additionally it contains the heuristic algorithm for differentiation between spurious and authentic PAC and integrated auxiliary plots that support further evaluation of the coupling properties.

The main goal of this dissertation is to evaluate the novel method for detection of phase-amplitude coupling. In order to confirm that eMI is a tool for reliable coupling analysis, the following hypothesis were verified by conducting appropriate studies.

First, we checked whether the novel method correctly detects the PAC coupling, and its sensitivity, specificity and dependence on the parameters of the analyzed signal is comparable with the reference methods. Next, we tested whether the eMI method, unlike the reference methods, supports the interpretation of the detected coupling. Then, we verified whether the information about the phase of slow oscillation for which there is a coupling, provided by the novel method, constitutes an advantageous feature characterizing PAC. Finally, we tested whether the eMI method is useful for studying the dynamics of phase-amplitude couplings.

Some of the studies were carried out on the simulated signals, and some on the electrophysiological signals. Most of the in vivo recordings come from a team that conducts

extensive research on the effects of a subanesthetic dose of ketamine on rats at the Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nencki PAN.

The results suggest that the novel method eMI is a tool for precise, multidimensional and reliable coupling analysis. Additionally the toolbox implementing eMI framework, the two reference PAC estimators and a set of sample scripts and signals is freely available at <https://github.com/GabrielaJurkiewicz/ePAC>.

Spis treści

Oświadczenia	iii
Streszczenie	iv
Abstract	vi
Spis rysunków	xiii
1 Wstęp	1
1.1 Fale w sygnałach elektrofizjologicznych	1
1.2 Sprzężenie typu faza-amplituda	2
1.2.1 Przegląd dotychczasowych badań	2
1.2.2 Przegląd dotychczasowych metod	3
1.3 Fizjologiczne i epifenomenalne sprzężenie typu faza-amplituda	4
1.4 Przegląd propozycji rozwiązania problemu rozróżnienia genezy sprzężeń	5
1.5 Tezy	7
1.6 Wstęp do badanych zagadnień elektrofizjologicznych	8
1.7 Schemat pracy	9
2 Metody	11
2.1 Metody referencyjne	11
2.1.1 Indeks Modulacji	12
2.1.2 Bezpośrednia Estymata PAC	13
2.1.3 Dane zastępcze dla metod referencyjnych	13
2.2 Autorska metoda	13
2.2.1 Ekstrakcja istotnej oscylacji o niskiej częstotliwości	14
2.2.2 Identyfikacja fazy	16
2.2.3 Reprezentacja sygnału w dziedzinie czas-częstotliwość	17
2.2.4 Uśrednianie wycinków mapy i sygnału wyrównanych względem maksimów oscylacji o niskiej częstotliwości	19
2.2.5 Dane zastępcze	20
2.2.6 Konstrukcja komodulogramu	20
2.2.7 Histogram fazowy w układzie współrzędnych biegunowych	21
2.2.8 Średnie widmo i widmo średniego sygnału	21
2.2.9 Przypisanie do PAC etykiet <i>Właściwe</i> i <i>Wątpliwe</i>	22
2.2.10 Prezentacja wyników	23

2.3	Statystyka	24
3	Teza 1	27
3.1	Dane	27
3.1.1	Modele właściwego sprzężenia PAC	27
	Paczki oscylacji o wysokiej częstotliwości	28
	Modulacja amplitudy	29
	Sprzężenie wielomodalne	29
3.1.2	Modele braku sprzężenia PAC	30
	Losowo rozmieszczone paczki oscylacji o wysokiej częstotliwości	30
	Filtrowany szum	31
3.1.3	Dane elektrofizjologiczne	31
3.2	Wyniki	33
3.2.1	Wybór parametrów analizy eMI	33
3.2.2	Swoistość i kontrola błędów I rodzaju	34
3.2.3	Czułość i zależność od parametrów analizowanego sygnału	35
3.2.4	Analiza danych elektrofizjologicznych	38
3.3	Wnioski	41
4	Teza 2	43
4.1	Dane	43
4.1.1	Model sprzężenia właściwego	43
4.1.2	Model sprzężenia epifenomenalnego	44
	Oscylator van der Pola	44
	Arkady	45
	Okresowo występujące funkcje Gaussa	45
	Nieokresowo występujące funkcje Gaussa	46
4.1.3	Dane elektrofizjologiczne	46
	Napad epileptyczny u szczura	47
	Rytm Mu	48
	Iniekcja ketaminy u szczura	49
4.2	Wyniki	50
4.2.1	Identyfikacja cech właściwego PAC	50
4.2.2	Identyfikacja cech epifenomenalnego PAC	52
	Wyniki dla oscylatora van der Pola	52
	Wyniki dla arkad	53
	Wyniki dla okresowo występujących funkcji Gaussa	55
	Wyniki dla nieokresowo występujących funkcji Gaussa	57
4.2.3	Analiza danych elektrofizjologicznych	58
	Wyniki dla napadu epileptycznego u szczura	59
	Wyniki dla rytmu mu	60
	Wyniki dla iniekcji ketaminy u szczura	60
4.3	Wnioski	62
4.3.1	Cechy właściwego PAC	62
4.3.2	Cechy epifenomenalnego PAC	64
4.3.3	Interpretacja wyników dla danych elektrofizjologicznych	65
4.3.4	Porównanie metod	65

4.3.5	Rekomendacje stanowiące o rzetelnej analizie	66
4.3.6	Podsumowanie	68
5	Teza 3	69
5.1	Dane	69
5.1.1	Dane z eksperymentu 1	70
5.1.2	Dane z eksperymentu 2	71
5.2	Wyniki	72
5.3	Wnioski	77
6	Teza 4	83
6.1	Dane	83
6.1.1	Pomiar rytmu oddechowego szczurów	84
6.1.2	Dane z eksperymentu 3	84
6.1.3	Dane pochodzące z eksperymentu 4	86
6.2	Wyniki	88
6.2.1	Badanie udziału rytmu oddechowego w generacji sprzężeń obser- wowanych w sygnale LFP	89
6.2.2	Badanie wpływu haloperidolu na behawioralne i elektrofizjologicz- ne efekty działania ketaminy	90
6.2.3	Badanie wpływu lokalizacji elektrod na przebieg sprzężenia z HFO	94
6.3	Wnioski	98
7	Podsumowanie	103
7.1	Wyniki badań	103
7.2	Ograniczenia metody eMI	104
7.3	Kierunek rozwoju	105
A	Publikacje Autora	107
	Bibliografia	109

Spis rysunków

- 1.1 Ilustracja różnych typów sprzężenia fal mózgowych. a) przebieg oscylacji o niskiej częstotliwości wraz z zaznaczoną fluktuacją amplitudy (czerwona linia). b-e) przebieg oscylacji o wysokiej częstotliwości. Pierwszy człon nazwy typu sprzężenia informuje o tym, jaki element wolnego rytmu jest modulatorem: (b) amplituda, (c-e) faza. Drugi człon nazwy typu sprzężenia informuje o tym, jaki element szybkiego rytmu jest przedmiotem modulacji: (b, e) amplituda, (c) faza, (d) częstotliwość. Źródło: tłumaczenie ilustracji pochodzącej z pracy Jensen and Colgin [36]. 3

- 2.1 Schemat przebiegu metody eMI. a) Składowe sygnału testowego, od góry: oscylacja o niskiej częstotliwości, paczki oscylacji o wysokiej częstotliwości, szum oraz suma wszystkich powyższych komponentów. b) Dwie ścieżki przetwarzania danych. A – Ekstrakcja sekcji o długości Δt_A (1 cykl oscylacji o niskiej częstotliwości) z mapy $E(t, f)$ i sygnału $s_{f_P}(t)$ (czarna linia) wyrównanych do maksimów sygnału zawierającego oscylacje o niskiej częstotliwości $s_{f_P}(t)$. Maksima zostały oznaczone pionowymi niebieskimi liniami. B – Ekstrakcja sekcji o długości Δt_B (3 cykle oscylacji o niskiej częstotliwości) z mapy $E(t, f)$, sygnału $s_{f_P}(t)$ (czarna linia) i surowego sygnału $s(t)$ (turkusowa linia) wyrównanych do maksimów sygnału zawierającego oscylacje o niskiej częstotliwości $s_{f_P}(t)$. Maksima zostały oznaczone pionowymi szarymi liniami. c) Ekstrakcja losowo rozciągniętych lub ściśniętych sekcji Δt_A mapy $E(t, f)$ wyrównanych do losowych faz sygnału zawierającego oscylacje o niskiej częstotliwości $s_{f_P}(t)$. Losowe fazy zostały oznaczone pionowymi niebieskimi liniami. d) Dwie ścieżki przetwarzania danych. A – Ścieżka prowadząca do obliczenia miary PAC i konstrukcji komodulogramu: górny wykres – średnia mapa $M_{f_P}^A(t, f)$, dolny wykres – na czarno uśredniona oscylacja o niskiej częstotliwości $SP_{f_P}^A(t)$. B – Ścieżka prowadząca do oznaczenia sprzężenia jako *Właściwe/Wątpliwe* i generacji wykresów pomocniczych dla danej częstotliwości fazowej f_P : górny wykres – średnia mapa $M_{f_P}^B(t, f)$ z czarnym obrysem obszarów, które przyczyniają się do istotnego statystycznie sprzężenia, dolny wykres – na turkusowo średni sygnał $S_{f_P}^B(t)$ i na czarno uśredniona oscylacja o niskiej częstotliwości $SP_{f_P}^B(t)$, wykres po prawej stronie – na czarno średnie widmo $AS_{f_P}(f)$, na turkusowo widmo średniego sygnału $SA_{f_P}(f)$, zaciemniony obszar częstotliwości amplitudowych $\langle f_A^{max} - \frac{1}{2}\Delta f_A^{max}, f_A^{max} + \frac{1}{2}\Delta f_A^{max} \rangle$ oraz f_A^{MAX} oznaczone niebieskim kółkiem. e) Komodulogram prezentujący siłę statystycznie istotnego sprzężenia oraz automatycznie przydzieloną mu etykietę *Właściwe/Wątpliwe*. Każdy oddzielny obszar sprzężenia jest obrysowany linią o innym kolorze, która stanowi legendę dla histogramów fazowych. f) Histogram fazowy w układzie współrzędnych biegunowych, przedstawia histogramy fazowe dla każdego z obrysowanych obszarów na komodulogramie. Wartości są znormalizowane przez sumaryczną liczbę zliczeń dla każdego z obszarów osobno. 15
- 2.2 Schemat przebiegu ekstrakcji istotnej oscylacji o niskiej częstotliwości. a) Estymacja gęstości widmowej mocy różowego szumu (turkusowe kropki) wraz z wyznaczonym poziomem tła (czarna linia). b) Dla każdej częstotliwości fazowej z badanego zakresu, obliczono stosunek mocy widma różowego szumu do jego poziomu tła. Procedurę powtórzono dla każdej z 200 realizacji różowego szumu. Z tak uzyskanych miar zależności stworzono rozkład, którego 95 percentyl stanowi wartość progową. c) Estymacja gęstości widmowej mocy oryginalnego sygnału (turkusowe kropki) wraz z wyznaczonym poziomem tła (czarna linia). Każda częstotliwość fazowa dla której stosunek mocy widma do poziomu tła przekracza wartość progową, uznana jest za istotną statystycznie. 16
- 3.1 Przebieg sygnału z paczkami oscylacji o wysokiej częstotliwości. *Stosunek amplitud* wynosi 0.6, *Poziom szumu* 0.1, natomiast reszta parametrów przyjmuje wartości domyślne. 28

3.2	Przebieg sygnału z modulacją amplitudy. <i>Stosunek amplitud</i> wynosi 0.6, <i>Poziom szumu</i> 0.1, natomiast reszta parametrów przyjmuje wartości domyślne.	29
3.3	Przebieg sygnału ze sprzężeniem wielomodalnym. <i>Stosunek amplitud</i> wynosi 0.6, <i>Poziom szumu</i> 0.1, <i>Liczba modów fazowych</i> 2, natomiast reszta parametrów przyjmuje wartości domyślne.	30
3.4	Przebieg sygnału z losowo rozmieszczonymi paczkami oscylacji o wysokiej częstotliwości. <i>Stosunek amplitud</i> wynosi 0.6, <i>Poziom szumu</i> 0.1, natomiast reszta parametrów przyjmuje wartości domyślne.	31
3.5	Przebieg sygnału z filtrowanym szumem. Amplituda oscylacji o wysokiej częstotliwości wynosi 0.6, <i>Poziom szumu</i> 0.1, natomiast reszta parametrów przyjmuje wartości domyślne.	31
3.6	Przebieg sygnału elektrofizjologicznego z opuszki węchowej wybranego szczura po podaniu ketaminy.	32
3.7	(a-d) Wpływ doboru parametrów metody eMI (w i Δf_P) na wyniki analizy sygnału z paczkami oscylacji o wysokiej częstotliwości (rozdział 3.1.1) wygenerowanego z <i>Poziomem szumu</i> =0.05 i innymi parametrami ustalonymi na wartości domyślne. a) Komodulogramy dla $w \in \{5, 7, 10\}$ i $\Delta f_P = 1$. b) Komodulogramy dla $w = 5$ i $\Delta f_P \in \{1, 2, 3\}$. (c-d) Wpływ doboru parametrów w (c) i Δf_P (d) na wartość miary PAC dla sprzężonej pary częstotliwości w zależności od <i>Poziomu szumu</i> . Znaczniki wskazują wartość uśrednioną po 10 powtórzeniach. e) Spektrogram danych elektrofizjologicznych (rozdział 3.1.3) w zakresie częstotliwości fazowych f_P . Rozpiętość w częstotliwości aktywności, widocznej ~ 20 min, tuż po iniekcji ketaminy, sugeruje dobór parametru $\Delta f_P = 2$ Hz.	34
3.8	Zależność procentu błędów I rodzaju od <i>Poziomu szumu</i> dla a) sygnału z losowo rozmieszczonymi paczkami oscylacji o wysokiej częstotliwości (rozdział 3.1.2) i b) filtrowanego szumu (rozdział 3.1.2). Żółta linia wyznacza oczekiwany procent fałszywych detekcji. Turkusowe kółka – metoda eMI, czarne trójkąty – referencyjna metoda MI, niebieskie trójkąty – referencyjna metoda dPAC. Pionowe słupki wskazują stosunek detekcji oznaczonych przez eMI jako <i>Właściwe</i> (turkusowa część) i <i>Wątpliwe</i> (szara część). Δf_P wynosiło 1 Hz, a $w=5$, gdyż te parametry dawały najbardziej precyzyjne wyniki dla symulowanego sprzężenia pomiędzy 6 a 77 Hz.	35
3.9	Zależność miary PAC od parametrów analizowanego sygnału z paczkami oscylacji o wysokiej częstotliwości (rozdział 3.1.1). Turkusowe kółka – metoda eMI, czarne trójkąty – metoda MI, niebieskie trójkąty – metoda dPAC. Wszystkie miary PAC zostały znormalizowane przez maksymalną wartość w badanym zakresie parametrów. Znaczniki wskazują wartość uśrednioną po 10 powtórzeniach wraz z oznaczonym zakresem SEM. Pionowe słupki wskazują procent detekcji, a dla metody eMI dodatkowo stosunek detekcji oznaczonych jako <i>Właściwe</i> (turkusowa część) i <i>Wątpliwe</i> (szara część). Δf_P wynosiło 1 Hz, a $w=5$, gdyż te parametry dawały najbardziej precyzyjne wyniki dla symulowanego sprzężenia pomiędzy 6 a 77 Hz.	37

3.10	Zależność miary PAC od parametrów analizowanego sygnału (a-d) z modulacją amplitudową (rozdział 3.1.1) i (e) ze sprzężeniem wielomodalnym (rozdział 3.1.1). Turkusowe kółka – metoda eMI, czarne trójkąty – metoda MI, niebieskie trójkąty – metoda dPAC. Wszystkie miary PAC zostały znormalizowane przez maksymalną wartość w badanym zakresie parametrów. Znaczniki wskazują wartość uśrednioną po 10 powtórzeniach wraz z oznaczonym zakresem SEM. Pionowe słupki wskazują procent detekcji, a dla metody eMI dodatkowo stosunek detekcji oznaczonych jako <i>Właściwe</i> (turkusowa część) i <i>Wątpliwe</i> (szara część). Δf_P wynosiło 1 Hz, a $w=5$, gdyż te parametry dawały najbardziej precyzyjne wyniki dla symulowanego sprzężenia pomiędzy 6 a 77 Hz.	39
3.11	Rezultaty analizy PAC danych elektrofizjologicznych (rozdział 3.1.3). Wyniki przedstawiono dla wszystkich szczurów (w kolejnych rzędach) i dla wszystkich metod (w kolejnych kolumnach): a) eMI (tu widoczne tylko sprzężenie oznaczone jako <i>Właściwe</i>), b) dPAC, c) MI. Ketamina została podana około 21 minuty. Wyniki zawierają poprawkę FDR z progiem istotności $q = 0.05$. Δf_P wynosiło 2 Hz, a $w = 7$	40
4.1	Przebieg sygnału oscylatora van der Pola wraz ze skalogramem (liczba falkowa $w=5$).	44
4.2	Przebieg sygnału arkad wraz ze skalogramem (liczba falkowa $w=5$).	45
4.3	Przebieg sygnału z okresowymi funkcjami Gaussa wraz ze skalogramem (liczba falkowa $w=5$).	46
4.4	Przebieg sygnału z nieokresowymi funkcjami Gaussa wraz ze skalogramem (liczba falkowa $w=5$).	47
4.5	Przebieg sygnału z napadem epileptycznym u szczura wraz ze skalogramem (liczba falkowa $w=5$).	48
4.6	Przebieg sygnału z rytmem mu wraz ze skalogramem (liczba falkowa $w=5$).	49
4.7	Przebieg sygnału elektrofizjologicznego po iniekcji ketaminy u szczura wraz ze skalogramem (liczba falkowa $w=7$).	49
4.8	Wyniki analizy modelu właściwego sprzężenia: sygnału z paczkami oscylacji o wysokiej częstotliwości (4.1.1). a) Symulowany sygnał na czarno i składowa sygnału o wysokiej częstotliwości na turkusowo. b) Wykresy pomocnicze metody eMI dla $f_P = 6$ Hz: górny wykres – średnia mapa z czarnym obrysem obszarów, które przyczyniają się do istotnego statystycznie sprzężenia, dolny wykres – średni sygnał na turkusowo i średnia oscylacja o niskiej częstotliwości na czarno, wykres po prawej stronie – średnie widmo na czarno i widmo średniego sygnału na turkusowo, zacieniony zakres częstotliwości wyznacza obszar najwyższej wartości MI, a lokalne maksimum widma oznaczone jest niebieskim kółkiem. c) Histogram fazowy eMI dla każdego z obrysowanych obszarów na komodulogramie oraz fragment funkcji cosinus będący wizualizacją zależności fazy od przebiegu w czasie niskoczęstotliwościowej oscylacji. d) Komodulogram metody MI. e) Komodulogram metody dPAC. f) Komodulogram metody eMI prezentujący siłę statystycznie istotnego sprzężenia oraz automatycznie przypisaną mu etykietę <i>Właściwe/Wątpliwe</i> . Δf_P wynosiło 1 Hz, a $w=5$, gdyż te parametry dawały najbardziej precyzyjne wyniki dla symulowanego sprzężenia pomiędzy 6 a 77 Hz.	51

- 4.9 Wyniki analizy dwóch modeli sprzężenia epifenomenalnego: (a-f) oscylatora van der Pola (rozdział 4.1.2) i (g-l) arkad (rozdział 4.1.2). a,g) Symulowany sygnał b,h) Wykresy pomocnicze metody eMI dla $f_P = 7$ Hz: górny wykres – średnia mapa z czarnym obrysem obszarów, które przyczyniają się do istotnego statystycznie sprzężenia, dolny wykres – średni sygnał na turkusowo i średnia oscylacja o niskiej częstotliwości na czarno, wykres po prawej stronie – średnie widmo na czarno i widmo średniego sygnału na turkusowo, zacięziony zakres częstotliwości wyznacza obszar najwyższej wartości MI, a lokalne maksimum widma oznaczone jest niebieskim kółkiem. c,i) Histogram fazowy eMI dla każdego z obrysowanych obszarów na komodulogramie oraz fragment funkcji cosinus będący wizualizacją zależności fazy od przebiegu w czasie niskoczęstotliwościowej oscylacji. d,j) Komodulogram metody MI. e,k) Komodulogram metody dPAC. f,l) Komodulogram metody eMI prezentujący siłę statystycznie istotnego sprzężenia oraz automatycznie przypisaną mu etykietę *Właściwe/Wątpliwe*. Δf_P wynosiło 2 Hz, a $w=5$ 54
- 4.10 Wyniki analizy modelu sprzężenia epifenomenalnego zawierającego okresowo występujące funkcje Gaussa (rozdział 4.1.2) o amplitudach krzywych dzwonowych równych 2 (a-f) i 5 (g-l) odchyłeń standardowych tła EEG. a,g) Symulowany sygnał b,h) Wykresy pomocnicze metody eMI dla $f_P = 10$ Hz: górny wykres – średnia mapa z czarnym obrysem obszarów, które przyczyniają się do istotnego statystycznie sprzężenia, dolny wykres – średni sygnał na turkusowo i średnia oscylacja o niskiej częstotliwości na czarno, wykres po prawej stronie – średnie widmo na czarno i widmo średniego sygnału na turkusowo, zacięziony zakres częstotliwości wyznacza obszar najwyższej wartości MI, a lokalne maksimum widma oznaczone jest niebieskim kółkiem. c,i) Histogram fazowy eMI dla każdego z obrysowanych obszarów na komodulogramie oraz fragment funkcji cosinus będący wizualizacją zależności fazy od przebiegu w czasie niskoczęstotliwościowej oscylacji. d,j) Komodulogram metody MI. e,k) Komodulogram metody dPAC. f,l) Komodulogram metody eMI prezentujący siłę statystycznie istotnego sprzężenia oraz automatycznie przypisaną mu etykietę *Właściwe/Wątpliwe*. Δf_P wynosiło 2 Hz, a $w=5$ 56
- 4.11 Wyniki analizy modelu sprzężenia epifenomenalnego zawierającego nieokresowo występujące funkcje Gaussa (rozdział 4.1.2) o amplitudach krzywych dzwonowych równych 5 odchyłeń standardowych tła EEG. a) Symulowany sygnał b) Wykresy pomocnicze metody eMI dla $f_P = 2$ Hz: górny wykres – średnia mapa z czarnym obrysem obszarów, które przyczyniają się do istotnego statystycznie sprzężenia, dolny wykres – średni sygnał na turkusowo i średnia oscylacja o niskiej częstotliwości na czarno, wykres po prawej stronie – średnie widmo na czarno i widmo średniego sygnału na turkusowo, zacięziony zakres częstotliwości wyznacza obszar najwyższej wartości MI, a lokalne maksimum widma oznaczone jest niebieskim kółkiem. c) Histogram fazowy eMI dla każdego z obrysowanych obszarów na komodulogramie oraz fragment funkcji cosinus będący wizualizacją zależności fazy od przebiegu w czasie niskoczęstotliwościowej oscylacji. d) Komodulogram metody MI. e) Komodulogram metody dPAC. f) Komodulogram metody eMI prezentujący siłę statystycznie istotnego sprzężenia oraz automatycznie przypisaną mu etykietę *Właściwe/Wątpliwe*. Δf_P wynosiło 2 Hz, a $w=5$ 58

- 4.12 Wyniki analizy danych elektrofizjologicznych: (a-f) napadu epileptycznego u szczurów (rozdział 4.1.3) i (g-l) rytmu μ (rozdział 4.1.3). a,g) Symulowany sygnał b,h) Wykresy pomocnicze metody eMI dla $f_P = 8$ Hz (b) lub $f_P = 9$ Hz (h): górny wykres – średnia mapa z czarnym obrysem obszarów, które przyczyniają się do istotnego statystycznie sprzężenia, dolny wykres – średni sygnał na turkusowo i średnia oscylacja o niskiej częstotliwości na czarno, wykres po prawej stronie – średnie widmo na czarno i widmo średniego sygnału na turkusowo, zacieniony zakres częstotliwości wyznacza obszar najwyższej wartości MI, a lokalne maksimum widma oznaczone jest niebieskim kółkiem. c,i) Histogram fazowy eMI dla każdego z obrysowanych obszarów na komodulogramie oraz fragment funkcji cosinus będący wizualizacją zależności fazy od przebiegu w czasie niskoczęstotliwościowej oscylacji. d,j) Komodulogram metody MI. e,k) Komodulogram metody dPAC. f,l) Komodulogram metody eMI prezentujący siłę statystycznie istotnego sprzężenia oraz automatycznie przypisaną mu etykietę *Właściwe/Wątpliwe*. Δf_P wynosiło 2 Hz, a $w=5$ 61
- 4.13 Wyniki analizy sygnału elektrofizjologicznego po iniekcji ketaminy (rozdział 3.1.3) u wybranego szczura i wybranej 20 s epoki 6 minut po podaniu środka psychoaktywnego. a) Symulowany sygnał b) Wykresy pomocnicze metody eMI dla $f_P = 7$ Hz: górny wykres – średnia mapa z czarnym obrysem obszarów, które przyczyniają się do istotnego statystycznie sprzężenia, dolny wykres – średni sygnał na turkusowo i średnia oscylacja o niskiej częstotliwości na czarno, wykres po prawej stronie – średnie widmo na czarno i widmo średniego sygnału na turkusowo, zacieniony zakres częstotliwości wyznacza obszar najwyższej wartości MI, a lokalne maksimum widma oznaczone jest niebieskim kółkiem. c) Histogram fazowy eMI dla każdego z obrysowanych obszarów na komodulogramie oraz fragment funkcji cosinus będący wizualizacją zależności fazy od przebiegu w czasie niskoczęstotliwościowej oscylacji. d) Komodulogram metody MI. e) Komodulogram metody dPAC. f) Komodulogram metody eMI prezentujący siłę statystycznie istotnego sprzężenia oraz automatycznie przypisaną mu etykietę *Właściwe/Wątpliwe*. Δf_P wynosiło 2 Hz, a $w=7$ 63
- 5.1 Przebieg sygnału LFP, pochodzącego z eksperymentu 1, z opuszki węchowej szczura (na górze) wraz ze skalogramem (dolny wykres): (a) przed podaniem ketaminy, (b) tuż po podaniu ketaminy, (c) około 70 minut po podaniu ketaminy. Przy konstrukcji skalogramu użyto liczby falkowej $w=7$. 70
- 5.2 Przebieg sygnału LFP, pochodzącego z eksperymentu 2, z opuszki węchowej szczura (na górze) wraz ze skalogramem (dolny wykres): (a) przed podaniem ketaminy, (b) tuż po podaniu ketaminy, (c) około 30 minut po podaniu ketaminy. Przy konstrukcji skalogramu użyto liczby falkowej $w=7$. 72

- 5.3 Wyniki analizy PAC danych z eksperymentu 1. a) Przebieg w czasie wykrytego *Właściwego* sprzężenia dla wybranego szczura. Do każdej epoki i do każdej częstotliwości amplitudowej przypisane zostało maksimum miary PAC, wybrane spośród wyników dla wszystkich badanych częstotliwości fazowych (2-10 Hz). b) Przebieg w czasie średniej siły sprzężenia (punkt) i jej odchylenia standardowego (zaciemiony obszar wokół punktu) oddzielnie dla pasma HFO (kolor niebieski) i gamma (kolor turkusowy). Zakresy częstotliwości pasma HFO i gamma zostały dobrane dla każdego szczura oddzielnie. c) Histogramy fazowe obrazujące rozkład faz PAC oddzielnie dla pasma HFO (kolor niebieski) i gamma (kolor turkusowy), dla trzech 15-minutowych fragmentów zaciemionych na szaro na skali czasu. Wyniki znormalizowane są przez sumaryczną liczbę zliczeń. Poniżej fragment funkcji cosinus będący wizualizacją zależności fazy od przebiegu w czasie niskoczęstotliwościowej oscylacji. 74
- 5.4 Wyniki analizy PAC danych z eksperymentu 2. a) Przebieg w czasie wykrytego *Właściwego* sprzężenia dla wybranego szczura. Do każdej epoki i do każdej częstotliwości amplitudowej przypisane zostało maksimum miary PAC, wybrane spośród wyników dla wszystkich badanych częstotliwości fazowych (2-10 Hz). b) Przebieg w czasie średniej siły sprzężenia (punkt) i jej odchylenia standardowego (zaciemiony obszar wokół punktu) oddzielnie dla pasma HFO (kolor niebieski) i gamma (kolor turkusowy). Zakresy częstotliwości pasma HFO i gamma zostały dobrane dla każdego szczura oddzielnie. c) Histogramy fazowe obrazujące rozkład faz PAC oddzielnie dla pasma HFO (kolor niebieski) i gamma (kolor turkusowy), dla trzech 15-minutowych fragmentów zaciemionych na szaro na skali czasu. Wyniki znormalizowane są przez sumaryczną liczbę zliczeń. Poniżej fragment funkcji cosinus będący wizualizacją zależności fazy od przebiegu w czasie niskoczęstotliwościowej oscylacji. 75
- 5.5 Wykresy pomocnicze analizy PAC danych z eksperymentu 1 (a-c) i 2 (d-f) dla trzech wybranych epok: górny wykres – średnia mapa czas-częstotliwość z czarnym obrysem obszarów, które przyczyniają się do istotnego statystycznie sprzężenia, dolny wykres – średni sygnał na turkusowo i średnia oscylacja o niskiej częstotliwości na czarno, wykres po prawej stronie – średnie widmo na czarno i widmo średniego sygnału na turkusowo, zaciemiony zakres częstości wyznacza obszar najwyższej wartości MI, a lokalne maksimum oznaczone jest niebieskim kółkiem. a) Epoka ~18 minuty sygnału, wykresy pomocnicze dla $f_P = 6$ Hz. b) Epoka ~24 minuty sygnału, wykresy pomocnicze dla $f_P = 6$ Hz. c) Epoka ~55 minuty sygnału, wykresy pomocnicze dla $f_P = 7$ Hz. d) Epoka ~11 minuty sygnału, wykresy pomocnicze dla $f_P = 7$ Hz. e) Epoka ~27 minuty sygnału, wykresy pomocnicze dla $f_P = 6$ Hz. f) Epoka ~91 minuty sygnału, wykresy pomocnicze dla $f_P = 6$ Hz. 76

- 5.6 Wyniki analizy zależności średniej fazy PAC od częstotliwości amplitudowej oddzielnie dla pasma HFO (kolor niebieski) i gamma (kolor turkusowy) dla danych z eksperymentu 1. a) Wykresy przedstawiające zależność średniej fazy PAC od częstotliwości amplitudowej dla każdej epoki (pojedyncza linia) dla każdego szczura (kolejne wykresy). Półprzezroczyste linie zostały nałożone na siebie aby zobrazować zarówno trend globalny jak i rozrzut między epokami. b) Rozkład współczynników kierunkowych funkcji liniowej opisującej zależność średniej fazy PAC od częstotliwości amplitudowej dla każdej epoki i dla każdego szczura oddzielnie. 78
- 5.7 Wyniki analizy zależności średniej fazy PAC od częstotliwości amplitudowej oddzielnie dla pasma HFO (kolor niebieski) i gamma (kolor turkusowy) dla danych z eksperymentu 2. a) Wykresy przedstawiające zależność średniej fazy PAC od częstotliwości amplitudowej dla każdej epoki (pojedyncza linia) dla każdego szczura (kolejne wykresy). Półprzezroczyste linie zostały nałożone na siebie, aby zobrazować zarówno trend globalny jak i rozrzut między epokami. b) Rozkład współczynników kierunkowych funkcji liniowej opisującej zależność średniej fazy PAC od częstotliwości amplitudowej dla każdej epoki i dla każdego szczura oddzielnie. 79
- 6.1 Przebieg sygnału z termopary (na górze), pochodzącego z eksperymentu 2, wraz ze skalogramem (dolny wykres): (a) przed podaniem ketaminy, (b) tuż po podaniu ketaminy, (c) około 30 minut po podaniu ketaminy. Przy konstrukcji skalogramu użyto liczby falkowej $w=7$ 85
- 6.2 Przebieg sygnału LFP z opuszki węchowej szczura (na górze), z eksperymentu 3, wraz ze skalogramem (dolny wykres): (a) po podaniu halo-peridolu ale przed podaniem ketaminy, (b) tuż po podaniu ketaminy, (c) około 40 minut po podaniu ketaminy. Przy konstrukcji skalogramu użyto liczby falkowej $w=7$ 87
- 6.3 Przebieg sygnału LFP z opuszki węchowej szczura (na górze), z eksperymentu 4, wraz ze skalogramem (dolny wykres): (a) przed podaniem ketaminy, (b) tuż po podaniu ketaminy, (c) około 20 minut po podaniu ketaminy. Przy konstrukcji skalogramu użyto liczby falkowej $w=7$ 88
- 6.4 Wyniki analizy PAC (a-c) względem LFP oraz (d-f) względem oddechu dla eksperymentu 2. a,d) Przebieg w czasie wykrytego *Właściwego* sprzężenia dla wybranego szczura. Do każdej epoki i do każdej częstotliwości amplitudowej przypisane zostało maksimum miary PAC, wybrane spośród wyników dla wszystkich badanych częstotliwości fazowych (2-10 Hz). b,e) Przebieg w czasie średniej siły sprzężenia (punkt) i jej odchylenia standardowego (zaciemiony obszar wokół punktu) dla pasma HFO (kolor niebieski) i gamma (kolor turkusowy). Zakresy częstotliwości pasma HFO i gamma zostały dobrane dla każdego szczura oddzielnie. c,f) Przebieg w czasie średniej dominującej częstotliwości fazowej (punkt) i jej odchylenia standardowego (zaciemiony obszar wokół punktu) dla pasma HFO (kolor niebieski) i gamma (kolor turkusowy). Szarymi strzałkami oznaczono fragmenty, które zostały poddane analizom statystycznym opisanym w sekcji 6.2.2. 91

- 6.5 Wyniki analizy PAC (a-c) względem LFP oraz (d-f) względem oddechu dla eksperymentu 3. a,d) Przebieg w czasie wykrytego *Właściwego* sprzężenia dla wybranego szczura. Do każdej epoki i do każdej częstotliwości amplitudowej przypisane zostało maksimum miary PAC, wybrane spośród wyników dla wszystkich badanych częstotliwości fazowych (2-10 Hz). b,e) Przebieg w czasie średniej siły sprzężenia (punkt) i jej odchylenia standardowego (zaciemniony obszar wokół punktu) dla pasma HFO (kolor niebieski) i gamma (kolor turkusowy). Zakresy częstotliwości pasma HFO i gamma zostały dobrane dla każdego szczura oddzielnie. c,f) Przebieg w czasie średniej dominującej częstotliwości fazowej (punkt) i jej odchylenia standardowego (zaciemniony obszar wokół punktu) dla pasma HFO (kolor niebieski) i gamma (kolor turkusowy). Szarymi strzałkami oznaczono fragmenty poddane analizom statystycznym. 93
- 6.6 Rozkłady dominujących częstotliwości fazowych dla analizy względem LFP z eksperymentu 2 (ciągła linia), gdzie podana była tylko ketamina, oraz z eksperymentu 3 (kropkowana linia), gdzie najpierw nastąpiła iniekcja haloperidolu a dopiero potem ketaminy. Rozkłady dla pasma gamma (a) pochodzą z wycinka sygnału obejmującego 15 minut tuż przed podaniem ketaminy, natomiast rozkłady dla pasma HFO (b) pochodzą z fragmentu sygnału obejmującego 15 minut tuż po podaniu ketaminy. . . . 94
- 6.7 Przebieg w czasie wykrytego *Właściwego* sprzężenia dla sygnałów LFP, pochodzących z eksperymentu 4, z różnych struktur mózgu wybranego szczura: (a) opuszka węchowa-OB, (b) prążkowie brzuszne-VS, (c) kora przedczołowa-PFC. Do każdej epoki i do każdej częstotliwości amplitudowej przypisane zostało maksimum miary PAC, wybrane spośród wyników dla wszystkich badanych częstotliwości fazowych (2-10 Hz). 95
- 6.8 Przebieg w czasie średniej siły sprzężenia dla pasma HFO (punkt) i jej odchylenia standardowego (zaciemniony obszar wokół punktu) dla sygnałów pochodzących z różnych struktur mózgu z eksperymentu 4: (a) opuszka węchowa-OB, (b) prążkowie brzuszne-VS, (c) kora przedczołowa-PFC. Szarą strzałką oznaczono fragment poddany analizie statystycznej. 96
- 6.9 Przebieg w czasie średniej dominującej częstotliwości fazowej dla pasma HFO (punkt) i jej odchylenia standardowego (zaciemniony obszar wokół punktu) dla analizy sygnałów z eksperymentu 4, pochodzących z różnych struktur mózgu: (a) opuszka węchowa-OB, (b) prążkowie brzuszne-VS, (c) kora przedczołowa-PFC. Szarą strzałką oznaczono fragment poddany analizie statystycznej. 97
- 6.10 Wyniki eksperymentu 4. a) Uśrednione wyniki siły sprzężenia w paśmie HFO dla 15 minut sygnału tuż po podaniu ketaminy, przy podziale na różne struktury mózgu (opuszkę węchową-OB, prążkowie brzuszne-VS i korę przedczołową) wraz z zaznaczonym odchyleniem standardowym średniej. b) Przebieg średniej dominującej częstotliwości fazowej w czasie dla pasma HFO, z 15-minutowego odcinka sygnału rozpoczynającego się 4 minuty po podaniu ketaminy, przy podziale na różne struktury mózgu: OB (kolor turkusowy), VS (kolor niebieski), PFC(kolor czarny). Ciągłe linie wyznaczają proste dopasowane do każdej z grup oddzielnie. 98

- LFP** Lokalne potencjały polowe (ang. Local Field Potential)
- ECoG** Elektrokortykogram (ang. Electrocorticogram)
- EEG** Elektroencefalogram (ang. Electroencephalogram)
- CFC** Sprzężenie między pasmami częstotliwości (ang. Cross-Frequency Coupling)
- PAC** Sprzężenie typu faza-amplituda (ang. Phase-amplitude coupling)
- MVL** Średnia długość wektora (ang. Mean Vector Length)
- MI** Indeks Modulacji (ang. Modulation Index)
- eMI** Rozszerzony Indeks Modulacji (ang. Extended Modulation Index)
- HFO** Oscylacje o wysokiej częstotliwości (ang. High Frequency Oscillations)
- OB** Opuszka węchowa (ang. Olfactory Bulb)
- VS** Prążkowie brzuszne (ang. Ventral Striatum)
- dPAC** Bezpośrednia Estymata PAC (ang. direct PAC Estimate)
- CWT** Ciągła Transformata Falkowa (ang. Continous Wavelet Transform)
- FDR** kontrola oczekiwanej proporcji błędów I rodzaju (ang. False Discovery Rate)
- PFC** kora przedczołowa (ang. Prefrontal Cortex)

Rozdział 1

Wstęp

1.1 Fale w sygnałach elektrofizjologicznych

Sygnał elektrofizjologiczny to zapis zmian pola elektromagnetycznego wywołanych czynnością komórek, tkanek lub narządów organizmów żywych. Analiza takich sygnałów umożliwia m.in. badanie jednego z najważniejszych, a zarazem najbardziej enigmatycznych organów jakim jest mózg. Aktywność tego narządu może przejawiać się na wiele sposobów. Jednym z nich są periodyczne zmiany rejestrowanego napięcia, powstające na skutek synchronicznej aktywności wielu komórek nerwowych, nazywane również rytmem lub falami mózgowymi.

Wspomniane fale mózgowe można obserwować zarówno w sygnałach pochodzących z lokalnych grup komórek nerwowych (lokalne potencjały polowe, *LFP* - ang. *Local Field Potential*), jak i w zapisach z powierzchni kory mózgowej (elektrokortykogram, *ECoG* - ang. *Electrocorticogram*) oraz powierzchni skóry głowy (elektroencefalogram, *EEG* - ang. *Electroencephalogram*). Tradycyjnie rytmy dzieli się ze względu na przyjmowany zakres częstotliwości. Można wśród nich wyróżnić fale delta o częstotliwości 1-4 Hz, fale teta dla zakresu 4-7 Hz, fale alfa obejmujące 8-13 Hz, fale beta o częstotliwości 13-30 Hz oraz fale gamma dla częstotliwości wyższych niż 30 Hz [57].

Pierwszej rejestracji fal mózgowych u człowieka – rytmu alfa i beta, dokonał w 1925 roku neurolog Hans Berger. Dopiero kilka lat później, gdy elektroencefalografia została ugruntowana, nastąpił wzrost zainteresowania tematyką fal mózgowych [43]. Początkowo fale mózgowe i ich funkcjonalność badane były w każdym przedziale częstotliwości osobno. Z czasem wnioski płynące z wyników badań przybrały kształt hipotezy mówiącej o tym, że bardziej złożone procesy poznawcze, takie jak percepcja i pamięć, a nawet świadomość mogą być związane z interakcją współwystępujących rytmów [10, 78].

Czas trwania jednego cyklu fal mózgowych jest ograniczony przez rozmiar zaangażowanej w nie sieci połączeń neuronalnych [9]. Rytm o wysokich częstotliwościach występuje lokalnie, natomiast niskoczęstotliwościowe fale angażują rozległe sieci neuronalne [20, 71]. Z tego powodu interakcja rytmów o niskiej i wysokiej częstotliwości może tworzyć funkcjonalny mechanizm integracji i organizacji informacji dla różnych skal czasowych i przestrzennych [11, 15, 81].

1.2 Sprzężenie typu faza-amplituda

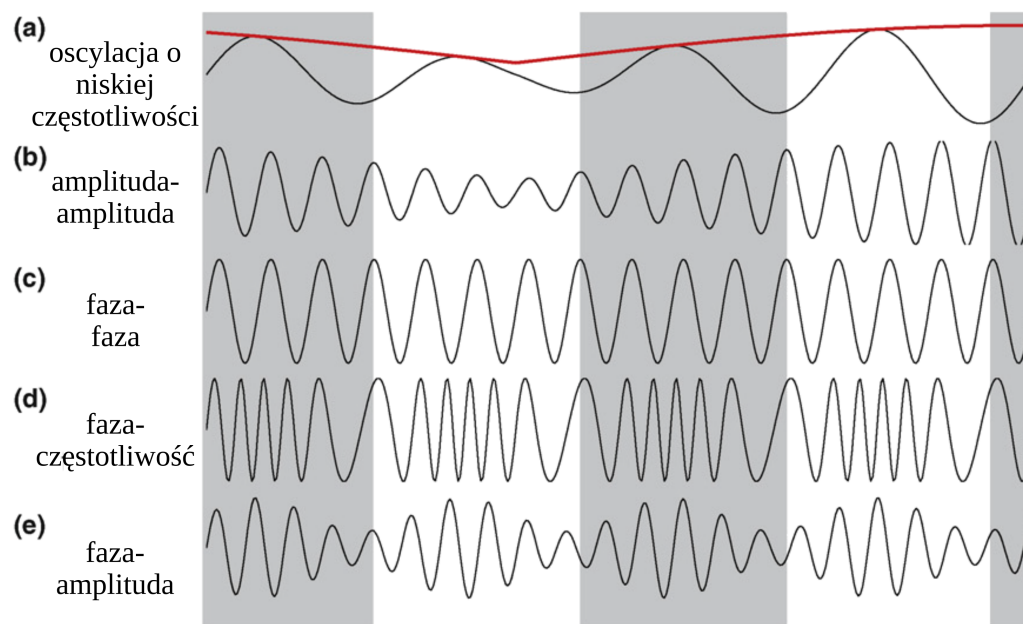
Interakcja pomiędzy rytмами (*CFC* - ang. *Cross-Frequency Coupling* – sprzężenie między pasmami częstotliwości) może przyjmować różne formy. W zależności od tego, jakie elementy oscylacji o niskiej i wysokiej częstotliwości są ze sobą powiązane, wyróżniamy [36, 37]:

- sprzężenie typu amplituda-amplituda
- sprzężenie typu faza-faza
- sprzężenie typu faza-częstotliwość
- sprzężenie typu faza-amplituda (*PAC* - ang. *Phase-Amplitude Coupling*)

Pierwszy człon nazwy odnosi się do wolniejszego rytmu – modulatora, natomiast drugi – do rytmu wysokoczęstotliwościowego, który jest przedmiotem modulacji. Na rysunku 1.1 przedstawiono ilustrację różnych typów CFC. Tematem niniejszej pracy jest sprzężenie typu faza-amplituda, w którym to faza oscylacji o niskiej częstotliwości moduluje amplitudę oscylacji o wysokiej częstotliwości (rys. 1.1 e).

1.2.1 Przegląd dotychczasowych badań

Najczęściej występującym i najszerzej badanym typem sprzężenia jest PAC. Sprzężenie typu faza-amplituda pierwszy raz zostało opisane w 1995 roku. Podczas analizy zapisu LFP z hipokampa swobodnie poruszającego się szczura Bragin et al. [8] zaobserwował, że epizody eksploracji i węszenia powiązane były z pojawieniem się rytmu teta i wzrostem amplitudy oscylacji gamma dla dodatniej połówki cyklu oscylacji teta. W tym samym roku Lisman and Idiart [47] zaproponowali model pamięci krótkotrwałej opierający się na sprzężeniu typu faza-amplituda pomiędzy oscylacjami teta i gamma.



TRENDS in Cognitive Sciences

RYSUNEK 1.1. Ilustracja różnych typów sprzężenia fal mózgowych. a) przebieg oscylacji o niskiej częstotliwości wraz z zaznaczoną fluktuacją amplitudy (czerwona linia). b-e) przebieg oscylacji o wysokiej częstotliwości. Pierwszy człon nazwy typu sprzężenia informuje o tym, jaki element wolnego rytmu jest modulatorem: (b) amplituda, (c-e) faza. Drugi człon nazwy typu sprzężenia informuje o tym, jaki element szybkiego rytmu jest przedmiotem modulacji: (b, e) amplituda, (c) faza, (d) częstotliwość. Źródło: tłumaczenie ilustracji pochodzącej z pracy Jensen and Colgin [36].

W kolejnych latach PAC zaobserwowano zarówno w sygnałach LFP pochodzących od szczura [8, 47, 72], jak i w zapisach ECoG oraz EEG u ludzi [3, 14, 22, 40]. Przypisano mu udział w szeregu funkcji poznawczych oraz w przetwarzaniu informacji. Badania wykazały, że sprzężenie typu faza-amplituda odgrywa ważną rolę w procesie nauki i zapamiętywania [3, 14, 46, 73], w nawigacji przestrzennej [72], w detekcji sygnałów sensorycznych [27] oraz w uwadze selektywnej [68].

W ostatnich latach zwrócono uwagę również na patologię sprzężeń towarzyszącą różnym chorobom neurologicznym m.in. chorobie Parkinsona, Alzheimer, schizofrenii oraz zaburzeniom ze spektrum autyzmu. Duże zainteresowanie tym tematem wynika z potencjalnej możliwości wykorzystania analizy sprzężenia typu faza-amplituda do diagnozy i leczenia zaburzeń lub tworzenia strategii prewencyjnych [7, 21, 41, 84].

1.2.2 Przegląd dotychczasowych metod

Aby wyestymować siłę sprzężenia pomiędzy fazą oscylacji o niskiej częstotliwości a amplitudą oscylacji o wysokiej częstotliwości, najpierw trzeba wyodrębnić z sygnału oscylacje

i ich elementy składowe: fazę i amplitudę. Większość dostępnych metod korzysta z filtrów pasmowo-przepustowych oraz transformaty Hilberta [14, 60, 72]. Pozostałe metody stosują takie rozwiązania jak: transformata falkowa [12, 56], rozkład gęstości energii w przestrzeni czas-częstotliwość o zredukowanych interferencjach (ang. *Reduced Interference Distribution*) [55] lub model przestrzeni stanów (ang. *State-Space Model*) [70].

Zależność pomiędzy fazą oscylacji o niskiej częstotliwości a amplitudą oscylacji o wysokiej częstotliwości można oszacować jako skupisko wektorów zespolonych o długości i kącie reprezentujących odpowiednio amplitudę i fazę. Średnią długość wektora (MVL - ang. *Mean Vector Length*), jako miarę sprzężenia PAC, zaproponował Canolty et al. [14]. Inaczej do tego problemu podszedł Mormann et al. [54], który zaproponował, aby miarą PAC była zgodność pomiędzy fazą oscylacji o niskiej częstotliwości a fazą przebiegu mocy oscylacji o wysokiej częstotliwości. Penny et al. [60] do estymacji siły PAC zastosował dobroć dopasowania modelu liniowego opisującego amplitudę oscylacji o wysokiej częstotliwości poprzez kombinację funkcji sinus i cosinus o argumentie będącym fazą oscylacji o niskiej częstotliwości. Natomiast według Tort et al. [74] siłę sprzężenia – indeks modulacji (*MI* - ang. *Modulation Index*) – można oszacować jako stopień odejścia rozkładu średniej amplitudy wysokoczęstotliwościowej oscylacji przypadającej na przedziały fazy niskoczęstotliwościowej oscylacji od rozkładu płaskiego.

Większość metod prezentuje wyniki w postaci komodulogramu, t.j. kolorowej mapy, gdzie kolor reprezentuje siłę sprzężenia, pozioma oś oznacza częstotliwość oscylacji, której faza jest modulatorem (częstotliwość fazowa), natomiast pionowa oś odpowiada częstotliwości oscylacji, której amplituda podlega modulacji (częstotliwość amplitudowa).

Istnieje wiele publikacji porównujących działanie wybranych metod pod kątem czułości, swoistości i odporności na zakłócenia [12, 29, 56, 58, 60, 66, 70, 74]. Prace te przedstawiają zbiór stosunkowo dobrze działających metod, z których każda ma swoje wady i zalety, jednakże nie wskazują na jedną uniwersalną i optymalną miarę PAC.

1.3 Fizjologiczne i epifenomenalne sprzężenie typu faza-amplituda

W ostatnich latach naukowcy Kramer et al. [42], van Driel et al. [76] oraz Aru et al. [2] zwrócili uwagę na istnienie potencjalnego problemu, który może mieć wpływ na interpretację analizy PAC oraz na kryteria oceny miary sprzężenia. Zauważyli oni, że należy rozróżnić wzrost miary PAC, który pochodzi od prawdziwego sprzężenia dwóch fizjologicznych procesów, od tego, który jest epifenomenem – zjawiskiem wtórnym.

Fizjologiczne PAC powinno być przejawem współzależności, sprzężenia dwóch oddzielnych procesów fizjologicznych: jednego – prowadzącego do powstawania oscylacji o niskiej częstotliwości oraz drugiego – przejawiającego się jako oscylacje o wysokiej częstotliwości. Natomiast niewłaściwe, epifenomenalne sprzężenie może powstać, gdy fale o niskiej i wysokiej częstotliwości nie są zależne od siebie tylko od wspólnego źródła, np. bodźca zewnętrznego lub wewnętrznego. Takie fałszywe detekcje sprzężenia mogą pojawić się w doświadczeniach, w których schemat eksperymentalny zawiera wielokrotne powtórzenia reakcji na bodziec [79].

Sprzężenie epifenomenalne może również zostać wykryte w przypadku cyklicznych wystąpień krótkotrwałych, szerokopasmowych struktur, które wcale nie muszą być oscylacyjne [76]. Te struktury prowadzą do niejednorodnego rozkładu amplitud składowych wysokoczęstotliwościowych przypadających na przedziały fazy niskoczęstotliwościowej oscylacji. Przykłady tego zjawiska zaprezentowane zostały w pracy Gerber et al. [24].

Do fałszywej detekcji PAC mogą prowadzić również cykliczne procesy nieliniowe, których przykładem jest oscylator Van der Pola opisany w pracy Aru et al. [2]. W tym przypadku obecność sprzężenia jest tylko innym sposobem opisu specyficznego kształtu sygnału, na który składają się nisko- i wysokoczęstotliwościowe komponenty w konkretnej relacji fazowej. Ta zależność fazowa oscylacji o różnych częstotliwościach jest skutkiem nieliniowej dynamiki systemu generującego – obydwa komponenty mają to samo źródło i nie pochodzą z oddzielnych procesów oscylacyjnych.

1.4 Przegląd propozycji rozwiązania problemu rozróżnienia genezy sprzężeń

W odpowiedzi na powstały problem, Aru et al. [2] opracował listę warunków, które należy spełnić, aby wykryte sprzężenie uznać za właściwe – fizjologiczne. Poniżej przedstawiono zbiór wspomnianych rekomendacji:

Obecność oscylacji Jednym z warunków koniecznych do wystąpienia właściwego PAC jest obecność oscylacji o niskiej i wysokiej częstotliwości o wyraźnym maksimum w widmie.

Wybór zakresu częstotliwości Zakres częstotliwości pasma oscylacji o niskiej częstotliwości powinien być tak dobrany, aby wyizolować energię powiązaną z badanym komponentem oscylacyjnym. W przypadku procesów o stabilnej częstotliwości szerokość pasma można oszacować na podstawie szerokości pików w widmie. Natomiast

zakres częstotliwości pasma oscylacji o wysokiej częstotliwości powinien być na tyle szeroki, aby objąć piki boczne $\{f_A - f_P, f_A + f_P\}$ powstałe w wyniku modulacji amplitudy przez fazę oscylacji o niskiej częstotliwości.

Interpretacja fazy chwilowej Sensowna analiza fazy chwilowej wymaga jej monotonicznego wzrostu w czasie. Wszelkie zakłócenia ciągłości fazy powinny zostać uważnie zbadane.

Dokładność Należy oszacować dokładność metod stosowanych do wyznaczania fazy i amplitudy chwilowej sygnału. W przypadku wystąpienia efektów brzegowych należy odrzucić skrajne fragmenty sygnału zawierające zakłamania estymacji gęstości energii.

Badanie obecności nieliniowości Nieliniowe procesy mogą generować fałszywe sprzężenie typu faza-amplituda. Z tego względu należy zbadać wpływ struktury harmonicznej, sprzężeń typu faza-faza i amplituda-amplituda na obserwowany PAC.

Badanie niestacjonarności związanych z bodźcem W przypadku eksperymentów z reakcją na bodziec o znanym czasie wystąpienia, należy porównać rozrzut opóźnień maksimum paczki oscylacji o wysokiej częstotliwości względem bodźca i względem ustalonej fazy oscylacji o niskiej częstotliwości. Taka analiza pozwoli na stwierdzenie, czy zależność nisko- i wysokoczęstotliwościowej oscylacji ma swoje źródło we wspólnym bodźcu, co może skutkować fałszywym sprzężeniem PAC.

Struktura czasowa Wgląd w strukturę czasową sprzężenia może pomóc w określeniu jego genezy.

Dane zastępcze Procedura generacji danych zastępczych powinna jak najmniej ingerować w dynamikę fazy i amplitudy.

Specyficzność efektów Podczas porównywania miary PAC dla różnych warunków eksperymentalnych należy uwzględnić możliwe różnice w mocy sprzężonych pasm częstotliwości.

Autorzy późniejszych publikacji nie zawsze uwzględniają powyższe rekomendacje, co skutkuje nadinterpretacją uzyskanych wyników. Z kolei liczba gotowych i dostępnych rozwiązań – metod uwzględniających warunki Aru et al. [2] – jest niewielka.

Soulat et al. [70] zaproponował rozwiązanie problemu detekcji fałszywych sprzężeń poprzez wykorzystanie modelu przestrzeni stanów do estymacji oscylacyjnych komponentów sygnału. Dzięki temu zabiegowi nie ma konieczności przejścia do dziedzin częstotliwości, które to wiąże się z dekompozycją nieliniowych struktur na bogaty zbiór

komponentów oscylacyjnych. Niestety, na chwilę obecną autorzy nie udostępniają implementacji tej metody.

Velarde et al. [77] stworzył wyspecjalizowane narzędzie programistyczne (ang. *Time-Locked Index*) mierzące zawartość struktury harmonicznej w sygnale, która to może być źródłem epifenomenalnego sprzężenia. Takie rozwiązanie może być jednak tylko dodatkiem do standardowej analizy PAC.

Voytek et al. [79] zaproponował częściowe rozwiązanie problemu, oferując metodę badającą sprzężenie w danych pochodzących z eksperymentu z wielokrotnie powtórzoną reakcją na bodziec. W ramach analizy ustalany jest procent wariancji amplitudy oscylacji o wysokiej częstotliwości wytłumaczonej fazą oscylacji o niskiej częstotliwości oraz prawdopodobieństwo, z jakim uzyskane sprzężenie nie jest właściwe i pochodzi od współzależności nisko- i wysokoczęstotliwościowych oscylacji od bodźca. Takie rozwiązanie można jednak stosować tylko w przypadku konkretnego schematu eksperymentalnego.

Dodatkowo, do pierwszych dwóch rekomendacji odnieśli się Samiee and Baillet [66], tworząc metodę *tPAC* (ang. *time-resolved phase-amplitude coupling*). Autorzy zawarli warunek na występowanie oscylacji o niskiej częstotliwości zarówno w sygnale, jak i w przebiegu modulacji amplitudy oscylacji o wysokiej częstotliwości oraz zwrócili uwagę na odpowiednią szerokość pasma przenoszenia wysokich częstotliwości.

1.5 Tezy

Powyżej opisane zostały podstawy zjawiska sprzężenia PAC oraz problemy wiążące się z rozróżnieniem jego genezy. Przegląd dotychczasowej literatury wykazuje mnogość metod służących do detekcji sprzężenia, jednak brak optymalnego rozwiązania, które umożliwiłoby jego interpretację. Aby umożliwić przeprowadzenie rzetelnych badań, zaproponowano autorską metodę detekcji PAC, która uwzględnia większość rekomendacji Aru et al. [2] stanowiących o detekcji właściwego sprzężenia. Oryginalna metoda, nazwana Rozszerzonym Indekssem Modulacji (*eMI* - ang. *Extended Modulation Index*), zawiera innowacyjne rozwiązania, takie jak m.in. heurystyczny algorytm identyfikacji genezy PAC oraz zintegrowane wykresy pomocnicze, które umożliwiają pogłębioną interpretację uzyskanych wyników. W niniejszej pracy przeprowadzono szereg badań, które mają na celu weryfikację następujących tez:

1. Autorska metoda poprawnie wykrywa sprzężenie PAC, a jej czułość, swoistość i zależność od parametrów analizowanego sygnału jest porównywalna z metodami referencyjnymi.

2. Autorska metoda eMI, w przeciwieństwie do metod referencyjnych, wspiera interpretację wykrytego sprzężenia.
3. Informacja o fazie wolnej oscylacji, dla której występuje sprzężenie, zapewniona przez autorską metodę, stanowi użyteczną cechę charakteryzującą PAC.
4. Autorska metoda eMI jest użyteczna do badania dynamiki sprzężeń typu faza-amplituda.

1.6 Wstęp do badanych zagadnień elektrofizjologicznych

Duża część danych elektrofizjologicznych pochodzi od zespołu z Instytutu Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN, który prowadzi obszerne badania nad działaniem subanastetycznej dawki ketaminy na szczury. Poniżej podane zostały podstawowe informacje stanowiące wprowadzenie do tematyki tych badań.

Ketamina to środek psychoaktywny stosowany jako zwierzęcy model ostrej psychozy u ludzi [1], a od niedawna również jako eksperymentalny lek na depresję [44]. Antagonista receptora NMDA, jakim jest ketamina, może wpływać na fale mózgowe, w tym rytmy teta i gamma, których zmiany są silnie powiązane ze schizofrenią i depresją [33, 45, 75]. Co ciekawe, to właśnie silnie psychotyczne efekty działania ketaminy mogą być kluczowe dla generacji długotrwałej skuteczności antydepresyjnej [4, 48]. Jednak do tej pory mechanizm wpływu tego antagonisty NMDA na funkcjonowanie sieci neuronalnych pozostaje niewyjaśniony.

Dotychczasowe badania LFP [13, 17, 28, 31, 32, 62] wykazały, że ketamina, podana szczurom w subanastetycznej dawce, wywołuje silny stan psychotyczny (nasiloną aktywność eksploracyjną, lokomocję i przyspieszony oddech) oraz wzrost mocy oscylacji o wysokiej częstotliwości 130-180 Hz, tzw. *HFO* (ang. *High Frequency Oscillations*), w wielu strukturach mózgu [13, 17, 31, 64]. Postuluje się, że to opuszka węchowa (*OB* - ang. *Olfactory Bulb*) jest ich źródłem przyczyniającym się do obserwacji HFO w prążkowiu brzuszonym (*VS* - ang. *Ventral Striatum*), które z kolei dokonuje projekcji na wiele odległych regionów mózgu [34].

Analiza zapisów LFP z obszarów korowych i prążkowia brzusznego pozwoliła zaobserwować, że amplituda oscylacji HFO wywołanych ketaminą sprzęga się z fazą wolniejszego rytmu delta (1-3 Hz) lub teta (4-8 Hz) [13, 17, 64, 83]. Wiadome jest również, że przy braku ingerencji farmakologicznej, podczas podstawowej swobodnej aktywności szczurów, w opuszce węchowej można zaobserwować sprzężenie oscylacji gamma (40-80 Hz) z rytmem teta (praca przeglądowa [39]).

1.7 Schemat pracy

Całość pracy ma za zadanie wykazać, że autorska metoda eMI umożliwia badanie zjawiska fizjologicznego i epifenomenalnego sprzężenia typu faza-amplituda w sygnałach elektrofizjologicznych. W tym celu dalsza część pracy została zorganizowana w następujący sposób. **Rozdział 2** zawiera szczegółowy opis dwóch metod referencyjnych oraz techniczne aspekty metodologii autorskiej metody eMI. W **Rozdziale 3** zweryfikowana została hipoteza mówiąca o tym, że autorska metoda poprawnie wykrywa sprzężenie PAC, a jej czułość, swoistość i zależność od parametrów analizowanego sygnału jest porównywalna z metodami referencyjnymi. W **Rozdziale 4** zbadano tezę mówiącą o tym, że autorska metoda eMI, w przeciwieństwie do metod referencyjnych, wspiera interpretację wykrytego sprzężenia. **Rozdział 5** zawiera badania stwierdzające, czy informacja o fazie wolnej oscylacji, dla której występuje sprzężenie, zapewniona przez autorską metodę, stanowi użyteczną cechę charakteryzującą PAC. W **Rozdziale 6** zweryfikowana została hipoteza mówiąca o tym, że autorska metoda eMI jest użyteczna do badania dynamiki sprzężeń typu faza-amplituda. Ostatni **Rozdział 7** zawiera podsumowanie wyników, dyskusję i wnioski.

Rozdział 2

Metody

Wszystkie opisane poniżej metody detekcji PAC zostały zaimplementowane w środowisku Matlab® jako darmowa wtyczka do powszechnie używanego narzędzia o nazwie EEGLAB. Pakiet, nazwany *ePAC* (ang. *extended Phase-Amplitude Coupling*), zawiera autorską metodę, dwie metody referencyjne oraz zestaw przykładowych skryptów i sygnałów¹. W poniższych podrozdziałach zostaną opisane podstawy teoretyczne i techniczne szczegóły implementacji każdej z metod oraz użyte narzędzia statystyczne.

Na potrzeby poniższych opisów, $s(t)$ oznacza analizowany sygnał o czasie trwania T sekund. Poszukiwane sprzężenie występuje pomiędzy amplitudą (A_{f_A}) oscylacji o wysokiej częstotliwości z zakresu f_A , a fazą (Φ_{f_P}) oscylacji o niskiej częstotliwości z zakresu f_P . Dla uproszczenia opisu zakłada się, że oscylacje zarówno o niskiej, jak i wysokiej częstotliwości występują w tym samym sygnale. Jednakże wszystkie opisane poniżej metody dostosowane są również do detekcji sprzężenia istniejącego pomiędzy dwoma odrębnymi sygnałami np. pochodzącymi z różnych struktur mózgu.

2.1 Metody referencyjne

Porównanie dostępnych metod przeprowadzone przez Hülsemann et al. [29] wyróżnia dwóch kandydatów na metody referencyjne: Indeks Modulacji (MI) i Średnią Długość Wektora (MVL). Obydwie metody zostały opisane w rozdziale 1.2.2. Z powodu wady MVL , którą jest zależność tej miary PAC od bezwzględnej amplitudy oscylacji o wysokiej częstotliwości, w niniejszej pracy na jej miejsce przyjęto *Bezpośrednią Estymatę PAC* ($dPAC$ - ang. *direct PAC Estimate*), będącą znormalizowaną wersją MVL . Poniżej znajduje się opis dwóch wybranych metod referencyjnych rozszerzony o szczegóły techniczne.

¹pakiet ePAC dostępny jest pod adresem <https://github.com/GabrielaJurkiewicz/ePAC>

2.1.1 Indeks Modulacji

Indeks Modulacji (MI) jako miarę PAC wykorzystuje dywergencję Kullbacka-Leiblera, która określa stopień rozbieżności między rozkładami dwóch zmiennych losowych. W przypadku badania PAC rozkład amplitud oscylacji o wysokiej częstotliwości wobec fazy oscylacji o niskiej częstotliwości zostaje przyrównany do referencyjnego rozkładu płaskiego. Implementacja metody MI w środowisku Matlab® użyta w niniejszej pracy powstała na podstawie publikacji Tort et al. [74].

Dla każdej pary częstotliwości fazowej i amplitudowej (f_P, f_A) utworzony zostaje szereg czasowy $[\Phi_{f_P}(t), A_{f_A}(t)]$, gdzie $\Phi_{f_P}(t)$ to faza chwilowa oscylacji o niskiej częstotliwości, natomiast $A_{f_A}(t)$ to amplituda chwilowa oscylacji o wysokiej częstotliwości.

Oscylacje o niskiej i wysokiej częstotliwości uzyskano poprzez filtrację² sygnału $s(t)$ wokół odpowiednio częstotliwości fazowej f_P i częstotliwości amplitudowej f_A . Dwustronny filtr FIR został zaprojektowany przy użyciu metody najmniejszych kwadratów. Zgodnie z oryginalną publikacją rząd filtra ustalono jako równy liczbie próbek występujących w 3 cyklach oscylacji o zadanej częstotliwości. W przypadku oscylacji o wysokiej częstotliwości, za szerokość pasma przenoszenia przyjęto dwukrotność maksymalnej częstotliwości fazowej f_P . Taki dobór szerokości filtra zapewnia uchwycenie spektralnej charakterystyki sprzężenia PAC - informacja o modulacji amplitudowej zawarta jest w dodatkowych wierzchołkach widma w częstotliwościach $f_A - f_P$ oraz $f_A + f_P$. W przypadku oscylacji o niskiej częstotliwości szerokość pasma przenoszenia oznaczono Δf_P .

Następnie zakres faz $\langle -\pi, \pi \rangle$ zostaje podzielony na J przedziałów i każdy element szeregu czasowego zostaje przydzielony do jednego z nich na podstawie wartości fazy $\Phi_{f_P}(t)$. Rozkład amplitud oscylacji o wysokiej częstotliwości wobec faz oscylacji o niskiej częstotliwości można opisać równaniem:

$$P_{(f_P, f_A)}(j) = \frac{\langle A_{f_A} \rangle_{\Phi_{f_P}}(j)}{\sum_{k=1}^J \langle A_{f_A} \rangle_{\Phi_{f_P}}(k)} \quad (2.1)$$

gdzie $\langle A_{f_A} \rangle_{\Phi_{f_P}}(j)$ to średnia amplituda dla przedziału fazowego j . Stopień rozbieżności tego rozkładu od rozkładu płaskiego mierzy dywergencja Kullbacka-Leiblera:

$$\text{MI}(f_P, f_A) = \frac{\log(J) + \sum_{k=1}^J P(k) \log[P(k)]}{\log(J)} \quad (2.2)$$

Komodulogram powstaje poprzez zastosowanie równania 2.2 do każdej pary częstotliwości fazowej i amplitudowej (f_P, f_A) .

²funkcja *eegfilt.m* z narzędzia EEGLAB

2.1.2 Bezpośrednia Estymata PAC

Bezpośrednia Estymata PAC (dPAC) [59] jest znormalizowaną wersją powszechnie używanej metody MVL zaproponowanej przez Canolty et al. [14]:

$$dPAC(f_P, f_A) = \frac{1}{\sqrt{T}} \frac{\left| \sum_{t=0}^T A_{f_A}(t) \cdot e^{i\Phi_{f_P}(t)} \right|}{\sqrt{\sum_{t=0}^T A_{f_A}(t)^2}} \quad (2.3)$$

gdzie $\Phi_{f_P}(t)$ to faza chwilowa oscylacji o niskiej częstotliwości, natomiast $A_{f_A}(t)$ to amplituda chwilowa oscylacji o wysokiej częstotliwości. Oscylacje o niskiej i wysokiej częstotliwości uzyskano, stosując filtry takie jak w metodzie MI. Jediną różnicą jest obcięcie pierwszej i ostatniej sekundy sygnału w celu eliminacji efektów brzegowych filtracji. Komodulogram powstaje poprzez zastosowanie równania 2.3 dla każdej pary częstotliwości fazowej i amplitudowej (f_P, f_A) . W niniejszej pracy wykorzystano implementację metody dPAC w środowisku Matlab®, udostępnioną przez autorów publikacji Özkurt and Schnitzler [59] w Materiałach Dodatkowych.

2.1.3 Dane zastępcze dla metod referencyjnych

Aby umożliwić przeprowadzenie statystyki dla metod referencyjnych, zarówno w przypadku danych ciągłych, jak i w przypadku eksperymentu o wielu realizacjach, opracowana została metoda generacji danych zastępczych. Komodulogramy zastępcze powinny reprezentować dane niezawierające sprzężenia, lecz jednocześnie powinny zachować własności widma mocy w zakresie częstotliwości amplitudowych. W tym celu zmieniona została procedura ekstrakcji oscylacji o niskiej częstotliwości. Zamiast filtracji sygnału $s(t)$ przefiltrowany zostaje biały szum Gaussowski. Konstrukcja filtrów jest taka sama jak w przypadku danych oryginalnych. Faza chwilowa przefiltrowanego szumu $\Phi_{f_P}^s(t)$ zastępuje $\Phi_{f_P}(t)$ w równaniach 2.2 i 2.3.

2.2 Autorska metoda

Autorska metoda detekcji sprzężeń oraz identyfikacji ich genezy została nazwana Rozszerzonym Indeks Modulacji (*eMI*). Bazuje ona na powszechnie znanej i używanej mierze sprzężenia, jaką jest Indeks Modulacji, dokładniej opisany w rozdziale 2.1.1. Wybór tej miary umotywowany jest własnymi eksperymentami numerycznymi oraz dokonany przegląd literatury i zgodny jest z wnioskami płynącymi z porównania dostępnych metod przeprowadzonego przez Hülsemann et al. [29]. Autor wspomnianego zestawienia

wyróżnia dwie metody detekcji sprzężenia: MI jako miarę odporną na zakłócenia, rekomendowaną dla krótkich i zaszumionych danych, oraz MVL jako miarę czułą, zalecaną przy pracy z długimi sygnałami o dobrej jakości. Tym, co przeważało o wyborze miary MI, jest możliwość detekcji wielomodalnych sprzężeń, której brak podczas użytkowania miary MVL. Pokrewieństwo metod MI i eMI obejmuje jedynie samą miarę sprzężenia.

Schemat metody eMI został przedstawiony na rysunku 2.1. Panele a-c obrazują kluczowe kroki przetwarzania i wyrównywania oryginalnych i zastępczych reprezentacji sygnału w dziedzinie czas-częstotliwość. Panele d-f przedstawiają trzy typy wykresów wynikowych, które informują nas o obecności i właściwościach wykrytego sprzężenia. W poniższych sekcjach każdy z kroków analizy eMI zostanie szczegółowo opisany.

2.2.1 Ekstrakcja istotnej oscylacji o niskiej częstotliwości

Aru et al. [2] zamieścił w swojej pracy listę zaleceń odnośnie właściwej analizy PAC. Jednym z nich jest potwierdzenie obecności i istotności sprzężonych oscylacji w sygnale. Aby spełnić ten warunek w odniesieniu do oscylacji o niskiej częstotliwości, zbadano widmo sygnału w zakresie częstotliwości fazowych w poszukiwaniu szczytów wystających znacznie ponad poziom tła (rys. 2.2).

W pierwszym kroku wygenerowano $N = 200$ powtórzeń różowego szumu o długości T . Dla każdej realizacji wyestymowano gęstość energii spektralnej metodą Welch³. Aby wyznaczyć poziom tła, skorzystano z algorytmu interpolacji wielomianowej⁴ przeprowadzonej pomiędzy lokalnymi minimami widma (rys. 2.2 a). Następnie, dla każdej częstotliwości fazowej z zakresu f_P , obliczono stosunek mocy widma różowego szumu do jego poziomu tła. Z tak uzyskanych miar zależności stworzono rozkład, którego 95 percentyl stanowi wartość progową (rys. 2.2 b).

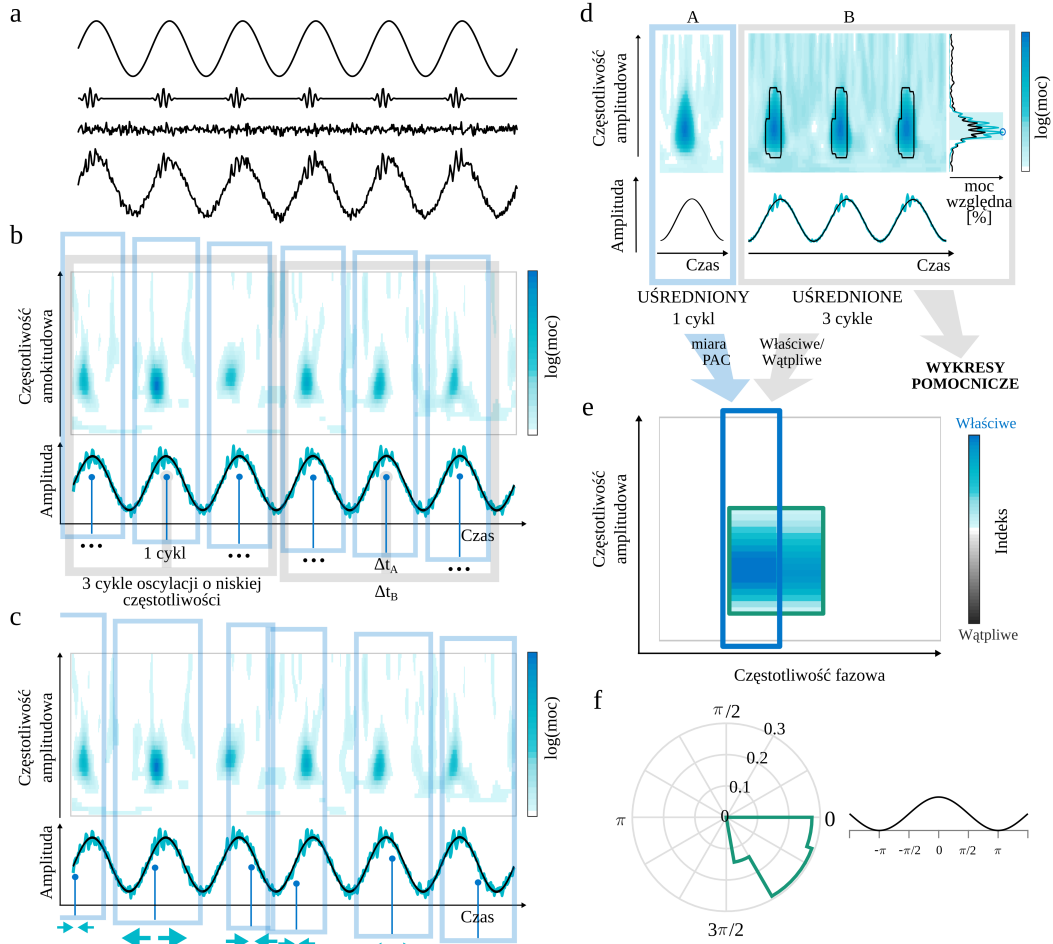
Dane oryginalne zostają poddane analogicznej procedurze estymacji widma i wyznaczania jego poziomu tła. Następnie, dla każdej częstotliwości fazowej z zakresu f_P , obliczono stosunek mocy widma do jego poziomu tła. W przypadku przekroczenia wartości progowej, dana częstotliwość fazowa uznana jest za istotną statystycznie i podlega dalszej analizie (rys. 2.2 c).

Kolejnym krokiem analizy jest zastosowanie dwukierunkowego filtra (o zerowym przesunięciu fazowym), który pozwala wydobyć z sygnału $s(t)$ oscylację o zadanej niskiej częstotliwości. Filtr został zaprojektowany⁵ jako pasmowo-przepustowy filtr Butterworth'a

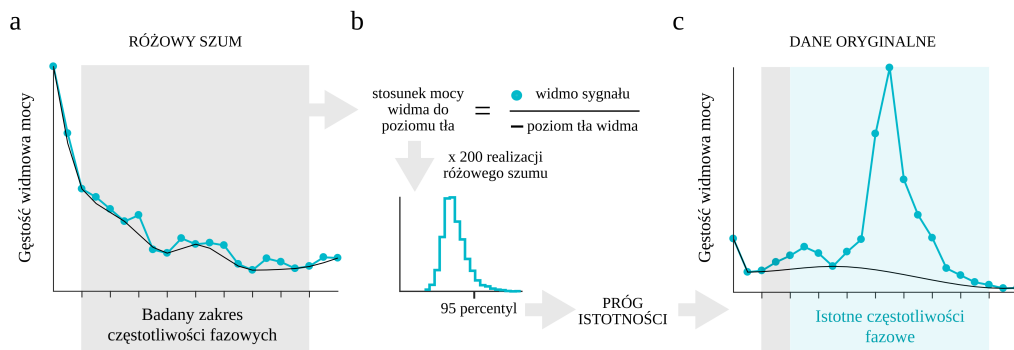
³przy użyciu funkcji *pwelch.m* w środowisku Matlab®, z przyjętym oknem Hamminga o długości 2 sekund, dla wektora częstotliwości z zakresu 1-częstotliwość Nyquista, z krokiem 0.5 Hz

⁴funkcja *pchip.m* w środowisku Matlab®

⁵projekt filtra stworzono przy użyciu funkcji *fdesign.m* w środowisku Matlab®; na brzegach przepuszczanego pasma tłumienie wynosi 3dB



RYSUNEK 2.1. Schemat przebiegu metody eMI. a) Składowe sygnału testowego, od góry: oscylacja o niskiej częstotliwości, paczki oscylacji o wysokiej częstotliwości, szum oraz suma wszystkich powyższych komponentów. b) Dwie ścieżki przetwarzania danych. A – Ekstrakcja sekcji o długości Δt_A (1 cykl oscylacji o niskiej częstotliwości) z mapy $E(t, f)$ i sygnału $s_{f_P}(t)$ (czarna linia) wyrównanych do maksimów sygnału zawierającego oscylacje o niskiej częstotliwości $s_{f_P}(t)$. Maksima zostały oznaczone pionowymi niebieskimi liniami. B – Ekstrakcja sekcji o długości Δt_B (3 cykle oscylacji o niskiej częstotliwości) z mapy $E(t, f)$, sygnału $s_{f_P}(t)$ (czarna linia) i surowego sygnału $s(t)$ (turkusowa linia) wyrównanych do maksimów sygnału zawierającego oscylacje o niskiej częstotliwości $s_{f_P}(t)$. Maksima zostały oznaczone pionowymi szarymi liniami. c) Ekstrakcja losowo rozciągniętych lub ściśniętych sekcji Δt_A mapy $E(t, f)$ wyrównanych do losowych faz sygnału zawierającego oscylacje o niskiej częstotliwości $s_{f_P}(t)$. Losowe fazy zostały oznaczone pionowymi niebieskimi liniami. d) Dwie ścieżki przetwarzania danych. A – Ścieżka prowadząca do obliczenia miary PAC i konstrukcji komodulogramu: górny wykres – średnia mapa $M_{f_P}^A(t, f)$, dolny wykres – na czarno uśredniona oscylacja o niskiej częstotliwości $SP_{f_P}^A(t)$. B – Ścieżka prowadząca do oznaczenia sprzężenia jako *Właściwe/Wątpliwe* i generacji wykresów pomocniczych dla danej częstotliwości fazowej f_P : górny wykres – średnia mapa $M_{f_P}^B(t, f)$ z czarnym obrysem obszarów, które przyczyniają się do istotnego statystycznie sprzężenia, dolny wykres – na turkusowo średni sygnał $S_{f_P}^B(t)$ i na czarno uśredniona oscylacja o niskiej częstotliwości $SP_{f_P}^B(t)$, wykres po prawej stronie – na czarno średnie widmo $AS_{f_P}(f)$, na turkusowo widmo średniego sygnału $SA_{f_P}(f)$, zacieniony obszar częstotliwości amplitudowych $\langle f_A^{max} - \frac{1}{2}\Delta f_A^{max}, f_A^{max} + \frac{1}{2}\Delta f_A^{max} \rangle$ oraz f_A^{MAX} oznaczone niebieskim kółkiem. e) Komodulogram prezentujący siłę statystycznie istotnego sprzężenia oraz automatycznie przydzieloną mu etykietę *Właściwe/Wątpliwe*. Każdy oddzielny obszar sprzężenia jest obrysowany linią o innym kolorze, która stanowi legendę dla histogramów fazowych. f) Histogram fazowy w układzie współrzędnych biegunowych, przedstawia histogramy fazowe dla każdego z obrysowanych obszarów na komodulogramie. Wartości są znormalizowane przez sumaryczną liczbę zliczeń dla każdego z obszarów osobno.



RYSUNEK 2.2. Schemat przebiegu ekstrakcji istotnej oscylacji o niskiej częstotliwości. a) Estymacja gęstości widmowej mocy różowego szumu (turkusowe kropki) wraz z wyznaczonym poziomem tła (czarna linia). b) Dla każdej częstotliwości fazowej z badanego zakresu, obliczono stosunek mocy widma różowego szumu do jego poziomu tła. Procedurę powtórzono dla każdej z 200 realizacji różowego szumu. Z tak uzyskanych miar zależności stworzono rozkład, którego 95 percentyl stanowi wartość progową. c) Estymacja gęstości widmowej mocy oryginalnego sygnału (turkusowe kropki) wraz z wyznaczonym poziomem tła (czarna linia). Każda częstotliwość fazowa dla której stosunek mocy widma do poziomu tła przekracza wartość progową, uznana jest za istotną statystycznie.

(o nieskończonej odpowiedzi impulsowej) 4-tego rzędu, o szerokości pasma Δf_P . Proces filtracji⁶ sygnału $s(t)$ wokół częstotliwości f_P skutkuje otrzymaniem oscylacji o niskiej częstotliwości $s_{f_P}(t)$.

2.2.2 Identyfikacja fazy

Po uzyskaniu oscylacji o niskiej częstotliwości, $s_{f_P}(t)$, przeprowadzono proces lokalizacji maksimów sygnału $s_{f_P}(t)$. Aby dodatkowo zapewnić istotność badanych oscylacji, maksima o prominencji niższej niż 5% mediany prominencji wszystkich maksimów zostają wykluczone z kolejnych etapów analizy. Od tego miejsca, przetwarzanie danych odbywa się dwutorowo. Pierwsza ścieżka (A) prowadzi do zmierzenia siły sprzężenia i konstrukcji komodulogramu, natomiast druga (B) – do oznaczenia PAC jako *Właściwe* lub *Wątpliwe* oraz generacji histogramu fazowego i wykresów pomocniczych (rys. 2.1 d). Wspomniane etykiety *Właściwe*/*Wątpliwe* odnoszą się odpowiednio do fizjologicznej lub epifenomenalnej genezy wykrytego sprzężenia, natomiast procedura ich przydziału zostanie szerzej opisana w rozdziale 2.2.9.

Ścieżka A wykorzystuje okna o długości Δt_A , dobieranej oddzielnie dla każdej częstotliwości fazowej f_P tak, aby okno zawierało 1 cykl oscylacji o niskiej częstotliwości f_P . Aby zbadać sprzężenie w szerszym kontekście, ścieżka B korzysta z okien o długości Δt_B , dobieranej oddzielnie dla każdej częstotliwości fazowej f_P tak, aby okno zawierało

⁶funkcja *filtfilt.m* w środowisku Matlab®

3 cykle oscylacji o niskiej częstotliwości. Maksima pojawiające się wcześniej niż $\frac{1}{2}\Delta t_B$ i później niż $T - \frac{1}{2}\Delta t_B$ zostają wykluczone z dalszej analizy⁷.

Zaczynając od pierwszego maksimum, sekcje o długości Δt_A , wyśrodkowane wokół maksimum, zostają wycięte z sygnału $s_{f_P}(t)$. Kolejne fragmenty sygnału zostają wycięte tylko względem tych maksimum, które nie powodują nachodzenia na siebie wyciętych sekcji sygnału (rys. 2.1 b). Następnie wycięte fragmenty zostają uśrednione, co skutkuje otrzymaniem średniej oscylacji o niskiej częstotliwości $SP_{f_P}^A(t)$:

$$SP_{f_P}^A(t) = \frac{1}{N_{f_P}^{max}} \sum_{n_{f_P}=0}^{N_{f_P}^{max}} s_{f_P} \left(\left[t_{n_{f_P}} - \frac{\Delta t_A}{2} \right] : \left[t_{n_{f_P}} + \frac{\Delta t_A}{2} \right] \right) \quad (2.4)$$

gdzie notacja $s(t_1 : t_k)$ oznacza wzięcie z dyskretnego sygnału s wektora zawierającego $s_1, s_2, \dots, s_k$, natomiast operator sumowania działa po współrzędnych tego wektora. $N_{f_P}^{max}$ oznacza liczbę niepokrywających się okienek wyśrodkowanych wokół kolejnych maksimum zlokalizowanych w czasie $t_{n_{f_P}}$, dla niskiej częstotliwości f_P . Jeśli $N_{f_P}^{max}$ jest mniejsze niż 3, to dalsza analiza dla częstotliwości f_P zostaje zarzucona⁸. To ograniczenie dodatkowo wspiera zalecenie analizy jedynie znaczących oscylacji o niskiej częstotliwości.

Sygnał analityczny dla średniej oscylacji o niskiej częstotliwości $SP_{f_P}^A(t)$ uzyskano, korzystając z transformaty Hilberta. Faza chwilowa sygnału analitycznego ($\Phi_{f_P}(t)$) stanowi sygnał fazowy będący przedmiotem dalszej analizy.

W ścieżce B procedura wycinania kolejnych sekcji z sygnału $s_{f_P}(t)$ przebiega analogicznie, z tą różnicą, że wycięte fragmenty mają długość Δt_B . Skutkuje to uzyskaniem średniej oscylacji o niskiej częstotliwości $SP_{f_P}^B(t)$, która jest częścią wykresów pomocniczych (rys. 2.1 d).

2.2.3 Reprezentacja sygnału w dziedzinie czas-częstotliwość

Istnieje wiele sposobów na estymację gęstości energii sygnału w dziedzinie czas-częstotliwość. Różne podejścia generują różne zależności rozdzielczości w czasie i częstotliwości. Jednak wszystkie metody podlegają ograniczeniu wynikającemu z zasady nieoznaczoności Heisenberga: iloczyn kwadratów wariancji w czasie i w częstotliwości nie może przyjąć wartości niższych niż $\frac{1}{16\pi^2}$ [80].

⁷powyższe ograniczenia obowiązują zarówno w przypadku analizy danych ciągłych jak i w przypadku analizy danych pochodzących z eksperymentu o wielu realizacjach

⁸w przypadku analizy danych pochodzących z eksperymentu o wielu realizacjach, powyższe ograniczenie nadal obowiązuje, jednak liczba niepokrywających się okienek wyznaczana jest łącznie dla wszystkich realizacji

Dobór odpowiedniej metody powinien zależeć od własności analizowanego sygnału. Optymalnie, przyjęta zależność rozdzielczości w czasie i częstotliwości będzie odpowiadać charakterystyce sygnału w dziedzinie czas-częstotliwość [80]. Dlatego też przy założeniu, że fizjologiczne sprzężenie PAC generowane jest przez paczki oscylacji o wysokiej częstotliwości pojawiające się w określonej fazie oscylacji o niskiej częstotliwości, uzasadnione wydaje się użycie transformaty o jądrze przekształcenia w postaci falki - *Ciągłej Transformaty Falkowej* - CWT (ang. *Continous Wavelet Transform*) [25]. Dodatkową rekomendacją do stosowania CWT przy analizie sprzężenia typu faza-amplituda są wyniki badania przeprowadzonego przez Caiola et al. [12].

Istotą działania CWT jest splot sygnału $s(t)$ (o czasie trwania T) z funkcją bazową w postaci falki Ψ , która podlega skalowaniu (o współczynnik a) i przesuwaniu w czasie (o czas u). Wspomniane przekształcenia umożliwiają dobre dopasowanie falki do całego badanego zakresu czasu i częstotliwości przy jednoczesnym zachowaniu stałej liczby oscylacji wewnątrz funkcji bazowej (w). Ta cecha sprawia, że wraz ze wzrostem badanej częstotliwości dokładność w czasie zwiększa się, natomiast w częstotliwości maleje. CWT opisana jest wzorem:

$$CWTs(u, a) = \frac{1}{\sqrt{a}} \int_{-\infty}^{\infty} s(t) \Psi \left(\frac{t-u}{a} \right) dt \quad (2.5)$$

Funkcją bazową może być falka Morleta o postaci funkcji wykładniczej zmiennej zespolonej, okienkowanej funkcją Gaussa (o średniej zero i wariancji równej 1):

$$\Psi(t) = \pi^{-\frac{1}{4}} e^{-\frac{1}{2}t^2} e^{iwt} \quad (2.6)$$

Skalowanie falki można przeprowadzić jako zmianę szerokości obwiedni funkcji bazowej, czyli zmianę odchylenia standardowego funkcji Gaussa σ_t . Po takim zabiegu częstotliwość centralna falki będzie wynosić $f = \frac{w}{2\pi\sigma_t}$, zatem za parametr skalujący a można podstawić wartość $\sigma_t = \frac{w}{2\pi f}$. Ten krok pozwala na przejście z przestrzeni czas-skala do przestrzeni czas-częstotliwość. Po uwzględnieniu wspomnianego wcześniej przesunięcia w czasie u , falka Morleta zmieni swoją postać na:

$$\frac{1}{\sqrt{a}} \Psi \left(\frac{t-u}{a} \right) = \frac{1}{\sqrt{\sigma_t}} \pi^{-\frac{1}{4}} e^{-\frac{1}{2} \left(\frac{t-u}{\sigma_t} \right)^2} e^{i w \left(\frac{t-u}{\sigma_t} \right)} \quad (2.7)$$

$$\Psi(t, f) = \sqrt{\frac{2\sqrt{\pi}f}{w}} e^{-\frac{1}{2} \left(\frac{2\pi f(t-u)}{w} \right)^2} e^{i 2\pi f(t-u)} \quad (2.8)$$

Gęstość energii w przestrzeni czas-częstotliwość $E(t, f)$ estymowana przy użyciu CWT wyrażona jest wzorem:

$$E(t, f) = |\text{CWT}s(t, f)|^2 \quad (2.9)$$

$$= \sqrt{\frac{2\sqrt{\pi}f}{w}} \left| \int_{-\infty}^{\infty} s(u) \left[e^{-\frac{1}{2}\left(\frac{2\pi f(u-t)}{w}\right)^2} e^{i2\pi f(u-t)} \right] du \right|^2 \quad (2.10)$$

Podczas estymacji gęstości energii należy liczyć się z problemem efektów brzegowych. Można oszacować, że zakłamanie estymacji gęstości energii, obecne na obydwu krańcach mapy czas-częstotliwość $E(t, f)$, będą rozciągać się na czas trwania falki o najniższej badanej częstotliwości⁹. Rozwiązanie zastosowane w metodzie eMI polega na obcięciu skrajnych fragmentów mapy $E(t, f)$, o długości równej $\frac{w}{\min(f_A)}$.

2.2.4 Uśrednianie wycinków mapy i sygnału wyrównanych względem maksimum oscylacji o niskiej częstotliwości

Fragmenty o długości Δt_A zostają wycięte z mapy $E(t, f)$ analogicznie jak w rozdziale 2.2.2 (rys. 2.1 b). Następnie wycinki zostają uśrednione, co skutkuje uzyskaniem średniej mapy $M_{f_P}^A(t, f)$ (rys. 2.1 d):

$$M_{f_P}^A(t, f) = \frac{1}{N_{f_P}^{max}} \sum_{n_{f_P}=0}^{N_{f_P}^{max}} E \left(\left[t_{n_{f_P}} - \frac{\Delta t_A}{2} \right] : \left[t_{n_{f_P}} + \frac{\Delta t_A}{2} \right], f \right) \quad (2.11)$$

Natomiast w ścieżce B fragmenty o długości Δt_B zostają wycięte z mapy $E(t, f)$ i z sygnału $s(t)$ analogicznie jak w rozdziale 2.2.2 (rys. 2.1 b). Następnie wycinki zostają uśrednione, co skutkuje uzyskaniem średniej mapy $M_{f_P}^B(t, f)$ i średniego "surowego" sygnału $S_{f_P}^B(t)$ (rys. 2.1 d):

$$M_{f_P}^B(t, f) = \frac{1}{N_{f_P}^{max}} \sum_{n_{f_P}=0}^{N_{f_P}^{max}} E \left(\left[t_{n_{f_P}} - \frac{\Delta t_B}{2} \right] : \left[t_{n_{f_P}} + \frac{\Delta t_B}{2} \right], f \right) \quad (2.12)$$

$$S_{f_P}^B(t) = \frac{1}{N_{f_P}^{max}} \sum_{n_{f_P}=0}^{N_{f_P}^{max}} s \left(\left[t_{n_{f_P}} - \frac{\Delta t_B}{2} \right] : \left[t_{n_{f_P}} + \frac{\Delta t_B}{2} \right] \right) \quad (2.13)$$

Średnia mapa $M_{f_P}^B(t, f)$ i średni sygnał $S_{f_P}^B(t)$ nie są wykorzystywane w dalszych obliczeniach, jednak stanowią ważny element wykresów pomocniczych (rys. 2.1 d), które są użyteczne przy interpretacji wyników.

⁹za czas trwania falki przyjęto czas pomiędzy maksimum falki a momentem ($t = \frac{w}{f}$), w którym wartość jej amplitudy spada do zaniedbywalnego poziomu $\exp^{-2\pi^2} \sim 10^{-9}$

2.2.5 Dane zastępcze

Dane zastępcze powinny maksymalnie eliminować badaną zależność wystąpienia struktur o wysokich częstotliwościach od fazy oscylacji o niskiej częstotliwości przy jednoczesnym minimalnym zaburzeniu samej struktury wysokoczęstotliwościowych składowych sygnału w przestrzeni czas-częstotliwość. Aby to osiągnąć, dane zastępcze powstają poprzez modyfikację procesu wyrównywania i wycinania fragmentów mapy czas-częstotliwość.

Przebieg zmienionej procedury wyrównywania i wycinania sekcji mapy $E(t, f)$, o długości okna Δt_A , jest podobny do opisanego w rozdziale 2.2.4, poza dwiema różnicami. Pierwsza z nich obejmuje losowe położenie wycinanego fragmentu względem fazy oscylacji o niskiej częstotliwości. O lokalizacji wycinanego fragmentu decyduje losowa liczba pochodząca z rozkładu płaskiego (z zakresu jednego cyklu badanej częstotliwości fazowej, czyli od $-\frac{1}{2f_P}$ do $+\frac{1}{2f_P}$), która jest dodawana do oryginalnej lokalizacji kolejnych maksimów. Natomiast druga różnica polega na losowym "ściśnięciu" lub "rozciągnięciu" mapy $E(t, f)$, co imituje fluktuacje oryginalnej częstotliwości f_P wynikające z niezerowej szerokości pasma częstotliwości oscylacji $s_{f_P}(t)$. Zanim sekcje mapy zostaną wycięte, mapa zostaje przeskalowana o parametr losowany z rozkładu płaskiego $\langle 0.9, 1.1 \rangle$. Taka deformacja mapy jest wykonywana przy użyciu metody interpolacji dwusześcienniej¹⁰.

Powyższa procedura pozwala uzyskać jedną średnią zastępczą mapę czas-częstotliwość, oznaczoną przez $M_{f_P}^s(t, f)$, dla danej częstotliwości fazowej f_P . Aby otrzymać zbiór zastępczych map czas-częstotliwość, które z założenia są reprezentacją sygnału niezawierającego sprzężenia, ten krok zostaje powtórzony N^s razy dla każdej częstotliwości f_P .

2.2.6 Konstrukcja komodulogramu

W kolejnym kroku następuje kwantyfikacja zależności między fazą oscylacji o niskiej częstotliwości $\Phi_{f_P}(t)$ (rozdział 2.2.2) a mocą sygnału w wysokich częstotliwościach. Oddzielnie dla każdej częstotliwości amplitudowej f_A , moc sygnału $A_{f_A}(t)$ otrzymywana jest jako $M_{f_P}^A(t, f_A)$, natomiast miarą sprzężenia jest Indeks Modulacji opisany w rozdziale 2.1.1. Komodulogram powstaje poprzez kwantyfikację sprzężenia dla każdej pary częstotliwości (f_P, f_A) , zgodnie z równaniami 2.1 i 2.2.

Powyższa procedura zostaje użyta również do ewaluacji sprzężenia w danych zastępczych. Jediną różnicą jest uzyskanie mocy sygnału $A_{f_A}(t)$ z mapy $M_{f_P}^s(t, f_A)$. Po obliczeniu Indeksu Modulacji dla każdej pary częstotliwości (f_P, f_A) oraz dla każdej realizacji

¹⁰funkcja *imresize.m* w środowisku Matlab®

danych zastępczych s uzyskano N^s komodulogramów zastępczych. Zarówno oryginalne, jak i zastępcze wartości MI zostają wycelowane względem średniej wartości MI dla danych zastępczych, dla każdej pary częstotliwości (f_P, f_A) oddzielnie.

2.2.7 Histogram fazowy w układzie współrzędnych biegunowych

Standardowe metody detekcji sprzężeń (opisane w rozdziale 2.1) prezentują swoje wyniki jedynie w postaci komodulogramu. Natomiast metoda eMI oferuje dodatkową formę ilustracji rezultatów analizy zawierającą informację o fazie oscylacji o niskiej częstotliwości, dla której występuje sprzężenie (faza PAC).

Dla każdej pary częstotliwości (f_P, f_A) , w danych oryginalnych i zastępczych, zachowana jest znormalizowana średnia amplituda $P_{(f_P, f_A)}(j)$ przypisana do każdego przedziału faz j , zdefiniowana w równaniu 2.1. Dla każdego powtórzenia danych zastępczych, ze znormalizowanych średnich amplitud wyciągana jest wartość maksymalna. Zbiór tych maksimumów tworzy rozkład, którego p_{PC} percentyl stanowi wartość progową $th_{(f_P, f_A)}(j)$. Do konstrukcji histogramu fazowego użyte zostają jedynie te wartości oryginalne $P_{(f_P, f_A)}(j)$, które są ponad progiem. Procedura progowania odbywa się dla każdej pary częstotliwości (f_P, f_A) oddzielnie.

Dla każdego oddzielnego obszaru na komodulogramie wytworzony jest jeden histogram fazowy zawierający liczbę zliczeń ponadprogowych wartości w $P_{(f_P, f_A)}(j)$ przypadającą na każdy z przedziałów fazowych j , znormalizowaną przez łączną liczbę wszystkich zliczeń. Wszystkie histogramy prezentowane są we wspólnym układzie biegunowym. Do każdego z nich przypisany jest inny kolor, zgodny z kolorem obrysu obszaru na komodulogramie (rys. 2.1 f).

2.2.8 Średnie widmo i widmo średniego sygnału

Istotnym elementem heurystyki oznaczenia danego sprzężenia jako *Właściwe* lub *Wątpliwe* są średnie widmo oraz widmo średniego sygnału (rys. 2.1 d). Dla każdego wycinka sygnału $s(t)$ o długości Δt_B , wyestymowana zostaje gęstość widmowa mocy dla całego zakresu częstotliwości amplitudowych f_A . Następnie spektra te zostają uśrednione, co prowadzi do uzyskania średniego widma $AS_{f_P}(f)$. Powyższa procedura zastosowana jest dla każdego f_P oddzielnie. Natomiast aby uzyskać widmo średniego sygnału $SA_{f_P}(f)$ (dla każdego f_P oddzielnie), wykonana jest estymacja gęstości widmowej mocy średniego sygnału $S_{f_P}^B(t)$. Każde z widm wynikowych ($SA_{f_P}(f)$ i $AS_{f_P}(f)$) zostaje oddzielnie znormalizowane przez sumaryczną moc w całym zakresie częstotliwości f_A .

Estymację gęstości widmowej mocy przeprowadzono przy użyciu periodogramu z oknem Blackmana-Harrisa.

2.2.9 Przypisanie do PAC etykiet *Właściwe* i *Wątpliwe*

Określenie genezy sprzężenia jako epifenomenalne lub fizjologiczne nie jest prostym zagadnieniem. Autorska metoda podejmuje się tego zadania w wymiarze przypisania do PAC etykiety *Właściwe* lub *Wątpliwe*. Zastosowanie znajduje tutaj wymóg istotności sprzężonych oscylacji, zaproponowany przez Aru et al. [2]. W jednym z pierwszych kroków analizy (rozdział 2.2.1) zapewniona zostaje istotność badanej oscylacji o niskiej częstotliwości fazowej f_P . Aby dopełnić kryterium, wprowadzone zostaje założenie, że statystycznie istotne sprzężenie jest *Właściwe*, gdy lokalne maksimum widma dla częstotliwości amplitudowych pokrywa się z lokalnym maksimum na komodulogramie. W przeciwnym razie sprzężenie zostanie uznane za *Wątpliwe*. W poniższym rozdziale zostanie opisany algorytm wdrażający tę heurystykę, natomiast przykłady obrazujące jego działanie zawarte zostały w rozdziale 4.2.

Dla każdego oddzielnego obszaru istotnego statystycznie sprzężenia ($\langle f_A^m, f_A^n \rangle$) i dla każdej częstotliwości fazowej f_P :

- Określona zostaje częstotliwość amplitudowa, której odpowiada maksymalna wartość MI (f_A^{max})
- Jeśli maksymalna wartość MI przypada na częstotliwość amplitudową będącą dolną granicą zakresu f_A , sprzężenie dla tego obszaru zostaje oznaczone jako *Wątpliwe*. Dzieje się tak, ponieważ jest to niejasna sytuacja – maksymalna wartość MI może nie być szczytem, a jedynie zboczem opadającym z maksimum w niższych częstotliwościach. Oprócz przypisania odpowiedniej etykiety, wyświetlone zostaje ostrzeżenie: *To sprzężenie zostało oznaczone jako "Wątpliwe", ponieważ występuje zbyt blisko dolnej granicy zakresu częstotliwości amplitudowych. Aby je dokładniej zbadać, obniż dolną granicę zakresu częstotliwości amplitudowych.*
- Wyznaczony zostaje zakres częstotliwości Δf_A^{max} (szerokość połówkowa), który obejmuje obwiednię falki o częstotliwości f_A^{max} . Korzystając z tej wielkości, można wyznaczyć zasięg maksimum komodulogramu biorący pod uwagę rozdzielczość częstotliwościową falki $\langle f_A^{max} - \frac{1}{2}\Delta f_A^{max}, f_A^{max} + \frac{1}{2}\Delta f_A^{max} \rangle$. Ten zakres przedstawiony został na wykresach pomocniczych w postaci zaciemnienia tła widma na rysunku 2.1 d.
- Obszar poszukiwań maksimum widma jest określony poprzez sumę zbiorów $f_A^M = \langle f_A^m, f_A^n \rangle \cup \langle f_A^{max} - \frac{1}{2}\Delta f_A^{max}, f_A^{max} + \frac{1}{2}\Delta f_A^{max} \rangle$.

- Poszukiwanie maksimum może zostać przeprowadzone na widmie średniego sygnału $SA_{f_P}(f)$ lub średnim widmie $AS_{f_P}(f)$. Do identyfikacji pików widmowych w obszarze f_A^M wykorzystane zostaje to widmo, które dominuje w tym zakresie. Dominacja określona jest jako większa suma mocy w częstotliwościach, w których wartość danej estymaty przewyższa wartość drugiej. Częstotliwość odpowiadająca maksymalnej wartości widma w zakresie f_A^M zostaje określona jako f_A^{MAX} . Tylko właściwe maksima (z obustronnie opadającym zboczem) są tu rozpatrywane. Zatem jeśli widmo w częstotliwości f_A^{MAX} jest szczytem zbocza rosnącego, to sprzężenie w tym obszarze oznaczone jest jako *Wątpliwe*. Częstotliwość f_A^{MAX} zostaje oznaczona niebieskim kółkiem na wykresach pomocniczych (rys. 2.1 d).
- Jeśli $f_A^{MAX} \in \langle f_A^{max} - \frac{1}{2}\Delta f_A^{max}, f_A^{max} + \frac{1}{2}\Delta f_A^{max} \rangle$, to sprzężenie uznane jest za *Właściwe*. W pozostałych przypadkach zostaje oznaczone jako *Wątpliwe*.

Po powtórzeniu powyższych kroków dla każdej częstotliwości fazowej f_P i każdego oddzielnego obszaru istotnego sprzężenia, cały komodulogram składa się z obszarów sprzężenia *Właściwego* lub *Wątpliwego*. Na tym etapie możliwe staje się wprowadzenie kolejnej rekomendacji Aru et al. [2] – ostrożności w przypadku obecności częstotliwości harmonicznych. Jeśli komodulogram zawiera strukturę harmoniczną i sprzężenie bazowej częstotliwości oznaczone jest jako *Wątpliwe*, to pozostałe częstotliwości harmoniczne również przyjmują tę etykietę.

Po zakończonym procesie etykietowania, wartości MI sprzężenia oznaczonego jako *Wątpliwe* zostają przedstawione na komodulogramie w odcieniach szarości i ze znakiem ujemnym. Kolorystyka ta dotyczy również zaciemnienia zakresu częstotliwości $\langle f_A^{max} - \frac{1}{2}\Delta f_A^{max}, f_A^{max} + \frac{1}{2}\Delta f_A^{max} \rangle$ na widmie. Na koniec każdy oddzielny obszar *Właściwy* lub *Wątpliwy* zostaje obwiedziony linią o innym kolorze (rys. 2.1 e), co pozwala na jego identyfikację na histogramach fazowych.

2.2.10 Prezentacja wyników

Autorska metoda eMI prezentuje wyniki w postaci 3 typów wykresów. Pierwszym z nich jest komodulogram zawierający podsumowanie wyników analizy – istotnie statystycznie sprzężone pary częstotliwości w dodatniej skali niebieskości (*Właściwe*) lub w ujemnej skali szarości (*Wątpliwe*) (rys. 2.1 e). Intensywność koloru odpowiada wartości MI uzyskanej zgodnie ze wzorem 2.2, zaś znak przypisywany jest odpowiednio do etykiety. Każdy z oddzielnych obszarów sprzężenia jest obwiedziony linią o innym kolorze.

Kolejnym typem wykresu jest histogram fazowy w układzie współrzędnych biegunowych (rys. 2.1 f). Przedstawia on zbiorczo histogramy fazowe dla każdego z oddzielnych obszarów na komodulogramie. Kolor histogramu odpowiada kolorowi linii obrysu obszaru na komodulogramie. Wartości zliczeń prezentowane na histogramie są znormalizowane przez liczbę wszystkich elementów z danego obszaru. Fragment funkcji cosinus, wyrzutowany obok, spełnia funkcję ilustracji zależności fazy oscylacji o niskiej częstotliwości od jej przebiegu w czasie. Histogramy fazowe są użyteczne podczas badania zależności fazowych pomiędzy różnymi obszarami na komodulogramie.

Ostatnim obrazem wynikowym są wykresy pomocnicze (rys. 2.1 d, panel B). Są one wyjątkowo użyteczne podczas interpretacji wykrytego sprzężenia. Składają się m.in. z uśrednionych skalogramów obejmujących 3 cykle oscylacji o niskiej częstotliwości ($M_{f_P}^B(t, f)$). Zakresy sprzężonych faz i częstotliwości zostają oznaczone przy użyciu czarnego konturu. Poniżej mapy zaprezentowane są dwa rodzaje sygnałów: średni sygnał $S_{f_P}^B(t)$ – na turkusowo i średnia oscylacja o niskiej częstotliwości $SP_{f_P}^B(t)$ – na czarno. Po prawej stronie widoczne są dwa spektra: średnie widmo $AS_{f_P}(f)$ – na czarno i widmo średniego sygnału $SA_{f_P}(f)$ – na turkusowo. Zacieniony zakres częstotliwości amplitudowych odpowiada obszarowi $\langle f_A^{max} - \frac{1}{2}\Delta f_A^{max}, f_A^{max} + \frac{1}{2}\Delta f_A^{max} \rangle$, w którym powinno pojawić się maksimum mocy (f_A^{MAX} oznaczone niebieskim kółkiem), aby uznać je za spójne z maksimum komodulogramu. Całość wykresów pomocniczych generowana jest dla każdej częstotliwości fazowej f_P oddzielnie.

Oprócz wykresów, eMI zapisuje wyniki również w postaci plików środowiska Matlab® `*.mat`, w celu ewentualnej późniejszej dodatkowej analizy.

2.3 Statystyka

Oryginalny komodulogram prezentuje siłę sprzężeń odnalezionych w sygnale. Aby uznać je za istotne statystycznie, powinny być silniejsze niż sprzężenia będące wynikiem fluktuacji statystycznych. Jednak wykonanie takiego przyrównania, w formie testu statystycznego, dla każdej pary częstotliwości (f_P, f_A) rodzi problem porównań wielokrotnych.

Aby uniknąć błędów w interpretacji wyników będących rezultatem problemu porównań wielokrotnych, zastosowana została nieparametryczna statystyka wartości maksymalnych [30]. Procedura tego testu polega na utworzeniu rozkładu wartości oznaczonych jako maksima komodulogramów zastępczych. Następnie wszystkie wartości znajdujące się na oryginalnym komodulogramie zostają jednorazowo porównane z wartością progową,

która odpowiada p_C percentylowi rozkładu maksimów. Wartości oryginalne przekraczające próg można uznać za istotne statystycznie, tzn. prawdopodobieństwo zaobserwowania takich wartości w komodulogramach uzyskanych dla sygnałów niezawierających sprzężenia jest mniejsze niż $1 - \frac{p_C}{100}$.

Dodatkowo, do każdej wartości z oryginalnego komodulogramu przypisany zostaje percentyl opisanego powyżej rozkładu maksimów. Tak powstały zbiór centyli $P_{vals}(f_P, f_A)$ pozwala na dodatkową kontrolę oczekiwanej proporcji błędów I rodzaju wśród wyników istotnych statystycznie (*FDR* - ang. *False Discovery Rate* [6]), przy zbiorczej prezentacji wyników pochodzących z więcej niż jednego fragmentu sygnału.

W przypadku metody eMI, aby upewnić się, że istotne statystycznie sprzężenie odpowiada znacznemu wzmocnieniu na mapach czas-częstotliwość, odrzucone jako nieistotne zostaje sprzężenie tych par częstotliwości (f_P, f_A) , gdzie znormalizowana średnia amplituda $P_{(f_P, f_A)}(j)$ nie przekracza progu $th_{(f_P, f_A)}(j)$ dla żadnego przedziału fazowego j .

Rozdział 3

Teza 1

Autorska metoda poprawnie wykrywa sprzężenie PAC, a jej czułość, swoistość i zależność od parametrów analizowanego sygnału jest porównywalna z metodami referencyjnymi.

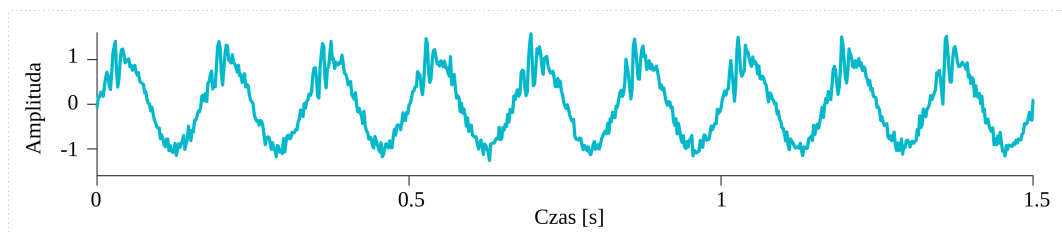
W poniższym rozdziale opisany został zestaw badań mających na celu porównanie autorskiej metody z powszechnie używanymi metodami referencyjnymi. W pierwszej kolejności zbadano wpływ parametrów analizy eMI na wyniki, co pozwoliło na dobranie optymalnych wartości. Następnie, w kontrolowanych warunkach symulacyjnych, rozpatrzono czułość i swoistość wszystkich trzech metod, a także ich zależność od parametrów analizowanego sygnału. Na koniec zestawiono ze sobą wyniki analizy danych elektrofizjologicznych. Opisane poniżej wyniki i wnioski stanowią rozszerzenie rozważań zawartych w pracy Jurkiewicz et al. [38].

3.1 Dane

3.1.1 Modele właściwego sprzężenia PAC

Opisane poniżej trzy modele posłużą do zbadania czułości metod i ich zależności od następujących parametrów analizowanego sygnału:

- *Stosunek amplitud* – stosunek maksymalnej amplitudy wysokoczęstotliwościowej oscylacji do amplitudy oscylacji o niskiej częstotliwości. Wartość domyślna tego parametru to 0.1.
- *Długość sygnału* w sekundach, wartość domyślna wynosi 10 s.



RYSUNEK 3.1. Przebieg sygnału z paczkami oscylacji o wysokiej częstotliwości. *Stosunek amplitud* wynosi 0.6, *Poziom szumu* 0.1, natomiast reszta parametrów przyjmuje wartości domyślne.

- *Poziom szumu* – stosunek amplitudy szumu do amplitudy oscylacji o niskiej częstotliwości. Wartość domyślna tego parametru to 0.1.

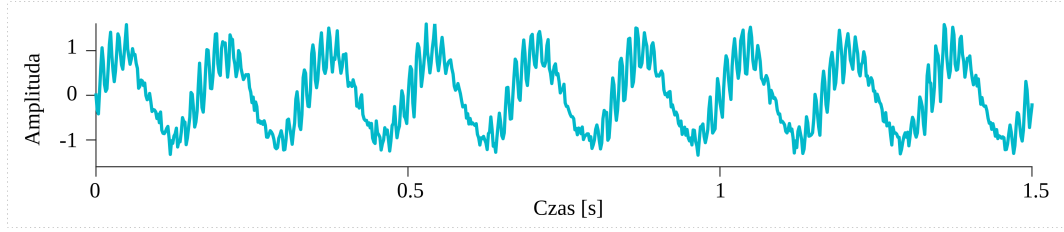
Paczki oscylacji o wysokiej częstotliwości

Ten model reprezentuje fizjologicznie prawdopodobny mechanizm, w którym określona faza procesu, obserwowana w postaci oscylacji o niskiej częstotliwości, wywołuje pojawienie się oscylacji o wysokiej częstotliwości. Można sobie wyobrazić, że oscylacja o niskiej częstotliwości jest procesem bramkującym lub taktującym, który pozwala na przetwarzanie informacji reprezentowanej przez oscylacje o wysokiej częstotliwości. Poza wpływem podstawowych parametrów, tj. stosunku amplitud, długości sygnału i poziomu szumu, model ten pozwala zbadać również zależność wyników od *Zawartości PAC* – stosunku liczby cykli niskoczęstotliwościowej oscylacji zawierających sprzężenie do liczby wszystkich cykli oscylacji o niskiej częstotliwości. Wartość domyślna tego parametru to 1.

Sygnał składa się z funkcji sinus o niskiej częstotliwości, krótkotrwałych oscylacji o wysokiej częstotliwości pojawiających się w określonej fazie niskoczęstotliwościowego sinusa oraz z białego szumu Gaussowskiego. "Paczki" wysokoczęstotliwościowej oscylacji zostają wytworzone jako funkcje Gabora:

$$G(t) = \exp\left(-\frac{1}{2} \frac{(t - t_0)^2}{\sigma^2}\right) \cos(2\pi f t) \quad (3.1)$$

o szerokości $\sigma = 0.01$ s, częstotliwości $f = 77$ Hz i maksimum obwiedni dla czasu t_0 . Częstotliwość sinusa ustalono na 6 Hz, aby zamodelować powszechnie obserwowane sprzężenie pomiędzy rytmem teta i gamma [8, 14, 40, 47, 72]. Amplituda oscylacji o niskiej częstotliwości wynosi 1, a częstotliwość próbkowania 512 Hz. Przykładowa realizacja sygnału przedstawiona jest na rysunku 3.1.



RYSUNEK 3.2. Przebieg sygnału z modulacją amplitudy. *Stosunek amplitud* wynosi 0.6, *Poziom szumu* 0.1, natomiast reszta parametrów przyjmuje wartości domyślne.

Modulacja amplitudy

Modulacja amplitudy jest powszechnie znaną techniką, stosowaną w telekomunikacji, która koduje informację w postaci niskoczęstotliwościowych wahań amplitudy oscylacji nośnej – o wysokiej częstotliwości. W tym przypadku zastosowany został model zaproponowany przez Tort et al. [74]. Sygnał symulacyjny składa się z funkcji sinus o niskiej częstotliwości f_P (ustalonej na 6 Hz), funkcji sinus o wysokiej częstotliwości f_A (ustalonej na 77 Hz) o zmiennej amplitudzie oraz z białego szumu. Modulacja amplitudy oscylacji o wysokiej częstotliwości A_{f_A} wyrażona jest wzorem:

$$A_{f_A}(t) = \overline{A_{f_A}} \frac{(1 - \chi) \sin(2\pi f_P t) + 1 + \chi}{2} \quad (3.2)$$

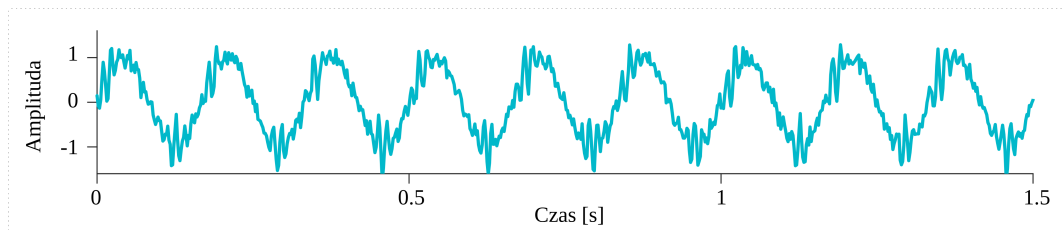
gdzie $\overline{A_{f_A}}$ to stała wyznaczająca maksymalną amplitudę oscylacji o wysokiej częstotliwości, natomiast $\chi \in [0, 1]$ to frakcja amplitudy A_{f_A} niepodlegająca modulacji przez f_P . Tak zamodelowany sygnał symulacyjny opisany jest równaniem:

$$s(t) = A_{f_A}(t) \sin(2\pi f_A t) + \overline{A_{f_P}} \sin(2\pi f_P t) + \overline{A_N} W(t) \quad (3.3)$$

gdzie $\overline{A_{f_P}}$ jest stałą stanowiącą o amplitudzie oscylacji o niskiej częstotliwości (tu równa 1), $W(t)$ jest Gaussowskim białym szumem otrzymanym ze standardowego rozkładu normalnego ze współczynnikiem skalującym $\overline{A_N} \in [0, 1]$. Oprócz wpływu podstawowych parametrów, model ten pozwala zbadać również zależność wyników od *Głębokości modulacji* zdefiniowanej jako $1 - \chi$, czyli ułamek A_{f_A} modulowany z częstotliwością f_P . Wartość domyślna tego χ to 0.1. Częstotliwość próbkowania wynosi 512 Hz. Przykładowa realizacja sygnału przedstawiona jest na rysunku 3.2.

Sprzężenie wielomodalne

Niektóre z metod detekcji PAC mają problem z wykrywaniem sprzężenia, które występuje dla kilku faz oscylacji o niskiej częstotliwości jednocześnie. Aby zbadać tę właściwość, skorzystano z modelu, który pozwala na kontrolę parametru jakim jest *Liczba modów*



RYSUNEK 3.3. Przebieg sygnału ze sprzężeniem wielomodalnym. *Stosunek amplitud* wynosi 0.6, *Poziom szumu* 0.1, *Liczba modów fazowych* 2, natomiast reszta parametrów przyjmuje wartości domyślne.

fazowych. Model ten, również zaproponowany przez Tort et al. [74], korzysta z równania (3.3), zmieniając jedynie definicję A_{f_A} :

$$A_{f_A}(t) = \overline{A_{f_A}}[(1 - \chi) \sum_{m=1}^M g_m(f_P, t) + \chi] \quad (3.4)$$

$$g_m(f_P, t) = \frac{G[sw(f_P, t)] - \min[G(sw)]}{\max[G(sw)] - \min[G(sw)]} \quad (3.5)$$

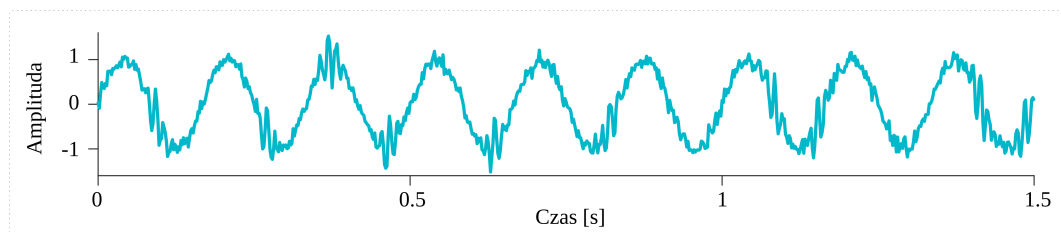
gdzie M to liczba modów fazowych, G to funkcja rozkładu normalnego o średniej równej 0 i wariancji $\sigma^2 = 0.1$, natomiast $sw(f_P, t)$ to funkcja piłokształtna o częstotliwości f_P . Różne mody fazowe uzyskuje się poprzez wprowadzenie różnych opóźnień fazowych do funkcji piłokształtnej. Liczba modów fazowych $\{1, 2, 3\}$ oznacza liczbę zsumowanych amplitud A_{f_A} o różnych opóźnieniach fazowych $\{\frac{4\pi}{5}, \frac{3\pi}{2}, \frac{\pi}{10}\}$. Pozostałe parametry przyjmują wartości domyślne. Częstotliwość próbkowania wynosi 512 Hz. Przykładowa realizacja sygnału przedstawiona jest na rysunku 3.3.

3.1.2 Modele braku sprzężenia PAC

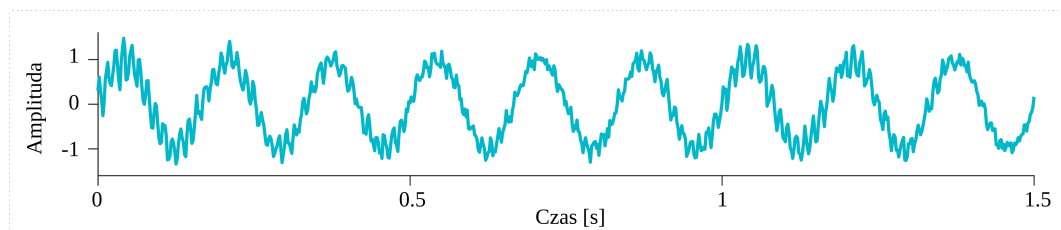
Aby zbadać swoistość wszystkich trzech metod, potwierdzić poprawność zastosowanych metod generacji danych zastępczych oraz efektywność zastosowanej kontroli błędów I rodzaju, zamodelowano dwa rodzaje sygnałów, które z założenia nie zawierają sprzężenia PAC.

Losowo rozmieszczone paczki oscylacji o wysokiej częstotliwości

Ten sygnał jest generowany jako kontrast dla modelu właściwego sprzężenia PAC opisanego w rozdziale 3.1.1. Różnica polega na tym, że krótkotrwałe oscylacje o wysokiej częstotliwości pojawiają się w losowych fazach oscylacji o niskiej częstotliwości. Większość parametrów przyjmuje wartości domyślne, oprócz *Poziomu szumu*, którego wpływ zostanie dodatkowo zbadany. Częstotliwość próbkowania wynosi 512 Hz. Przykładowa realizacja sygnału przedstawiona jest na rysunku 3.4.



RYSUNEK 3.4. Przebieg sygnału z losowo rozmieszczonymi paczkami oscylacji o wysokiej częstotliwości. *Stosunek amplitud* wynosi 0.6, *Poziom szumu* 0.1, natomiast reszta parametrów przyjmuje wartości domyślne.



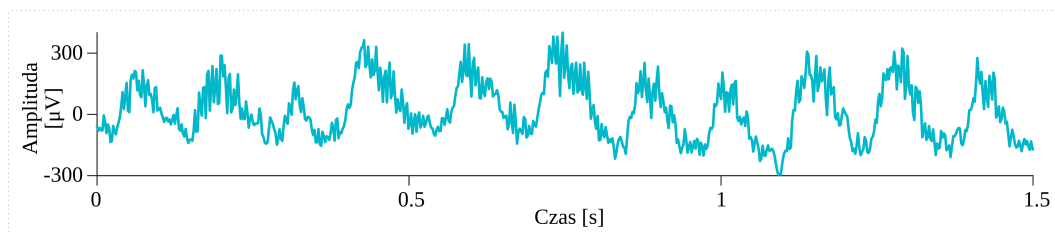
RYSUNEK 3.5. Przebieg sygnału z filtrowanym szumem. Amplituda oscylacji o wysokiej częstotliwości wynosi 0.6, *Poziom szumu* 0.1, natomiast reszta parametrów przyjmuje wartości domyślne.

Filtrowany szum

Ten sygnał powstał jako kontrast dla modelu właściwego sprzężenia PAC z modulacją amplitudy opisanego w rozdziale 3.1.1. W tym przypadku sygnał symulacyjny składa się z oscylacji o niskiej częstotliwości ($f_P = 6$ Hz, amplituda równa 1), białego szumu Gaussowskiego otrzymanego ze standardowego rozkładu normalnego oraz oscylacji o wysokiej częstotliwości uzyskanej poprzez pasmowo-przepustową filtrację białego szumu Gaussowskiego, w zakresie częstotliwości $[76, 78]$ Hz (filtr Butterwortha drugiego rzędu). Amplituda oscylacji o wysokiej częstotliwości została znormalizowana tak, aby jej maksimum wynosiło 0.1. Większość parametrów przyjmuje wartości domyślne, oprócz *Poziomu szumu*, którego wpływ zostanie dodatkowo zbadany. Częstotliwość próbkowania wynosi 512 Hz. Przykładowa realizacja sygnału przedstawiona jest na rysunku 3.5.

3.1.3 Dane elektrofizjologiczne

Ten zestaw danych miał za zadanie zweryfikować poprawność działania eMI i jej porównywalność z metodami referencyjnymi również w warunkach eksperymentalnych. Użyte sygnały pochodzą z eksperymentu, w którym badano wpływ ketaminy na szczury – zwierzęcy model schizofrenii. Wprowadzenie do tematyki badań znajduje się w rozdziale 1.6. Ten środek psychoaktywny powoduje pojawienie się oscylacji o wysokiej częstotliwości ~ 150 Hz (HFO), których amplituda sprzęga się z fazą rytmu teta (4-8 Hz) [13, 17, 64, 83]. Te doniesienia uzasadniają predykcję detekcji właściwego sprzężenia PAC.



RYSUNEK 3.6. Przebieg sygnału elektrofizjologicznego z opuszki węchowej wybranego szczura po podaniu ketaminy.

Dane pochodzą z publikacji Hunt et al. [34]. Siedem szczurów rasy Wistar (220-250 g) zostało poddanych procedurze implantacji elektrod wolframowych ($125\ \mu\text{m}$, Science Products, Germany), obustronnie w opuszce węchowej¹ i jednostronnie w prążkowiu brzuszonym². Tydzień po operacji zarejestrowano lokalne potencjały polowe przy użyciu wzmacniacza JFET zapewniającego 1000-krotne wzmocnienie, filtrację 0.01-1000 Hz i próbkowanie z częstotliwością 1.6 kHz. Szczury miały możliwość swobodnego poruszania się po klatce, do której były przyzwyczajane przez dwa poprzednie dni po 20 minut dziennie. Zapis obejmował ~ 20 minut podstawowej swobodnej aktywności szczurów, dootrzewnową iniekcję 25 mg/kg ketaminy, a następnie ~ 60 minut aktywności zaburzonej przez ten psychoaktywny środek.

Na koniec badania mózgi szczurów zostały pokrojone ($40\ \mu\text{m}$) przy użyciu kriostatu, a następnie umieszczone na mikroskopowych płytkach pokrytych żelatyną. Lokalizacja końcówek elektrod została ustalona na podstawie skrawków barwionych fioletem kryzlowym.

Zostały podjęte wszelkie środki w celu zminimalizowania bólu, dyskomfortu i liczby zwierząt użytych w tym badaniu. Wszystkie eksperymenty zostały przeprowadzone w zgodzie z europejskimi wytycznymi dotyczącymi opieki i wykorzystywania zwierząt laboratoryjnych (86/609/EEC) oraz zostały zatwierdzone przez lokalną komisję etyczną.

Wstępne przetworzenie danych obejmowało filtrację górnoprzepustową o częstotliwości odcięcia 0.1 Hz (filtr Butterwortha drugiego rzędu), filtrację dolnoprzepustową o częstotliwości odcięcia 230 Hz (filtr Butterwortha drugiego rzędu), przepróbkowanie do 465 Hz i podzielenie danych na 20 s fragmenty. Epoki zawierające mało prawdopodobne próbki³ oraz rozkład próbek znacząco odbiegający od normalnego⁴ zostały automatycznie uznane za artefakty i wykluczone z dalszej analizy. Przykładowa realizacja sygnału przedstawiona jest na rysunku 3.6.

¹AP=+7.5, ML= ± 0.5 , DV=3-3.5 mm, w odniesieniu do bregmy

²AP=+1.6, ML=+0.8, DV=7 mm, w odniesieniu do bregmy

³przy użyciu funkcji *pop_jointprob.m* z narzędzia EEGLAB, z progiem dopuszczalnego prawdopodobieństwa ustalonym na 5 standardowych odchylen

⁴przy użyciu funkcji *pop_rejkurt.m* z narzędzia EEGLAB, z progową wartością kurtozy ustaloną na 5 standardowych odchylen

3.2 Wyniki

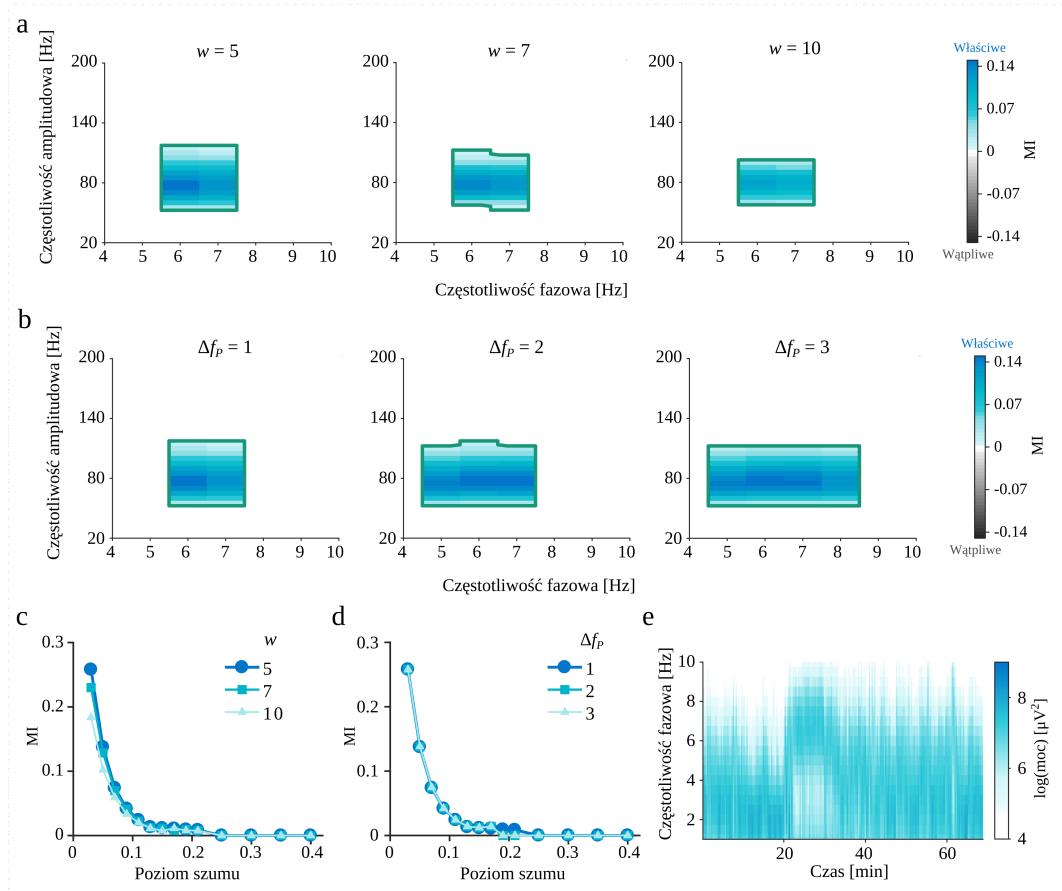
3.2.1 Wybór parametrów analizy eMI

Użytkowanie metody eMI wiąże się z koniecznością ustalenia kilku parametrów analizy. O części z nich można decydować, kierując się przyjętymi normami i wnioskami płynącymi z dostępnej literatury, natomiast część z nich powinna zależeć od natury problemu i charakterystyki analizowanych danych.

W przypadku percentyli rozkładu danych zastępczych (p_C i p_{PC}), wyznaczających prawostronny obszar krytyczny testu statystycznego, proces decyzyjny można oprzeć o powszechnie przyjęte normy zakładające poziom istotności $\alpha = 0.05$ [18]. Z tego powodu we wszystkich badaniach opisanych w tej pracy p_C i p_{PC} równe są 95. Aby umożliwić wyznaczenie tak przyjętego poziomu istotności, liczba powtórzeń generacji danych zastępczych musi wynosić co najmniej $\frac{1}{0.05} = 20$. Jednak zwiększenie liczby N^s prowadzi do zmniejszenia wariancji estymatora wartości krytycznej. Z tego powodu we wszystkich badaniach opisanych w tej pracy $N^s = 200$. Natomiast ustalając liczbę przedziałów fazowych J , można skorzystać z doboru parametrów opisanych w Tort et al. [74]. Na tej podstawie przyjęto $J = 18$ dla wszystkich badań opisanych w tej pracy.

Dobór kolejnych dwóch parametrów, tj. liczby falkowej w i szerokości pasma filtracji oscylacji o niskiej częstotliwości Δf_P , wymaga głębszego zastanowienia. Ich wpływ na wyniki został zilustrowany na rysunku 3.7. Na panelach c i d widać, że przyjęte parametry nie wpływają na wartość miary PAC, a jedynie na rozmiar i kształt obszaru istotnego statystycznie sprzężenia. Zgodnie z przewidywaniami, przy wzroście liczby falkowej w następuje spadek rozdzielczości czasowej i wzrost rozdzielczości częstotliwościowej (panel a). To z kolei prowadzi do zmniejszenia zakresu sprzężonych częstotliwości amplitudowych f_A . Natomiast wzrost szerokości pasma filtracji Δf_P skutkuje spadkiem precyzji określania częstotliwości fazowej – poszerzeniem zakresu sprzężonych częstotliwości fazowych f_P (panel b).

Decyzja odnośnie wyboru wspomnianych powyżej parametrów powinna zależeć od natury problemu i charakterystyki analizowanych danych. Mając pewne założenia odnośnie sprzężonych częstotliwości, można tak dobrać liczbę falkową w , aby rozpiętość w czasie falki o przewidywanej częstotliwości amplitudowej ($\frac{w}{f_A}$) nie przekraczała jednego cyklu przewidywanej częstotliwości fazowej ($\frac{1}{f_P}$). Pozwoli to na lepsze dopasowanie falki do charakterystyki sygnału. Jednak przy zmniejszaniu liczby falkowej warto również mieć na uwadze wynikającą z niej rozdzielczość częstotliwościową – to, czy będzie ona wystarczająca np. do rozróżnienia jednocześnie występujących sprzężeń w dwóch pasmach

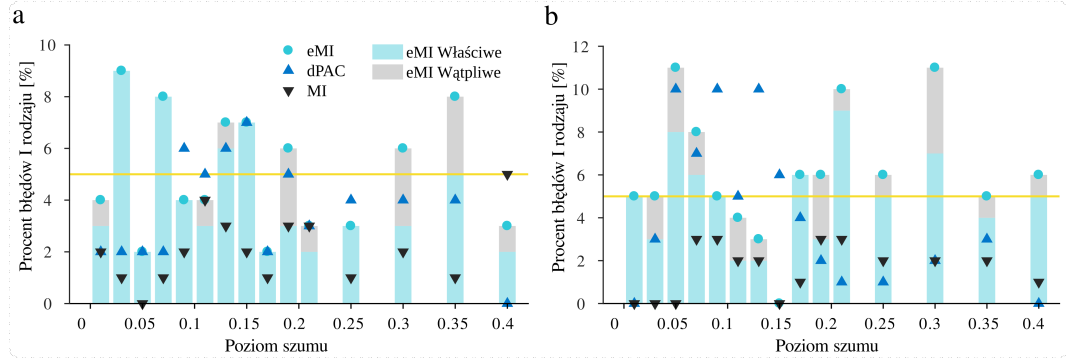


RYСУNEK 3.7. (a-d) Wpływ doboru parametrów metody eMI (w i Δf_P) na wyniki analizy sygnału z paczkami oscylacji o wysokiej częstotliwości (rozdział 3.1.1) wygenerowanego z *Poziomym szumem*=0.05 i innymi parametrami ustalonymi na wartości domyślne. a) Komodulogramy dla $w \in \{5, 7, 10\}$ i $\Delta f_P = 1$. b) Komodulogramy dla $w = 5$ i $\Delta f_P \in \{1, 2, 3\}$. (c-d) Wpływ doboru parametrów w (c) i Δf_P (d) na wartość miary PAC dla sprzężonej pary częstotliwości w zależności od *Poziomego szumu*. Znaczniki wskazują wartość uśrednioną po 10 powtórzeniach. e) Spektrogram danych elektrofizjologicznych (rozdział 3.1.3) w zakresie częstotliwości fazowych f_P . Rozpiętość w częstotliwości aktywności, widocznej ~ 20 min, tuż po iniekcji ketaminy, sugeruje dobór parametru $\Delta f_P = 2$ Hz.

częstotliwości. Natomiast szerokość pasma filtracji oscylacji o niskiej częstotliwości powinna zostać dobrana na podstawie wizualnej inspekcji widma w zakresie częstotliwości fazowych. Dla procesów o wysoce zmiennej częstotliwości oscylacji zalecane jest przyjęcie szerszego pasma filtracji. Przykładem takiej analizy spektralnej jest obserwacja szerokopasmowej aktywności, o szerokości pasma $\sim 2-3$ Hz, na widmie danych elektrofizjologicznych (opisanych w rozdziale 3.1.3) na rysunku 3.7 e.

3.2.2 Swoistość i kontrola błędów I rodzaju

Po dobraniu odpowiednich parametrów analizy zbadano poprawność użytych metod generacji danych zastępczych oraz efektywność zastosowanej kontroli błędów I rodzaju.



RYSUNEK 3.8. Zależność procentu błędów I rodzaju od *Poziomu szumu* dla a) sygnału z losowo rozmieszczonymi paczkami oscylacji o wysokiej częstotliwości (rozdział 3.1.2) i b) filtrowanego szumu (rozdział 3.1.2). Żółta linia wyznacza oczekiwany procent fałszywych detekcji. Turkusowe kółka – metoda eMI, czarne trójkąty – referencyjna metoda MI, niebieskie trójkąty – referencyjna metoda dPAC. Pionowe słupki wskazują stosunek detekcji oznaczonych przez eMI jako *Właściwe* (turkusowa część) i *Wątpliwe* (szara część). Δf_P wynosiło 1 Hz, a $w=5$, gdyż te parametry dawały najbardziej precyzyjne wyniki dla symulowanego sprzężenia pomiędzy 6 a 77 Hz.

W tym celu, dla różnych wartości *Poziomu szumu* z zakresu od 0 do 0.4, wygenerowano 100 realizacji sygnału z losowo rozmieszczonymi paczkami oscylacji o wysokiej częstotliwości (rozdział 3.1.2) i 100 realizacji filtrowanego szumu (rozdział 3.1.2). Obydwa typy sygnałów z założenia nie zawierają sprzężenia PAC, gdyż amplituda oscylacji o wysokiej częstotliwości jest niezależna od fazy oscylacji o niskiej częstotliwości. Z tego powodu, jeśli komodulogram wskazuje na istotne statystycznie sprzężenie dla dowolnej pary częstotliwości, jest to fałszywa detekcja – błąd I rodzaju. Dla każdego *Poziomu szumu* oddzielnie wyznaczony został procent błędów I rodzaju, czyli stosunek liczby fałszywych detekcji do liczby wszystkich realizacji, przemnożony przez 100%. Wyniki dla sygnału z losowo rozmieszczonymi paczkami oscylacji o wysokiej częstotliwości i filtrowanego szumu przedstawiono na rysunku 3.8 odpowiednio na panelach a i b. Zgodnie z założeniami, błędy I rodzaju są kontrolowane na poziomie $1 - \frac{p_C}{100} = 0.05$. Metoda MI ma tendencję do generacji wartości poniżej przewidywanego poziomu. Metody eMI i dPAC wykazują większą zmienność wyników, jednak fluktuują one wokół zamierzonej wartości 5%. Swoistość metody, czyli stosunek liczby realizacji bez jakiegokolwiek detekcji do liczby wszystkich realizacji, dopełnienia procent fałszywych detekcji do 100%. Oznacza to, że wszystkie metody osiągają porównywalną, założoną z góry swoistość $\sim 95\%$.

3.2.3 Czułość i zależność od parametrów analizowanego sygnału

Uznanie kontroli fałszywych detekcji za utrzymaną na prawidłowym poziomie pozwoliło na przejście do kolejnego etapu analizy porównawczej metod: zbadania ich czułości i zależności od parametrów analizowanego sygnału. W tym celu skorzystano z trzech modeli właściwego sprzężenia o symulowanym PAC pomiędzy częstotliwościami $f_P = 6$ Hz

i $f_A = 77$ Hz. Znajomość sprzężonych częstotliwości pozwoliła na porównanie wyników pochodzących tylko z jednej pary częstotliwości.

Korzystając z pierwszego modelu z paczkami oscylacji o wysokiej częstotliwości (rozdział 3.1.1) wygenerowano 10 powtórzeń sygnału dla każdego zestawu badanych parametrów, zmieniając tylko jeden parametr naraz, a resztę ustalając na wartości domyślne. Aby umożliwić porównanie wyników wszystkich trzech metod, zostały one znormalizowane do ich maksymalnej wartości w badanym zakresie parametrów⁵. Rezultaty przedstawiono na rysunku 3.9. Pod każdym wykresem przedstawiającym zależność relatywnej miary PAC od wybranego parametru zamieszczono dodatkowy wykres słupkowy obrazujący procent realizacji z wykrytym sprzężeniem – czułość metody. Warto zauważyć, że niska wartość względnej miary PAC nie wyklucza prawidłowej detekcji sprzężenia. Ogólna obserwacja dotycząca wyników jest taka, że wszystkie metody wykazują podobny wzorzec zależności od badanych parametrów.

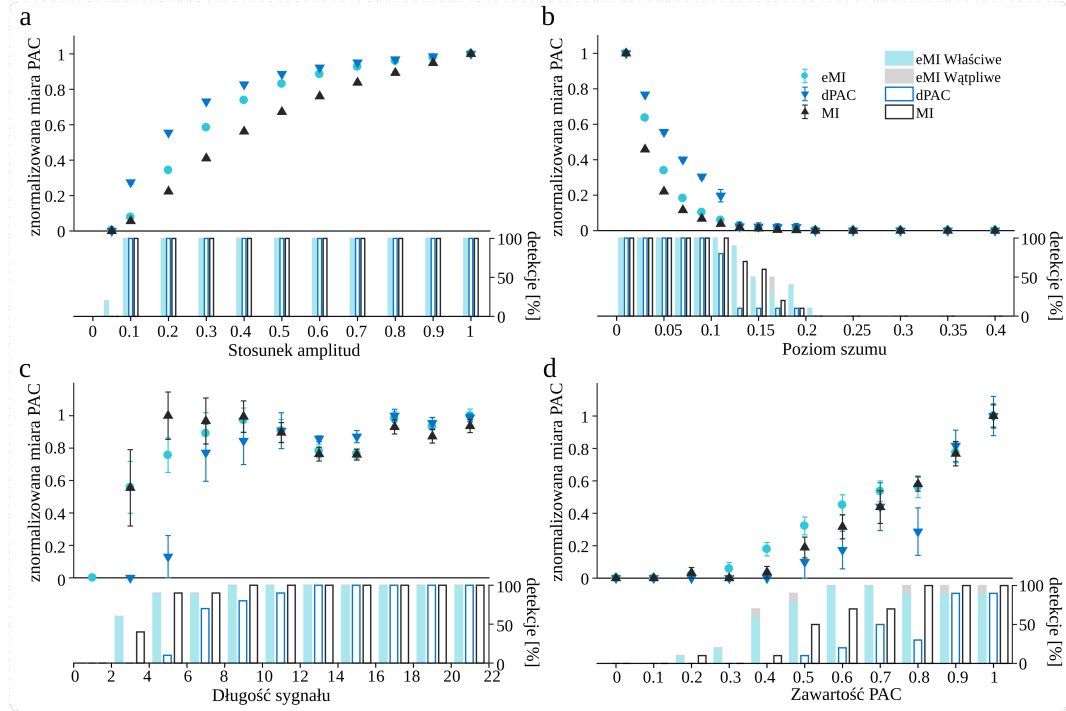
Wraz ze wzrostem *Stosunku amplitud* wszystkie metody przejawiają gwałtowny wzrost, a następnie saturację miary PAC. Zmiany są najszybsze dla metody dPAC, natomiast najwolniejsze dla MI (rys. 3.9 a). Wspólną cechą wszystkich metod jest prawidłowa detekcja 100% przypadków już przy *Stosunku amplitud* równym 0.1. Dodatkowo, eMI wykrywa ~20% realizacji przy *Stosunku amplitud* równym jedynie 0.05.

Wraz ze wzrostem *Poziomu szumu* znormalizowana miara PAC drastycznie maleje (rys. 3.9 b). Zmiany te zachodzą najwolniej dla metody dPAC, najszybciej – dla metody MI. Wszystkie metody są niezdolne do detekcji sprzężenia przy *Poziomie szumu* większym niż 0.2. W tym miejscu istotne wydaje się przypomnienie, że amplituda generowanych paczek oscylacji o wysokiej częstotliwości osiąga maksymalnie poziom równy 0.1. Warto również zauważyć, że pomimo bardzo niskich wartości miary PAC (dla *Poziomu szumu* 0.1 - 0.2) detekcje nadal są obserwowane i jest ich najwięcej dla metody eMI.

Wraz ze wzrostem *Długości sygnału* rośnie wartość miary PAC (rys. 3.9 c). Metody MI i eMI wymagają co najmniej 3 s sygnału, aby wykryć sprzężenie i osiągają wysycenie dla sygnałów dłuższych niż 5 s. Natomiast dPAC do detekcji potrzebuje co najmniej 5 s sygnału i przejawia saturację dla sygnałów dłuższych niż 7 s. Dodatkowo, metoda eMI wyróżnia się najmniejszą wariancją wyników i wysoką czułością.

Wraz ze wzrostem *Zawartości PAC* rośnie miara sprzężenia dla wszystkich metod (rys. 3.9 d). *Zawartość PAC* równa 0.2 jest wystarczająca dla eMI i MI, aby wykryć sprzężenie. Natomiast dla metody dPAC wielkość ta musi być większa niż 0.4. Dodatkowo metoda eMI wyróżnia się najwyższą czułością przy niskich poziomach *Zawartości PAC*.

⁵Minimalna wartość wynosiła zero zarówno przed jak i po normalizacji



RYSUNEK 3.9. Zależność miary PAC od parametrów analizowanego sygnału z paczkami oscylacji o wysokiej częstotliwości (rozdział 3.1.1). Turkusowe kółka – metoda eMI, czarne trójkąty – metoda MI, niebieskie trójkąty – metoda dPAC. Wszystkie miary PAC zostały znormalizowane przez maksymalną wartość w badanym zakresie parametrów. Znaczniki wskazują wartość uśrednioną po 10 powtórzeniach wraz z oznaczonym zakresem SEM. Pionowe słupki wskazują procent detekcji, a dla metody eMI dodatkowo stosunek detekcji oznaczonych jako *Właściwe* (turkusowa część) i *Wątpliwe* (szara część). Δf_P wynosiło 1 Hz, a $w=5$, gdyż te parametry dawały najbardziej precyzyjne wyniki dla symulowanego sprzężenia pomiędzy 6 a 77 Hz.

Jako drugi model właściwego sprzężenia PAC użyto modulacji amplitudowej (rozdział 3.1.1). Wygenerowano po 10 realizacji dla każdego zestawu parametrów, zmieniając tylko jeden naraz, natomiast pozostałe parametry ustawiając na wartości domyślne. Wyniki przedstawiono na rysunku 3.10. Analogicznie do wyników poprzedniego modelu, miary sprzężenia PAC zostały znormalizowane przez maksymalne wartości w badanym zakresie parametrów. Pod każdym wykresem przedstawiającym zależność relatywnej miary PAC od wybranego parametru zamieszczono dodatkowy wykres słupkowy obrazujący procent realizacji z wykrytym sprzężeniem. Tu również ogólna obserwacja jest taka, że wszystkie metody wykazują podobny wzorzec zależności od badanych parametrów.

Wraz ze wzrostem *Stosunku amplitud* wszystkie metody przejawiają bardzo gwałtowny wzrost i wysycenie miary PAC (rys. 3.10 a). Zmiany te najwolniej zachodzą dla metody eMI, a najszybciej dla metod dPAC. Wszystkie metody prawidłowo wykrywają sprzężenie w większości przypadków już dla *Stosunku amplitud* równego jedynie 0.05.

Wraz z rosnącym *Poziomem szumu* maleje znormalizowana miara PAC (rys. 3.10 b).

Wyniki metody dPAC maleją najwolniej, zaś eMI – najszybciej. Wszystkie metody zawodzą w większości przypadków, gdy *Poziom szumu* ≥ 0.3 .

Wraz z *Długością sygnału* miara PAC rośnie gwałtownie i osiąga wysycenie dla sygnałów dłuższych niż 5 s (rys. 3.10 c). Dla metod MI i eMI 3 s sygnału są wystarczające do detekcji sprzężenia, podczas gdy metoda dPAC potrzebuje co najmniej 5 s.

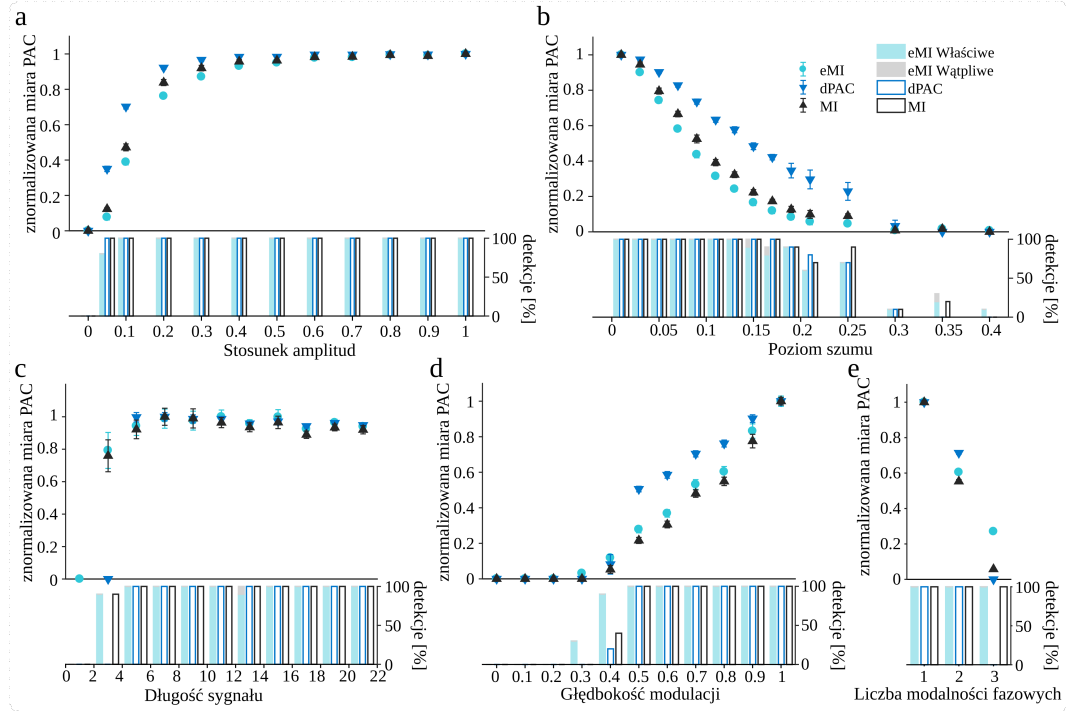
Wraz ze wzrostem *Głębokości modulacji* rośnie miara PAC (rys. 3.10 d). Dla wszystkich metod *Głębokość modulacji* równa 0.5 jest wystarczająca do wykrycia sprzężenia w większości przypadków. Warto zauważyć, że eMI ma względnie wysoką czułość przy relatywnie płytkiej modulacji (0.3-0.4).

Ostatnim modelem właściwego sprzężenia PAC jest sprzężenie wielomodalne (rozdział 3.1.1). Wygenerowano 10 powtórzeń dla każdej *Liczby modów fazowych*, gdzie reszta parametrów przyjęła wartości domyślne. Kolejne *Liczby modów fazowych* oznaczają, że dla 1 sprzężenie występuje dla fazy $\frac{4\pi}{5}$, dla 2 pojawia się dodatkowe sprzężenie w fazie $\frac{3\pi}{2}$, a dla 3 dodane jest jeszcze jedno sprzężenie w fazie $\frac{\pi}{10}$. Wyniki przedstawiono na rysunku (rys. 3.10 e). Metoda dPAC bazuje na długości średniego wektora, przez co dodanie każdej kolejnej fazy powoduje skrócenie wektora wypadkowego. Zatem dla *Liczby modów fazowych* równej 1 wszystkie metody wykrywają sprzężenie w 100% przypadków. Gdy parametr przyjmie wartość 2, czułość nadal pozostaje na poziomie 100%, choć miara sprzężenia maleje. Zgodnie z założeniami dla *Liczby modów fazowych* równej 3 metoda dPAC nie wykrywa żadnego sprzężenia. Natomiast metody MI i eMI mają nadal 100% skuteczność detekcji, a zmniejszeniu ulega jedynie znormalizowana miara PAC.

3.2.4 Analiza danych elektrofizjologicznych

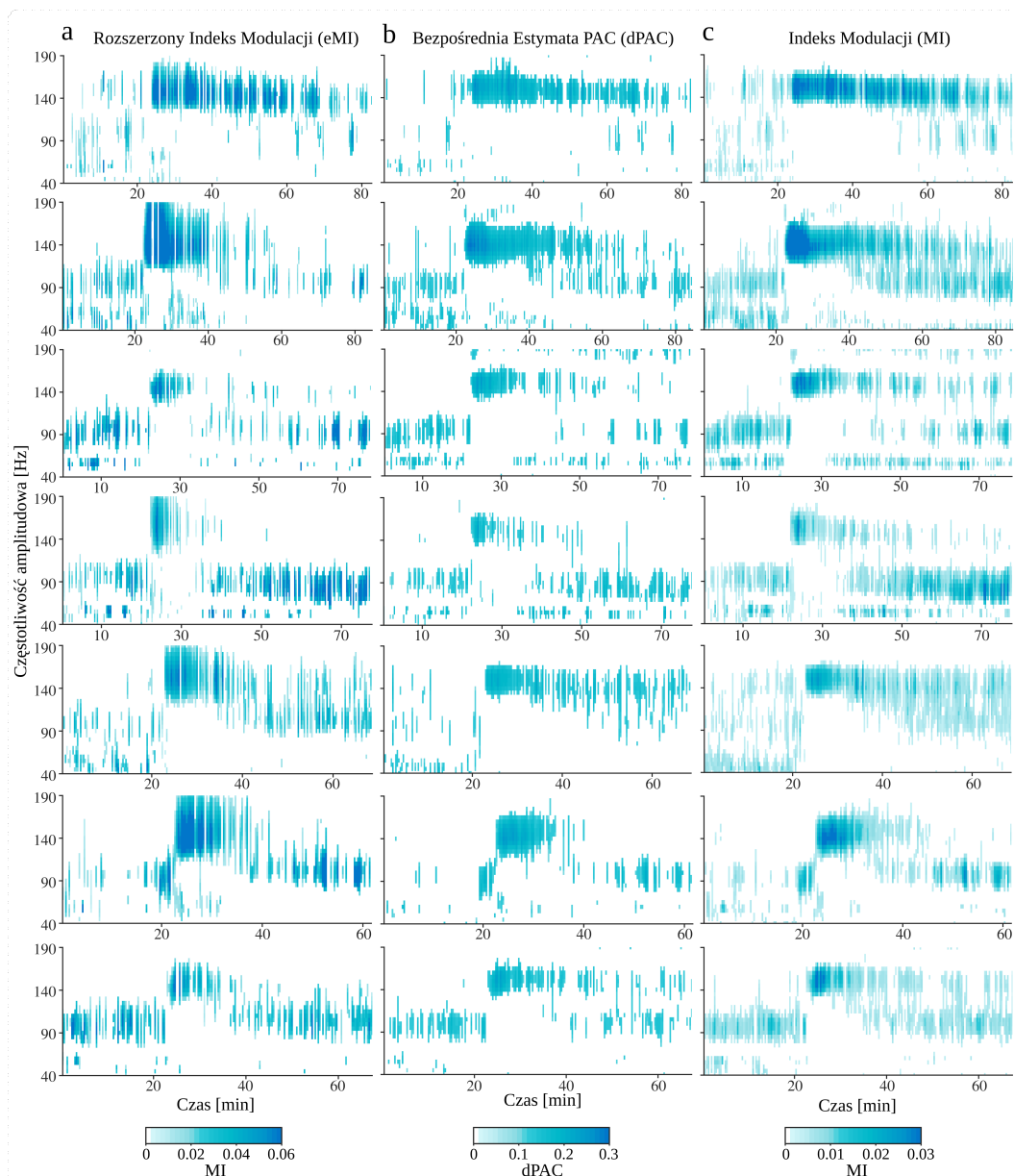
Dane elektrofizjologiczne pochodzące od szczurów po podaniu im ketaminy (rozdział 3.1.3) posłużyły do porównania metod w warunkach eksperymentalnych. Bazując na literaturze [39], uzasadnione jest oczekiwanie obecności sprzężenia pomiędzy rytmem teta (4-8 Hz) a rytmem gamma (40-80 Hz) podczas podstawowej swobodnej aktywności szczurów. Dodatkowo, na podstawie badań w innych obszarach korowych i prążkowie można przewidywać pojawienie się sprzężenia pomiędzy rytmem teta a HFO (~ 150 Hz) związanego z podaniem środka psychoaktywnego [13, 17, 64, 83].

Zapis sygnału LFP każdego ze szczurów, podzielony na 20 s fragmenty (nazywane dalej epokami), został poddany analizie sprzężenia PAC przy użyciu wszystkich trzech metod. Aby podsumować obszerne wyniki, przedstawiono je w postaci zależności wykrytych sprzężeń od czasu. Do każdej epoki i do każdej częstotliwości amplitudowej przypisane



RYSUNEK 3.10. Zależność miary PAC od parametrów analizowanego sygnału (a-d) z modulacją amplitudową (rozdział 3.1.1) i (e) ze sprzężeniem wielomodalnym (rozdział 3.1.1). Turkusowe kółka – metoda eMI, czarne trójkąty – metoda MI, niebieskie trójkąty – metoda dPAC. Wszystkie miary PAC zostały znormalizowane przez maksymalną wartość w badanym zakresie parametrów. Znaczniki wskazują wartość uśrednioną po 10 powtórzeniach wraz z oznaczonym zakresem SEM. Pionowe słupki wskazują procent detekcji, a dla metody eMI dodatkowo stosunek detekcji oznaczonych jako *Właściwe* (turkusowa część) i *Wątpliwe* (szara część). Δf_P wynosiło 1 Hz, a $w=5$, gdyż te parametry dawały najbardziej precyzyjne wyniki dla symulowanego sprzężenia pomiędzy 6 a 77 Hz.

zostało maksimum miary PAC, wybrane spośród wyników dla wszystkich badanych częstotliwości fazowych (2-10 Hz). W przypadku metody eMI brane pod uwagę były tylko sprzężenia oznaczone jako *Właściwe*. Przy zestawieniu tak wielu wyników pojawia się problem wielokrotnych porównań. Aby kontrolować częstotliwość występowania fałszywych odkryć, zastosowano poprawkę FDR. Rezultaty przedstawiono na rysunku 3.11, kolejno dla metod eMI (a), dPAC (b) oraz MI (c). Można zaobserwować silne sprzężenie z HFO (~ 150 Hz) pojawiające się tuż po podaniu ketaminy (około 21 minuty) i utrzymujące się nawet przez godzinę. Dodatkowo, widoczne jest sprzężenie z oscylacją gamma (około 90 Hz), obecne przed iniekcją, znacznie osłabione do 20 minut po zastrzyku, a następnie odbudowujące się. Wyniki te są spójne dla wszystkich trzech metod.



RYSUNEK 3.11. Rezultaty analizy PAC danych elektrofizjologicznych (rozdział 3.1.3). Wyniki przedstawiono dla wszystkich szczurów (w kolejnych rzędach) i dla wszystkich metod (w kolejnych kolumnach): a) eMI (tu widoczne tylko sprzężenie oznaczone jako *Właściwe*), b) dPAC, c) MI. Ketamina została podana około 21 minuty. Wyniki zawierają poprawkę FDR z progiem istotności $q = 0.05$. Δf_P wynosiło 2 Hz, a $w = 7$.

3.3 Wnioski

Celem badań opisanych w tym rozdziale była obrona tezy mówiącej o tym, że **autorska metoda eMI poprawnie wykrywa sprzężenie PAC, a jej czułość, swoistość i zależność od parametrów analizowanego sygnału jest porównywalna z metodami referencyjnymi.**

W pierwszej kolejności sprawdzono, jaki jest wpływ parametrów analizy na wyniki. Badania objęły dwa parametry (w i Δf_P), których dobór zależy od natury problemu i charakterystyki analizowanych danych. Każdorazowo decyzja odnośnie ich wartości musi zostać podjęta przez użytkownika i nie da się jej uzasadnić przyjętymi normami lub dostępnymi publikacjami. Wyniki przeprowadzonych badań (rozdział 3.2.1) pokazały, że miara sprzężenia PAC nie jest zależna od dobranych parametrów (przyjmujących wartości w rozsądnym zakresie). Liczba falkowa w i szerokość pasma filtracji Δf_P mają wpływ jedynie na kształt i rozległość obszaru istotnego sprzężenia, czyli na precyzję określania sprzężonych częstotliwości. Wyniki te pozwoliły na potwierdzenie stabilności metody eMI oraz na sformułowanie praktycznych wskazówek dotyczących doboru optymalnych parametrów.

W kolejnym kroku zbadano poprawność użytych metod generacji danych zastępczych oraz efektywność zastosowanej kontroli błędów I rodzaju. Przewidywany poziom swoistości powinien być zgodny z parametrem p_C i wynosić 95%. Z kolei procent błędów I rodzaju powinien być równy: $100\% - \text{swoistość} = 5\%$. Wyniki opisane w rozdziale 3.2.2 potwierdzają te założenia. Dla wszystkich metod procent fałszywych detekcji znajduje się w okolicy 5%. Rozrzut otrzymanych wartości spowodowany jest stosunkowo niską liczbą realizacji. Przeprowadzona analiza potwierdza prawidłowe wnioskowanie statystyczne o efektach prezentowanych na komodulogramach oraz porównywalny poziom swoistości wszystkich metod.

Powyższe wnioski pozwalają na rzetelne porównanie wszystkich trzech metod w kontrolowanych warunkach symulacyjnych. Wyniki tego zestawienia zostały opisane w rozdziale 3.2.3. Wszystkie metody przejawiają podobną charakterystykę zależności od badanych parametrów analizowanego sygnału pomimo pewnych różnic w szybkości narastania lub opadania miary PAC. Detekcja większości realizacji sprzężeń ($> 50\%$) możliwa jest dla *Stosunku amplitud* powyżej 0.1-0.05, a *Poziomu szumu* poniżej 0.2-0.3 odpowiednio dla modelu sygnału z paczkami oscylacji o wysokiej częstotliwości i z modulacją amplitudową. Dla metod MI i eMI 3-5 s sygnału są wystarczające, podczas gdy metoda dPAC potrzebuje co najmniej 5-7 s sygnału (odpowiednio dla analogicznych modeli sprzężenia jak powyżej). Ta różnica pomiędzy metodami występująca przy badaniu wpływu *Długości sygnału* najprawdopodobniej wynika ze strategii eliminacji efektów brzegowych

(obcinanie pierwszej i ostatniej sekundy sygnału), którą stosuje dPAC. Dalsze różnicowanie metod dotyczy *Zawartości PAC*, gdzie eMI wystarczy 0.4, MI potrzebuje 0.5, a dPAC 0.7. Wymagana minimalna *Głębokość modulacji* dla eMI wynosi 0.4, natomiast dla metod referencyjnych 0.5. eMI i MI, w odróżnieniu od dPAC, są w stanie wykryć PAC nawet przy *Liczbie modów fazowych* równej 3. Biorąc pod uwagę graniczne wartości parametrów umożliwiające detekcję ponad połowy przypadków sprzężenia, metoda eMI wypada równie dobrze, jak inne metody lub nieco lepiej. Wynika to z porównywalnej lub miejscami wyższej czułości autorskiej metody, w stosunku do metod referencyjnych.

Ostatnim etapem analizy porównawczej jest zestawienie wyników pracy z rzeczywistym sygnałem elektrofizjologicznym dla wszystkich trzech metod. Dane eksperymentalne pochodziły z opuszki węchowej (*OB*) szczurów, którym podano ketaminę. W wielu badaniach wykazano, że ten środek psychoaktywny wywołuje u szczurów anormalne oscylacje o wysokiej częstotliwości ~ 150 Hz [13, 17, 31, 64]. Wiadome jest również, że przy braku ingerencji farmakologicznej w opuszcce węchowej można zaobserwować sprzężenie oscylacji gamma (40-80 Hz) z rytmem teta (praca przeglądowa [39]). Wyniki analizy opisane w rozdziale 3.2.4 potwierdzają obecność przewidywanego sprzężenia z rytmem gamma, które pojawia się przed iniekcją ketaminy, znacznie maleje do 20 minut po zastrzyku, a następnie powraca do początkowego poziomu. Dodatkowo, tuż po podaniu środka psychoaktywnego można zaobserwować silne sprzężenie z HFO (około 150 Hz). To spostrzeżenie jest zgodne z wynikami analogicznych badań w innych obszarach korowych i prążkowie [13, 17, 64, 83]. Warto zauważyć, że przebieg sprzężenia z HFO (pojawienie się tuż po podaniu ketaminy, duża intensywność przez pierwsze 15 minut, a następnie powolny zanik) jest spójny z przebiegiem aktywności behawioralnej w analogicznym eksperymencie raportowanym w Hunt et al. [31]. Ta obserwacja potwierdza hipotezę mówiącą o tym, że sprzężenie teta/HFO obserwowane w strukturach zwojów korowo-podstawnych jest cechą charakterystyczną hiperlokomocji będącej efektem działania ketaminy [17]. Powyższe wyniki i ich zbieżność z literaturą implikują prawdziwość sprzężeń wykrytych w danych eksperymentalnych. Warto również zauważyć podobieństwo rezultatów analizy otrzymanych przy użyciu różnych metod: zgodność sprzężonych częstotliwości, przebiegu w czasie oraz siły sprzężenia.

Badania opisane w powyższym rozdziale potwierdzają poprawność działania autorskiej metody eMI. Wyniki świadczą o tym, że jest stabilna, właściwie wykrywa sprzężenie PAC zarówno w danych symulacyjnych, jak i elektrofizjologicznych, a jej swoistość, czułość i zależność od parametrów analizowanego sygnału są porównywalne z metodami referencyjnymi.

Rozdział 4

Teza 2

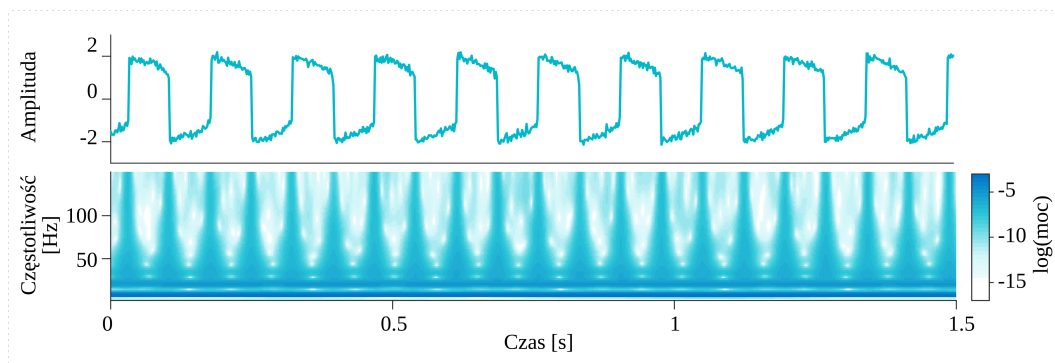
Autorska metoda eMI, w przeciwieństwie do metod referencyjnych, wspiera interpretację wykrytego sprzężenia.

W poniższym rozdziale opisany został zestaw badań mających na celu zaprezentowanie elementów metody eMI, które wspierają interpretację wykrytego sprzężenia. Przetestowany został heurystyczny algorytm określający genezę PAC oraz rozważona została wartość wykresów pomocniczych, które zapewniają dodatkowe informacje o charakterystyce wykrytego sprzężenia. W tym celu zbadano sygnały symulacyjne ze sprzężeniem o wiadomym pochodzeniu, co pozwoliło na identyfikację cech rozróżniających genezę epifenomenalną i właściwą. W następnej kolejności analizie poddano dane elektrofizjologiczne zawierające sprzężenie o przewidywanej genezie, co pozwoliło na sprawdzenie poprawności działania heurystycznego algorytmu eMI i wartości wykresów pomocniczych w warunkach eksperymentalnych. W celach porównawczych, całość analiz przeprowadzono również dla metod referencyjnych. Opisane poniżej wyniki i wnioski stanowią rozszerzenie rozważań zawartych w pracy Jurkiewicz et al. [38].

4.1 Dane

4.1.1 Model sprzężenia właściwego

Aby zbadać cechy sprzężenia o wiadomym, właściwym pochodzeniu, skorzystano z modelu sprzężenia z paczkami oscylacji o wysokiej częstotliwości opisanego w rozdziale 3.1.1. Parametry sygnału wybrano z zakresu gwarantującego detekcję przez wszystkie trzy metody: *Stosunek amplitud* wynosił 0.1, *Poziom szumu* ustalono na 0.05, *Długość sygnału* wyniosła 10 s, a *Zawartość PAC* przyjęła wartość 1.



RYSUNEK 4.1. Przebieg sygnału oscylatora van der Pola wraz ze skalogramem (liczba falkowa $w=5$).

4.1.2 Model sprzężenia epifenomenalnego

Istnieje wiele sposobów na generację sprzężenia epifenomenalnego. Wybrano kilka z nich, które reprezentują różne podłoża tego zjawiska. Analiza tych sygnałów pozwoli zbadać cechy niewłaściwego PAC i posłuży do oceny możliwości identyfikacji genezy sprzężenia.

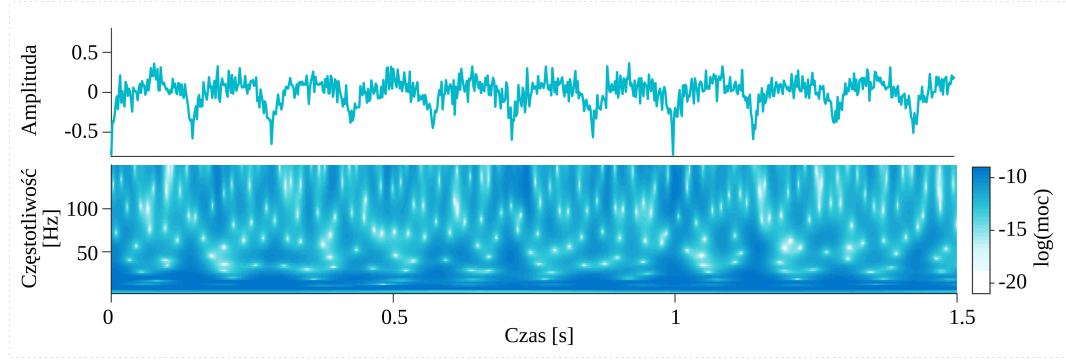
Oscylator van der Pola

Oscylator van der Pola to model generatora nieliniowych oscylacji zawierających nagłe wzrosty i spadki amplitudy. Wyprodukowany przy jego użyciu sygnał zawiera sprzężenie epifenomenalne [42]. Falszywe PAC ma swoje źródło w kształcie sygnału, który przy analizie częstotliwościowej przejawia się jako szereg częstotliwości harmonicznych. Przewidywane jest wystąpienie sprzężenia pomiędzy bazową częstotliwością oscylatora i szerokim pasmem wysokich częstotliwości harmonicznych, które w przestrzeni czas-częstotliwość składają się na nagłe wzrosty i spadki amplitudy sygnału.

Sygnał uzyskano jako rozwiązanie równania różniczkowego van der Pola:

$$\frac{d^2y}{dt^2} = \mu(1 - y^2)\frac{dy}{dt} - y \quad (4.1)$$

gdzie parametr μ przyjmuje wartość 45, co daje częstotliwość bazową 7 Hz przy częstotliwości próbkowania 512 Hz i długości sygnału 10 sekund. Amplituda oscylacji zostaje znormalizowana, tak aby jej maksimum wynosiło 1. Do tak powstałego sygnału zostaje dodany biały Gaussowski szum o standardowym odchyleniu równym 0.1. Przykładowa realizacja sygnału wraz z mapą czas-częstotliwość przedstawiona jest na rysunku 4.1.



RYSUNEK 4.2. Przebieg sygnału arkad wraz ze skalogramem (liczba falkowa $w=5$).

Arkady

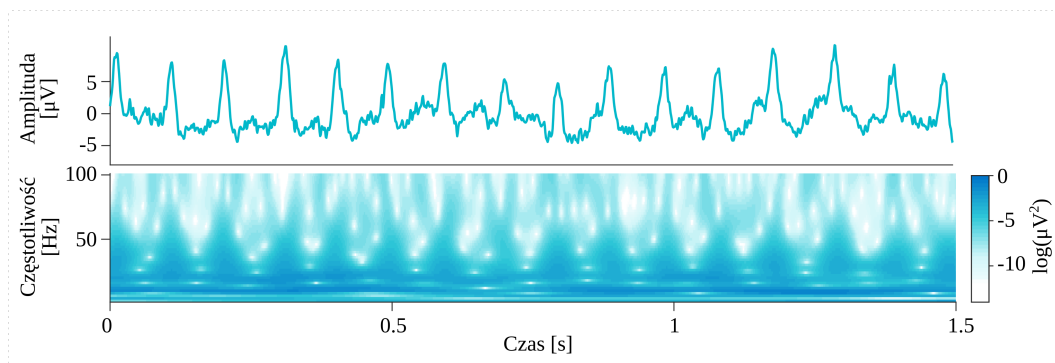
Ten model imituje nagłe wyładowania podczas napadu epileptycznego o charakterystycznym kształcie "arkad". Sygnał opisany jest funkcją nieliniową, która skutkuje obecnością sprzężenia epifenomenalnego. Przewidywane jest wystąpienie PAC pomiędzy bazową częstotliwością oscylacji, a szerokim pasmem częstotliwości reprezentujących w dziedzinie czas-częstotliwość ostre struktury sygnału. Sygnał ten powstaje poprzez zastosowanie wzoru:

$$s(t) = |\sin(2\pi ft)|^{0.2} \quad (4.2)$$

gdzie f to bazowa częstotliwość wyładowań (ustalona na 7 Hz). Długość sygnału wynosi 10 sekund, natomiast częstotliwość próbkowania 512 Hz. Do tak powstałego sygnału zostaje dodany biały Gaussowski szum o standardowym odchyleniu równym 0.1. Przykładowa realizacja sygnału wraz z mapą czas-częstotliwość przedstawiona jest na rysunku 4.2.

Okresowo występujące funkcje Gaussa

Kolejnym modelem sprzężenia epifenomenalnego są periodyczne, szybkozmienne (szybko narastające lub opadające) struktury [24]. Jego przykładową realizacją jest spoczynkowy sygnał EEG, który nie zawiera sprzężenia, wraz z dodaną serią funkcji Gaussa. Przewidywane jest wystąpienie PAC pomiędzy częstotliwością pojawiania się szybkozmiennych struktur, a szerokim pasmem częstotliwości składających się na nie w dziedzinie czas-częstotliwość. Krzywe dzwonowe umieszczono w odstępach losowanych z rozkładu płaskiego 100 ± 20 ms, co odpowiada średniej częstotliwości 10 Hz. Ich amplituda przyjmuje wartości 2 lub 5 standardowych odchyleni sygnału EEG, natomiast szerokość połówkowa wynosi 15 ms. Wstępne przetworzenie danych obejmowało filtrację górnoprzepustową o częstotliwości odcięcia 1 Hz (filtr Butterwortha drugiego rzędu), filtrację dolnoprzepustową o częstotliwości odcięcia 250 Hz (filtr Butterwortha drugiego rzędu) i wybranie



RYSUNEK 4.3. Przebieg sygnału z okresowymi funkcjami Gaussa wraz ze skalogramem (liczba falkowa $w=5$).

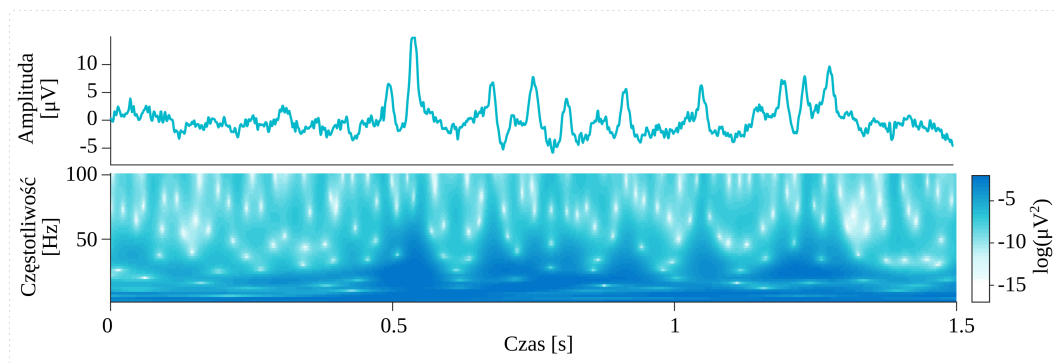
fragmentu sygnału o długości 10 s. Częstotliwość próbkowania to 1000 Hz. Przykładowa realizacja sygnału wraz z mapą czas-częstotliwość przedstawiona jest na rysunku 4.3.

Nieokresowo występujące funkcje Gaussa

Ostatni model sprzężenia epifenomenalnego ilustruje tezę, że periodyczność szybkozmennych struktur nie jest warunkiem koniecznym do obserwacji niewłaściwego PAC [24]. Może ono wystąpić wtedy, gdy przy skończonej długości badanego sygnału losowa lokalizacja ostrych struktur spowoduje nieidealnie płaski rozkład odstępów między strukturami. Przy silnym efekcie tej niejednorodności, skutkuje to detekcją sprzężenia między wyróżnioną częstotliwością występowania szybkozmennych struktur, a szerokim pasmem częstotliwości składających się na nie w dziedzinie czas-częstotliwość. Generacja sygnału polega na dodaniu serii nieperiodycznych funkcji Gaussa do spoczynkowego zapisu EEG niezawierającego sprzężenia. Lokalizacja 100 funkcji Gaussa losowana jest z rozkładu płaskiego od 0 do 10 s. Amplituda krzywych dzwonowych przyjmuje wartości 2 lub 5 standardowych odchyłeń sygnału EEG, natomiast szerokość połówkowa wynosi 15 ms. Wstępne przetworzenie danych obejmowało filtrację górnoprzepustową o częstotliwości odcięcia 1 Hz (filtr Butterwortha drugiego rzędu), filtrację dolnoprzepustową o częstotliwości odcięcia 250 Hz (filtr Butterwortha drugiego rzędu), wybranie fragmentu sygnału o długości 10 s, a następnie dodanie serii nieperiodycznych funkcji Gaussa. Częstotliwość próbkowania to 1000 Hz. Przykładowa realizacja sygnału wraz z mapą czas-częstotliwość przedstawiona jest na rysunku 4.4.

4.1.3 Dane elektrofizjologiczne

Opisane poniżej dane elektrofizjologiczne zostały tak dobrane, aby możliwe było dokonanie pewnych predykcji co do genezy zawartego w nich sprzężenia. Ten zbiór sygnałów



RYSUNEK 4.4. Przebieg sygnału z nieokresowymi funkcjami Gaussa wraz ze skalogramem (liczba falkowa $w=5$).

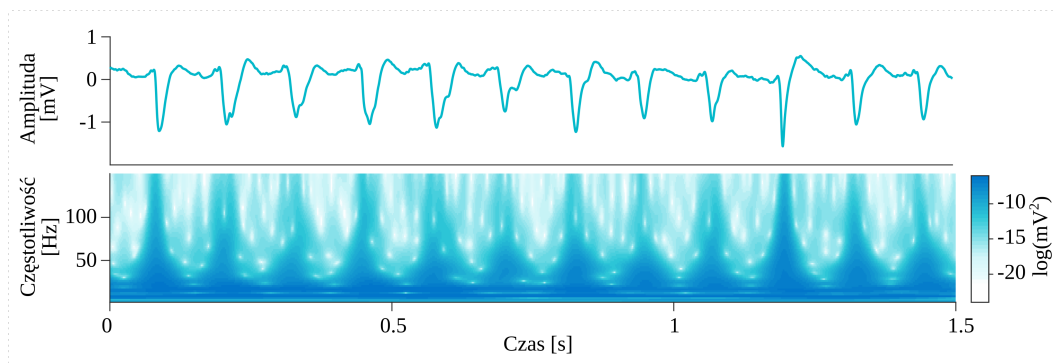
pozwoili na sprawdzenie poprawności działania heurystycznego algorytmu eMI i wartości wykresów pomocniczych w warunkach eksperymentalnych.

Napad epileptyczny u szczura

Dane pochodzą z publikacji Meeren et al. [51], z jednego szczura szczepu WAG/Rij, który cierpiał na genetycznie uwarunkowane zaburzenie epileptyczne. Schorzenie to jest przyczyną występowania setek spontanicznych napadów epileptycznych dziennie, których zapis może zawierać sprzężenie PAC (bazując na pracy Samiee et al. [67]). Z drugiej strony postuluje się, że periodyczne iglice padaczkowe są generowane przez dynamiczny proces nieliniowy [63]. Informacje te pozwalają na przypuszczanie obecności epifenomenalnego PAC w analizowanym sygnale.

Badany szczur został poddany implantacji dwóch rzędów elektrod (łącznie 14 elektrod ze stali nierdzewnej, o średnicy $100\text{ }\mu\text{m}$, izolowane z wyjątkiem końcówki, California Fine Wire, Grover Beach, CA) w grzbietowej powierzchni korowej w kierunku strzałkowym, po jednym rzędzie w każdej półkuli ($AP=[+4.0,+2.0,+0.0,-2.0,-4.0,-6.0,-8.0]\text{ mm}$, $ML=\pm 3.0\text{ mm}$ w odniesieniu do bregmy). Do analizy wybrana została elektroda umieszczona w ($AP=+2.0\text{ mm}$, $ML=-3.0\text{ mm}$). 10 dni po operacji, zarejestrowano sygnał LFP przy użyciu różnicowego wzmacniacza (DATAQ Instruments, Inc., Akron, OH) zapewniającego filtrację 1-1000 Hz i próbkowanie z częstotliwością 2 kHz. Podczas nagrania szczury miały możliwość swobodnego poruszania się po klatce, a zapis trwał, dopóki nie wystąpiła odpowiednia liczba napadów epileptycznych. Eksperyment został zatwierdzony przez lokalną komisję etyczną Uniwersytetu w Nijmegen.

Wstępne przetworzenie danych obejmowało filtrację górnoprzepustową o częstotliwości odcięcia 1 Hz (filtr Butterwortha drugiego rzędu), filtrację dolnoprzepustową o częstotliwości odcięcia 250 Hz (filtr Butterwortha drugiego rzędu) i wycięcie z danych 10 s fragmentu zawierającego napad epileptyczny. Przykładowy fragment sygnału wraz z mapą



RYSUNEK 4.5. Przebieg sygnału z napadem epileptycznym u szczura wraz ze skalogramem (liczba falkowa $w=5$).

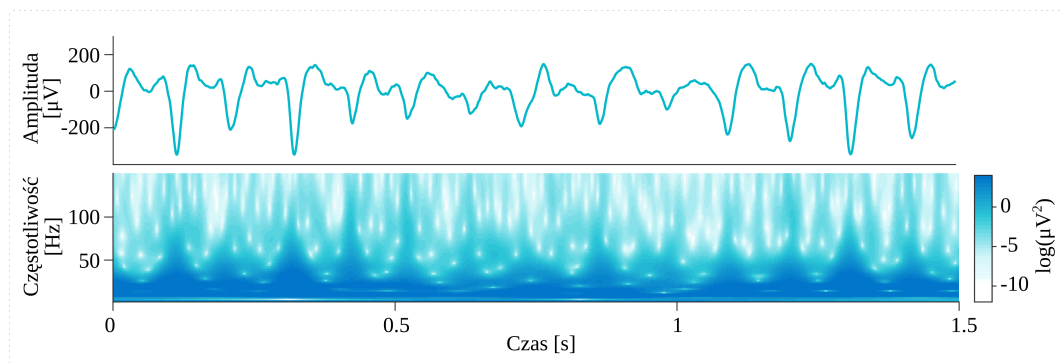
czas-częstotliwość przedstawiony jest na rysunku 4.5.

Rytm Mu

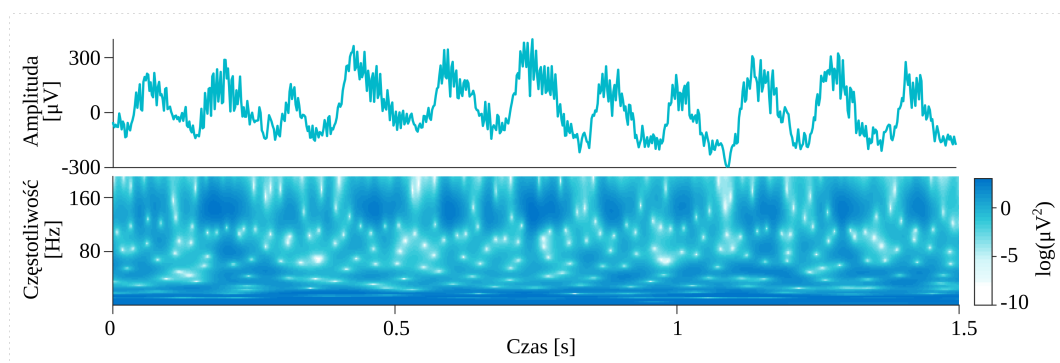
Kolejnym sygnałem rzeczywistym przypuszczalnie zawierającym sprzężenie epifenomenalne jest wewnątrzczaszkowy zapis elektroencefalograficzny rytmu mu. Dane te pochodzą z pracy Gerber et al. [24], gdzie zostały udostępnione w materiałach uzupełniających. Autor nie tylko raportuje obecność PAC, ale również postuluje jego pochodzenie jako zależne jedynie od kształtu sygnału (rytm mu charakteryzuje się oscylacją zawierającą szybkozmienne struktury w kształcie greckiej litery μ).

Dane pochodzą od osoby wykonującej zadanie polegające na sygnalizowaniu przyciskiem pojawienie się obrazka z zadanej kategorii. Elektroda wykorzystana w tym badaniu została umieszczona w prawej półkuli w pierwszorzędowej korze czuciowej. Sygnał ECoG zarejestrowano przy użyciu wzmacniacza Tucker-Davis Technologies (TDT) o częstotliwości próbkowania 3051.76 Hz. Zapis czynności elektrycznej mózgu, nie zawierający aktywności epileptycznej, został przepróbkowany do częstotliwości 1 kHz i poddany filtracji górnoprzepustowej o częstotliwości odcięcia 0.5 Hz. Eksperyment został zatwierdzony przez lokalny komitet ds. badań na ludziach Uniwersytetu Kalifornijskiego w Berkeley oraz radę rewizyjną Uniwersytetu Stanforda.

Wstępne przetworzenie danych obejmowało filtrację górnoprzepustową o częstotliwości odcięcia 1 Hz (filtr Butterwortha drugiego rzędu), filtrację dolnoprzepustową o częstotliwości odcięcia 250 Hz (filtr Butterwortha drugiego rzędu) i wycięcie z danych 10 s fragmentu zawierającego wyraźny rytm mu. Przykładowy fragment sygnału wraz z mapą czas-częstotliwość przedstawiony jest na rysunku 4.6.



RYSUNEK 4.6. Przebieg sygnału z rytmem mu wraz ze skalogramem (liczba falkowa $w=5$).



RYSUNEK 4.7. Przebieg sygnału elektrofizjologicznego po iniekcji ketaminy u szczura wraz ze skalogramem (liczba falkowa $w=7$).

Iniekcja ketaminy u szczura

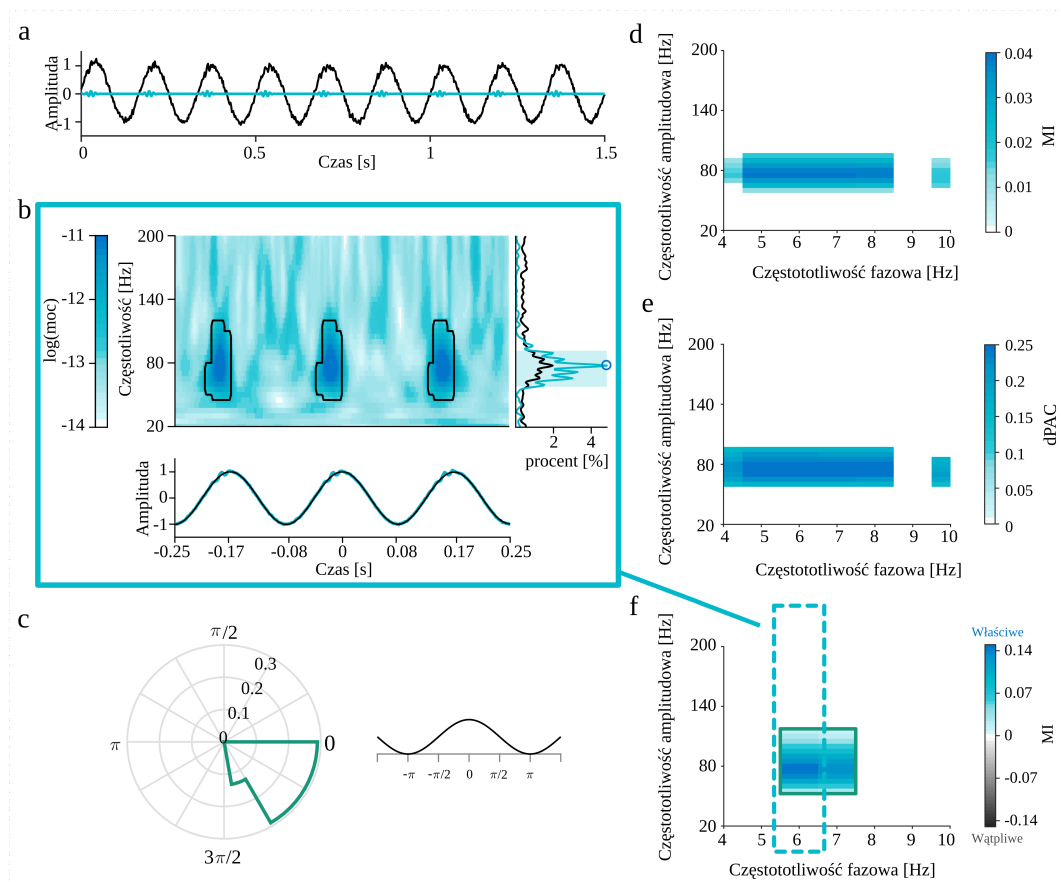
Ostatnie dane eksperymentalne, będące zapisem lokalnych potencjałów polowych z opuszki węchowej szczurów po podaniu ketaminy, zostały już wcześniej opisane w rozdziale 3.1.3. Wprowadzenie do tematyki tych badań elektrofizjologicznych znajduje się w rozdziale 1.6. Istnieje wiele publikacji informujących o wykryciu sprzężenia PAC pomiędzy rytmem teta (4-8 Hz) a oscylacjami o wysokiej częstotliwości (~ 150 Hz) w tego typu eksperymentach [13, 17, 64, 83]. Pozwala to na przewidywanie detekcji PAC również w tym przypadku. Wizualna inspekcja surowego sygnału uwidacznia obecność wspomnianych oscylacji o wysokiej i niskiej częstotliwości, co z kolei sugeruje fizjologiczną genezę sprzężenia. W niniejszym badaniu wykorzystano tylko jedną przykładową 20 s epokę pochodzącą od wybranego szczura. Wybrany fragment tego sygnału wraz z mapą czas-częstotliwość przedstawiono na rysunku 4.7.

4.2 Wyniki

4.2.1 Identyfikacja cech właściwego PAC

Aby poznać cechy właściwego PAC, poddano analizie sygnał symulacyjny z paczkami oscylacji o wysokiej częstotliwości, opisany w rozdziale 4.1.1. Symulacja modeluje sprzężenie pomiędzy częstotliwościami 7 i 66 Hz. Na rysunku 4.8 przedstawione zostały wyniki analizy przeprowadzonej przy użyciu metody eMI (rys. 4.8 b, c, f) oraz metod referencyjnych MI (rys. 4.8 d) i dPAC (rys. 4.8 e). Rozległość obszaru istotnego sprzężenia na komodulogramach jest zróżnicowana. Metoda eMI wykazuje największą precyzję określania częstotliwości fazowej, podczas gdy metody referencyjne wykazują większą dokładność w wymiarze częstotliwości amplitudowej. Pomimo tych różnic można zaobserwować, że sprzężenie właściwe obejmuje ograniczony zakres częstotliwości amplitudowych - nie rozciąga się od dolnej granicy f_A . Dodatkowych informacji odnośnie charakterystyki właściwego sprzężenia dostarczają wykresy pomocnicze autorskiej metody (rys. 4.8 b):

- W przypadku analizy jednokanałowego sygnału, będącego źródłem zarówno wysokich, jak i niskich częstotliwości, średni sygnał (na turkusowo) zawiera regularne oscylacje o kształcie sinusa, zgodne ze średnią oscylacją o niskiej częstotliwości (na czarno). Gdy źródła oscylacji znajdują się w oddzielnych kanałach, średni sygnał nie musi mieścić w sobie sinusoidalnych oscylacji o niskiej częstotliwości. Ważne jest jednak, że w obydwu przypadkach średni sygnał nie przejawia nagłych nieoscylacyjnych wzrostów lub spadków amplitudy w momentach, które odpowiadają sprzężonej fazie (lokalizacja w czasie czarnych obrysów na średniej mapie czas-częstotliwość). W sytuacji wysoce zsynchronizowanego sprzężenia (omawiany przypadek) w tych chwilach czasu uwidaczniają się paczki oscylacji o wysokiej częstotliwości.
- Średnia mapa czas-częstotliwość wewnątrz czarnych obrysów zawiera obszary o zwiększonej mocy z maksimum w okolicy środka zakreślonego pola. Zakres sprzężonych częstotliwości amplitudowych jest ograniczony i nie rozciąga się począwszy od najniższej wartości f_A .
- W sytuacji wysoce zsynchronizowanego sprzężenia (omawiany przypadek) widmo średniego sygnału (kolor turkusowy) przejawia lokalne maksimum odpowiadające sprzężonej częstotliwości amplitudowej wraz z możliwą strukturą harmoniczną, wokół tego piku, malejącą po obu stronach. Maksimum (niebieskie kółko) mieści się w zakresie częstotliwości odpowiadającym najwyższej wartości MI (zaciemniony obszar widma). Spełnienie tego warunku skutkuje prawidłowym określeniem



RYSUNEK 4.8. Wyniki analizy modelu właściwego sprzężenia: sygnału z paczkami oscylacji o wysokiej częstotliwości (4.1.1). a) Symulowany sygnał na czarno i składowy sygnał o wysokiej częstotliwości na turkusowo. b) Wykresy pomocnicze metody eMI dla $f_P = 6$ Hz: górny wykres – średnia mapa z czarnym obrysem obszarów, które przyczyniają się do istotnego statystycznie sprzężenia, dolny wykres – średni sygnał na turkusowo i średnia oscylacja o niskiej częstotliwości na czarno, wykres po prawej stronie – średnie widmo na czarno i widmo średniego sygnału na turkusowo, zacieniony zakres częstotliwości wyznacza obszar najwyższej wartości MI, a lokalne maksimum widma oznaczone jest niebieskim kółkiem. c) Histogram fazowy eMI dla każdego z obrysowanych obszarów na komodulogramie oraz fragment funkcji cosinus będący wizualizacją zależności fazy od przebiegu w czasie niskoczęstotliwościowej oscylacji. d) Komodulogram metody MI. e) Komodulogram metody dPAC. f) Komodulogram metody eMI prezentujący siłę statystycznie istotnego sprzężenia oraz automatycznie przypisaną mu etykietę *Właściwe*/*Wątpliwe*. Δf_P wynosiło 1 Hz, a $w=5$, gdyż te parametry dawały najbardziej precyzyjne wyniki dla symulowanego sprzężenia pomiędzy 6 a 77 Hz.

sprzężenia jako *Właściwe*. W przypadku słabej synchronizacji paczek oscylacji o wysokiej częstotliwości powyższe obserwacje dotyczą średniego widma (kolor czarny).

Dodatkowo, histogram fazowy, przedstawiony na rysunku 4.8 c, pozwala na odczytanie sprzężonej fazy. Jednak ta informacja dotyczy jedynie charakterystyki konkretnego sygnału i nie jest pomocna przy określaniu genezy sprzężenia.

4.2.2 Identyfikacja cech epifenomenalnego PAC

Kolejny etap badań obejmuje zbadanie cech sprzężenia epifenomenalnego i sprawdzenie poprawności określania genezy PAC przez heurystyczny algorytm eMI. W tym celu poddano analizie szereg sygnałów symulowanych zawierających sprzężenie o niewłaściwym pochodzeniu.

Wyniki dla oscylatora van der Pola

W pierwszej kolejności przetestowano model generatora nieliniowych oscylacji – oscylator van der Pola (rozdział 4.1.2). Według przewidywań, wygenerowany sygnał powinien zawierać sprzężenie epifenomenalne pomiędzy bazową częstotliwością oscylatora (tj. 7 Hz) i szerokim pasmem wysokich częstotliwości, które składają się na nagłe wzrosty i spadki amplitudy w przestrzeni czas-częstotliwość. Wyniki analiz przedstawiono na rysunku 4.9 (a-f). Oczekiwane sprzężenie zostało wykryte przez metody MI (rys. 4.9 d) i eMI (rys. 4.9 f). Metoda dPAC (rys. 4.9 e) nie dokonała żadnej detekcji. Harmoniczna struktura widoczna na pozostałych dwóch komodulogramach może sugerować epifenomenalne podłoże wykrytego PAC. Warto zauważyć, że przypisana przez eMI etykieta *Wątpliwe* poprawnie wskazuje na niewłaściwą genezę sprzężenia.

Wykresy pomocnicze metody eMI (rys. 4.9 b) zapewniają dodatkowe informacje o charakterystyce sprzężenia o wiadomym, epifenomenalnym pochodzeniu:

- Średni sygnał (na turkusowo) nie zawiera regularnych oscylacji o kształcie sinusa i różni się od średniej oscylacji o niskiej częstotliwości (na czarno). Zawiera on także nagłe nieoscylacyjne wzrosty i spadki amplitudy w momentach, które odpowiadają sprzężonej fazie (lokalizacja w czasie czarnych obrysów na średniej mapie czas-częstotliwość).
- Średnia mapa czas-częstotliwość wewnątrz czarnych obrysów zawiera obszary o zwiększonej mocy z maksimum w okolicy dolnej granicy zakreślonego pola. Zakres sprzężonych częstotliwości amplitudowych rozciąga się począwszy od najniższej wartości f_A .
- Zarówno widmo średniego sygnału (kolor turkusowy), jak i średnie widmo (kolor czarny) przejawiają wyraźną strukturę harmoniczną rozciągającą się od dolnej granicy f_A . Maksimum widma średniego sygnału (niebieskie kółko) nie mieści się w zakresie częstotliwości odpowiadającym najwyższej wartości MI (zacieniony obszar widma).

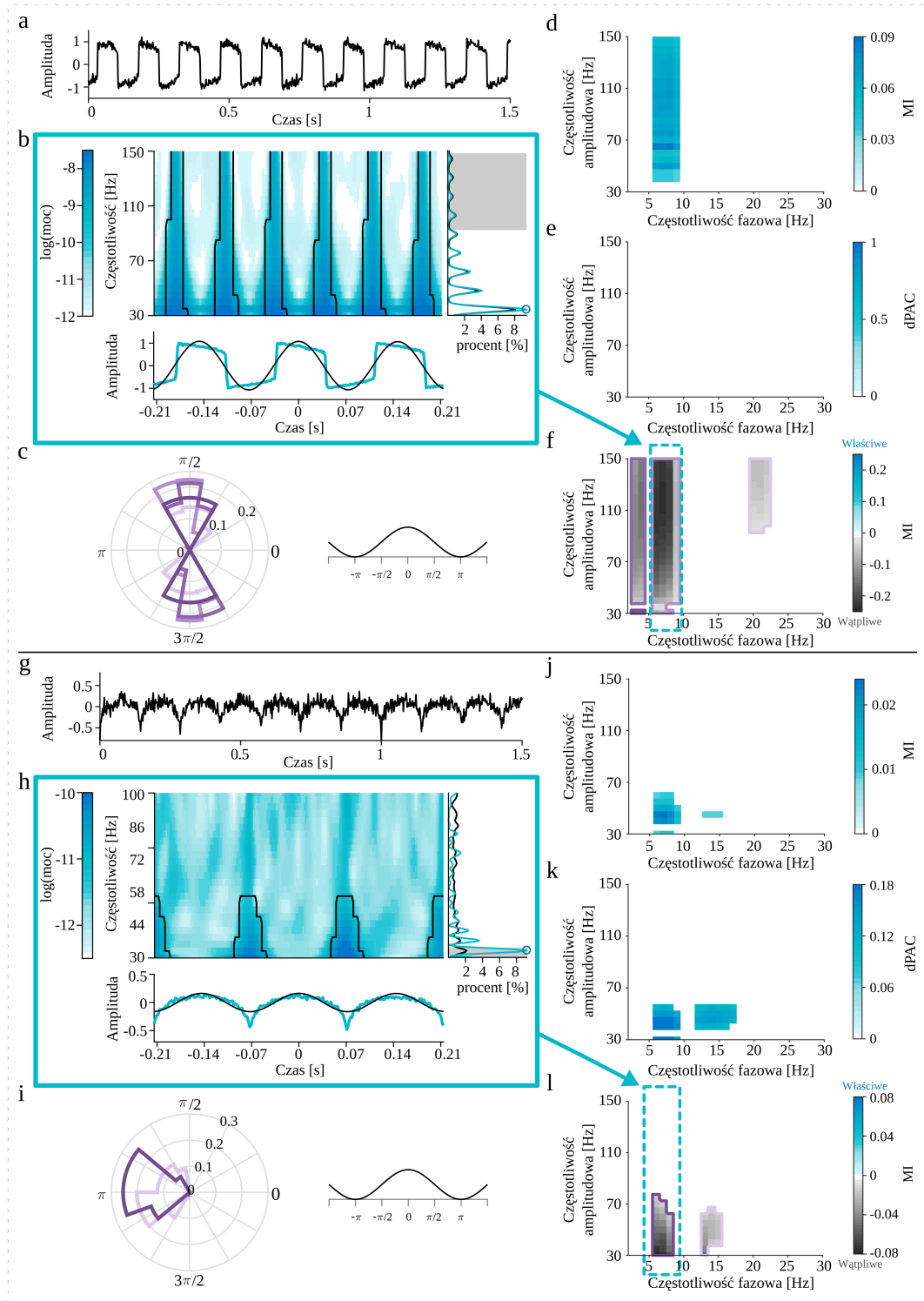
Dodatkowo, histogram fazowy, przedstawiony na rysunku 4.9 c, informuje o przeciwnych fazach sprzężonych struktur.

Wyniki dla arkad

Następnie analizie poddano drugi model generatora nieliniowych oscylacji – sygnał imitujący wyładowania epileptyczne (rozdział 4.1.2). Przewidywane jest wystąpienie PAC pomiędzy bazową częstotliwością oscylacji (tj. 7 Hz) a szerokim pasmem częstotliwości składających się na ostre struktury. Wyniki analiz przedstawiono na rysunku 4.9 (g-l). Komodulogramy pochodzące od wszystkich metod (rys. 4.9 j-l) zawierają oczekiwane sprzężenie, które dodatkowo przejawia strukturę harmoniczną. W przypadku metod referencyjnych ta obserwacja jest jedyną wskazówką przemawiającą za epifenomenalnym pochodzeniem PAC. Warto zauważyć, że autorska metoda nie tylko poprawnie określa genezę sprzężenia jako *Wątpliwą*, ale również oferuje dodatkowe źródło informacji w postaci wykresów pomocniczych (rys. 4.9 h):

- Średni sygnał (na turkusowo) nie zawiera regularnych oscylacji o kształcie sinusa i znacznie różni się od średniej oscylacji o niskiej częstotliwości (na czarno). Zawiera on także nagle nieoscylacyjne spadki amplitudy w momentach, które odpowiadają sprzężonej fazie (lokalizacja w czasie czarnych obrysów na średniej mapie czas-częstotliwość).
- Średnia mapa czas-częstotliwość wewnątrz czarnych obrysów zawiera obszary o zwiększonej mocy z maksimum w okolicy dolnej granicy zakreślonego pola. Zakres sprzężonych częstotliwości amplitudowych rozciąga się począwszy od najniższej wartości f_A .
- Zarówno widmo średniego sygnału (kolor turkusowy), jak i średnie widmo (kolor czarny) przejawiają wyraźną strukturę harmoniczną rozciągającą się od dolnej granicy f_A . Maksimum widma średniego sygnału (niebieskie kółko) mieści się w zakresie częstotliwości odpowiadającym najwyższej wartości MI (zacieniony obszar widma). Jednak sprzężenie oznaczone jest jako *Wątpliwe*, ponieważ maksimum MI wstępuje dla granicznej wartości f_A .

Dodatkowo, histogram fazowy, przedstawiony na rysunku 4.9 i, pozwala na odczytanie sprzężonych faz.



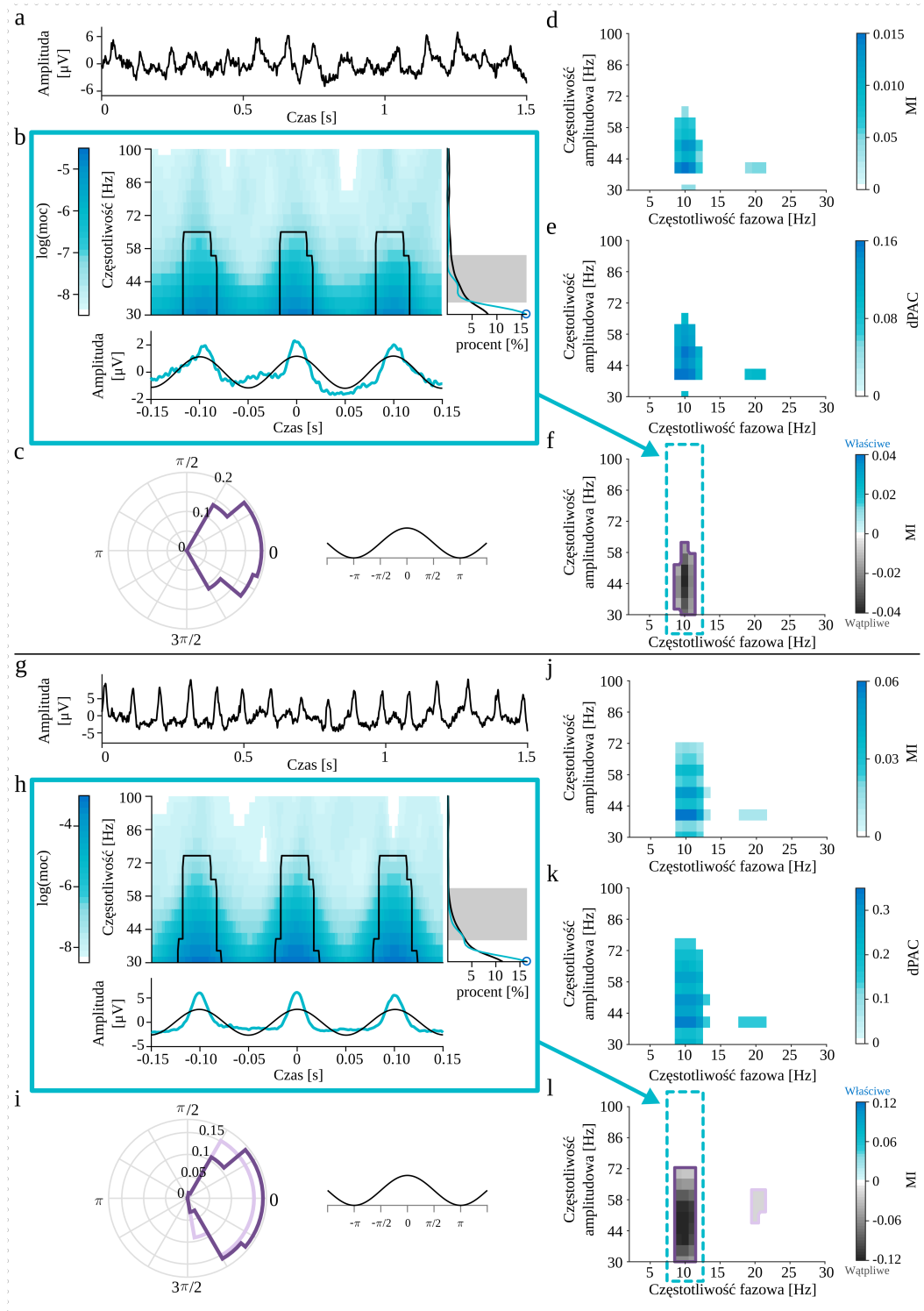
RYSUNEK 4.9. Wyniki analizy dwóch modeli sprzężenia epifenomenalnego: (a-f) oscylatora van der Pola (rozdział 4.1.2) i (g-l) arkad (rozdział 4.1.2). a,g) Symulowany sygnał b,h) Wykresy pomocnicze metody eMI dla $f_P = 7$ Hz: górny wykres – średnia mapa z czarnym obrysem obszarów, które przyczyniają się do istotnego statystycznie sprzężenia, dolny wykres – średni sygnał na turkusowo i średnia oscylacja o niskiej częstotliwości na czarno, wykres po prawej stronie – średnie widmo na czarno i widmo średniego sygnału na turkusowo, zacieniony zakres częstotliwości wyznacza obszar najwyższej wartości MI, a lokalne maksimum widma oznaczone jest niebieskim kółkiem. c,i) Histogram fazowy eMI dla każdego z obrysowanych obszarów na komodulogramie oraz fragment funkcji cosinus będący wizualizacją zależności fazy od przebiegu w czasie niskoczęstotliwościowej oscylacji. d,j) Komodulogram metody MI. e,k) Komodulogram metody dPAC. f,l) Komodulogram metody eMI prezentujący siłę statystycznie istotnego sprzężenia oraz automatycznie przypisaną mu etykietę *Właściwe*/*Wątpliwe*. Δf_P wynosiło 2 Hz, a $w=5$.

Wyniki dla okresowo występujących funkcji Gaussa

Kolejny przykład ilustruje postulat zawarty w pracy Gerber et al. [24] mówiący o tym, że obecność semi-periodycznych szybkozmiennych struktur również może wywołać sprzężenie epifenomenalne. Według przewidywań wygenerowany sygnał z okresowymi funkcjami Gaussa (rozdział 4.1.2) powinien zawierać PAC pomiędzy częstotliwością pojawiania się szybkozmiennych struktur (tj. 10 Hz) a szerokim pasmem częstotliwości składających się na nie w dziedzinie czas-częstotliwość. Wyniki analiz przedstawiono na rysunku 4.10 (a-f) i (g-l) odpowiednio dla amplitudy krzywych dzwonowych równej 2 i 5 standardowych odchyłeń tła EEG. Zarówno w jednym, jak i w drugim przypadku wszystkie metody wykrywają oczekiwane sprzężenie (rys. 4.10 d-f, j-l). Większość komodulogramów przejawia strukturę harmoniczną, co może wskazywać na niewłaściwą genezę PAC. Metoda eMI dodatkowo informuje o prawidłowej klasyfikacji genezy sprzężenia jako *Wątpliwej*. Ponadto umożliwia wgląd w jego charakterystykę przy użyciu wykresów pomocniczych (rys. 4.10 b, h):

- Średni sygnał (na turkusowo) nie zawiera regularnych oscylacji o kształcie sinusa i znacznie różni się od średniej oscylacji o niskiej częstotliwości (na czarno). Zawiera on także nagłe nieoscylacyjne wzrosty i spadki amplitudy w momentach, które odpowiadają sprzężonej fazie (lokalizacja w czasie czarnych obrysów na średniej mapie czas-częstotliwość).
- Średnia mapa czas-częstotliwość wewnątrz czarnych obrysów zawiera obszary o zwiększonej mocy z maksimum w okolicy dolnej granicy zakreślonego pola. Zakres sprzężonych częstotliwości amplitudowych rozciąga się począwszy od najniższej wartości f_A .
- Średnie widmo (kolor czarny) nie zawiera żadnych znaczących pików, natomiast widmo średniego sygnału (kolor turkusowy) przejawia strukturę harmoniczną rozciągającą się od dolnej granicy f_A . Maksimum widma średniego sygnału (niebieskie kółko) nie mieści się w zakresie częstotliwości odpowiadającym najwyższej wartości MI (zaczieniony obszar widma).

Dodatkowo, histogramy fazowe, przedstawione na rysunku 4.10 c, i, pozwalają na odczytanie sprzężonych faz.



RYSUNEK 4.10. Wyniki analizy modelu sprzężenia epifenomenalnego zawierającego okresowo występujące funkcje Gaussa (rozdział 4.1.2) o amplitudach krzywych dzwonowych równych 2 (a-f) i 5 (g-l) odchył standardowych tła EEG. a,g) Symulowany sygnał b,h) Wykresy pomocnicze metody eMI dla $f_P = 10$ Hz: górny wykres – średnia mapa z czarnym obrysem obszarów, które przyczyniają się do istotnego statystycznie sprzężenia, dolny wykres – średni sygnał na turkusowo i średnia oscylacja o niskiej częstotliwości na czarno, wykres po prawej stronie – średnie widmo na czarno i widmo średniego sygnału na turkusowo, zaciemniony zakres częstotliwości wyznacza obszar najwyższej wartości MI, a lokalne maksimum widma oznaczone jest niebieskim kółkiem. c,i) Histogram fazowy eMI dla każdego z obrysowanych obszarów na komodulogramie oraz fragment funkcji cosinus będący wizualizacją zależności fazy od przebiegu w czasie niskoczęstotliwościowej oscylacji. d,j) Komodulogram metody MI. e,k) Komodulogram metody dPAC. f,l) Komodulogram metody eMI prezentujący siłę statystycznie istotnego sprzężenia oraz automatycznie przypisaną mu etykietę *Właściwe*/*Wątpliwe*. Δf_P wynosiło 2 Hz, a $w=5$.

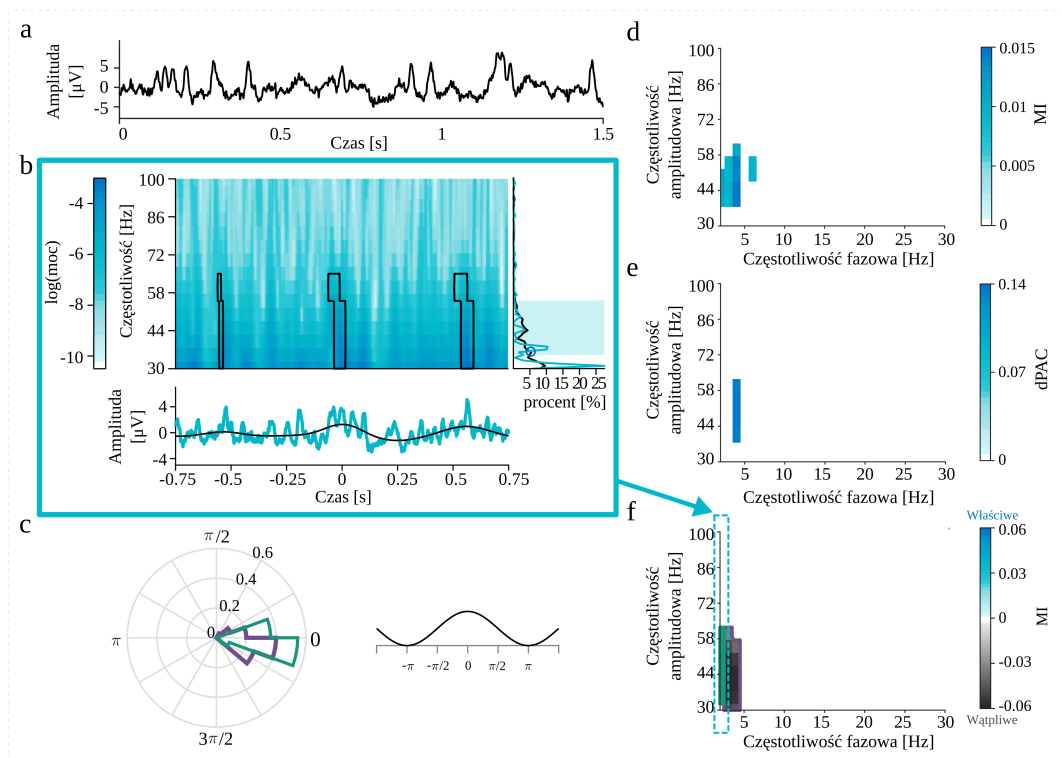
Wyniki dla nieokresowo występujących funkcji Gaussa

Gerber et al. [24] w swojej pracy twierdzi, że periodyczność szybkozmiennych struktur nie jest warunkiem koniecznym do obserwacji niewłaściwego PAC. Taki model sprzężenia epifenomenalnego został zbadany poprzez analizę sygnału zawierającego nieokresowo występujące funkcje Gaussa o amplitudzie równej 2 i 5 standardowych odchylen tła EEG (rozdział 4.1.2). Według przewidywań możliwa jest detekcja PAC pomiędzy pewną losową częstotliwością a szerokim pasmem częstotliwości składających się na szybkozmienną strukturę w dziedzinie czas-częstotliwość. Rysunek 4.11 przedstawia wyniki jedynie dla sygnału z wyższą amplitudą krzywych dzwonowych, ponieważ sygnał z niższą amplitudą nie przejawiał żadnego istotnego statystycznie sprzężenia. Wszystkie metody wykryły postulowany PAC pomiędzy częstotliwością fazową z zakresu 2-7 Hz a częstotliwością amplitudową 30-65 Hz (rys. 4.11 d-f). Komodulogramy metod referencyjnych w żaden sposób nie sugerują niewłaściwej genezy sprzężenia. Natomiast eMI, w większości poprawnie, określa wykryte sprzężenie jako *Wątpliwe*. Obszar, który został fałszywie oznaczony jako *Właściwy* stanowi ostrzeżenie o ograniczeniach heurystycznego algorytmu rozróżniania genezy PAC. W takich przypadkach należy pamiętać o dodatkowym źródle informacji w postaci wykresów pomocniczych (rys. 4.11 b):

- Średni sygnał (na turkusowo) nie zawiera regularnych oscylacji o kształcie sinusa i znacznie różni się od średniej oscylacji o niskiej częstotliwości (na czarno). Zawiera on także nagłe nieoscylacyjne wzrosty amplitudy w momentach, które odpowiadają sprzężonej fazie (lokalizacja w czasie czarnych obrysów na średniej mapie czas-częstotliwość).
- Średnia mapa czas-częstotliwość wewnątrz czarnych obrysów zawiera obszary o zwiększonej mocy z maksimum w okolicy dolnej granicy zakreślonego pola. Zakres sprzężonych częstotliwości amplitudowych rozciąga się począwszy od drugiej najniższej wartości f_A .
- Średnie widmo (kolor czarny) zawiera maksimum (niebieskie kółko) mieszczące się w zakresie częstotliwości odpowiadającym najwyższej wartości MI (zacieniony obszar widma), jednak jest ono porównywalne z poziomem tła. Natomiast widmo średniego sygnału (kolor turkusowy) przejawia strukturę harmoniczną rozciągającą się od dolnej granicy f_A .

Dodatkowo, histogram fazowy, przedstawiony na rysunku 4.11 c pozwala na odczytanie sprzężonych faz.

Aby zbadać stabilność opisanego powyżej efektu, analizę przeprowadzono dla kilku realizacji sygnału, za każdym razem losując na nowo lokalizacje funkcji Gaussa. W części



RYSUNEK 4.11. Wyniki analizy modelu sprzężenia epifenomenalnego zawierającego nieokresowo występujące funkcje Gaussa (rozdział 4.1.2) o amplitudach krzywych dzwonowych równych 5 odchyleń standardowych tła EEG. a) Symulowany sygnał b) Wykresy pomocnicze metody eMI dla $f_P = 2$ Hz: górny wykres – średnia mapa z czarnym obrysem obszarów, które przyczyniają się do istotnego statystycznie sprzężenia, dolny wykres – średni sygnał na turkusowo i średnia oscylacja o niskiej częstotliwości na czarno, wykres po prawej stronie – średnie widmo na czarno i widmo średniego sygnału na turkusowo, zacieniony zakres częstotliwości wyznacza obszar najwyższej wartości MI, a lokalne maksimum widma oznaczone jest niebieskim kółkiem. c) Histogram fazowy eMI dla każdego z obrysowanych obszarów na komodulogramie oraz fragment funkcji cosinus będący wizualizacją zależności fazy od przebiegu w czasie niskoczęstotliwościowej oscylacji. d) Komodulogram metody MI. e) Komodulogram metody dPAC. f) Komodulogram metody eMI prezentujący siłę statystycznie istotnego sprzężenia oraz automatycznie przypisaną mu etykietę *Właściwe*/*Wątpliwe*. Δf_P wynosiło 2 Hz, a $w=5$.

z nich wykryto sprzężenie dla różnych zakresów częstotliwości, w części nie odnotowano detekcji PAC. Co ważne, wyniki dla wszystkich metod były spójne. Te dodatkowe rozważania potwierdzają przypadkowość sprzężenia zawartego w modelu nieokresowo występujących funkcji Gaussa.

4.2.3 Analiza danych elektrofizjologicznych

Analiza danych symulacyjnych pozwoliła na potwierdzenie poprawności działania heurystycznego algorytmu eMI (w większości przypadków) oraz na identyfikację cech sprzężenia właściwego i epifenomenalnego przy użyciu wykresów pomocniczych. Kolejnym

etapem jest przetestowanie tych elementów metody eMI w warunkach eksperymentalnych, na danych elektrofizjologicznych, które pozwalają na predykcję pochodzenia PAC.

Wyniki dla napadu epileptycznego u szczura

Analizowane w tej sekcji dane zawierają zapis napadu epileptycznego, który według tezy Pijn et al. [63] może być generowany przez dynamiczny proces nieliniowy (rozdział 4.1.3). Tłumaczy to założenie o obecności w badanym sygnale epifenomenalnego PAC pomiędzy częstotliwością pojawiania się iglic a szerokim pasmem częstotliwości składających się na nie w dziedzinie czas-częstotliwość. Wyniki przedstawiono na rysunku 4.12 (a-f). Zgodnie z przewidywaniami wszystkie metody wykryły oczekiwane sprzężenie, pomiędzy ~ 8 a 30-150 Hz, oraz dodatkowe pomiędzy drugą harmoniczną ~ 16 a 70-150 Hz (rys. 4.12 d-f). Komodulogramy przejawiające strukturę harmoniczną mogą wskazywać na niewłaściwą genezę PAC. Metoda eMI dodatkowo informuje o klasyfikacji genezy sprzężenia jako *Wątpliwej*. Ponadto umożliwia wgląd w jego charakterystykę przy użyciu wykresów pomocniczych (rys. 4.12 b):

- Średni sygnał (na turkusowo) nie zawiera regularnych oscylacji o kształcie sinusa i znacznie różni się od średniej oscylacji o niskiej częstotliwości (na czarno). Zawiera nagle nieoscylacyjne wzrosty i spadki amplitudy w momentach, które odpowiadają sprzężonej fazie (lokalizacja w czasie czarnych obrysów na średniej mapie czas-częstotliwość).
- Średnia mapa czas-częstotliwość wewnątrz czarnych obrysów zawiera obszary o zwiększonej mocy z maksimum w okolicy dolnej granicy zakreślonego pola. Zakres sprzężonych częstotliwości amplitudowych rozciąga się począwszy od najniższej wartości f_A .
- Zarówno widmo średniego sygnału (kolor turkusowy), jak i średnie widmo (kolor czarny) przejawiają strukturę harmoniczną rozciągającą się od dolnej granicy f_A . Maksimum widma średniego sygnału (niebieskie kółko) nie mieści się w zakresie częstotliwości odpowiadającym najwyższej wartości MI (zacieniony obszar widma).

Dodatkowo, histogram fazowy, przedstawiony na rysunku 4.12 c, pozwala na odczytanie sprzężonych faz.

Wyniki dla rytmu μ

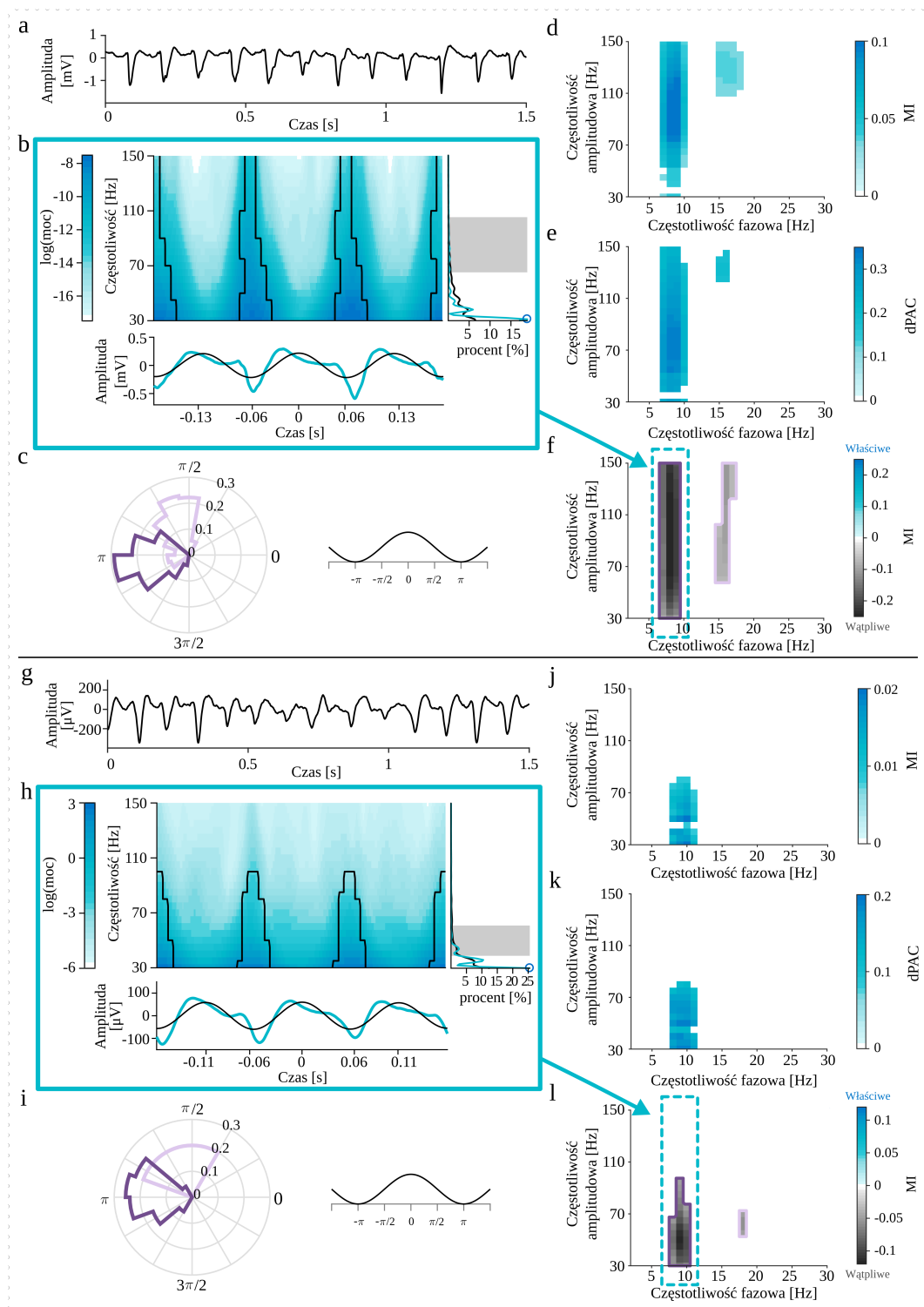
Kolejne dane elektrofizjologiczne zawierają zapis rytmu μ (rozdział 4.1.3). Na podstawie wyników zawartych w pracy źródłowej oczekiwana jest obecność sprzężenia epi-fenomenalnego pomiędzy częstotliwością podstawową rytmu 8-12 Hz a szerokim pasmem częstotliwości składających się na struktury o kształcie litery μ w dziedzinie czas-częstotliwość. Wyniki przedstawiono na rysunku 4.12 (g-l). Zgodnie z przewidywaniami wszystkie metody wykryły oczekiwane sprzężenie pomiędzy ~ 9 a 30-90 Hz (4.12 j-l). Jedynie komodulogram metody eMI zawiera również PAC pomiędzy drugą harmoniczną ~ 18 a 30-90 Hz, co może wskazywać na niewłaściwą genezę PAC. Metoda eMI dodatkowo informuje o klasyfikacji genezy sprzężenia jako *Wątpliwej*. Ponadto umożliwia wgląd w jego charakterystykę przy użyciu wykresów pomocniczych (rys. 4.12 h):

- Średni sygnał (na turkusowo) zawiera oscylacje o kształcie przypominającym sinusa i nieznacznie różni się od średniej oscylacji o niskiej częstotliwości (na czarno). Zawiera nagle nieoscylacyjne wzrosty i spadki amplitudy w momentach, które odpowiadają sprzężonej fazie (lokalizacja w czasie czarnych obrysów na średniej mapie czas-częstotliwość).
- Średnia mapa czas-częstotliwość wewnątrz czarnych obrysów zawiera obszary o zwiększonej mocy z maksimum w okolicy dolnej granicy zakreślonego pola. Zakres sprzężonych częstotliwości amplitudowych rozciąga się począwszy od najniższej wartości f_A .
- Zarówno widmo średniego sygnału (kolor turkusowy), jak i średnie widmo (kolor czarny) przejawiają strukturę harmoniczną rozciągającą się od dolnej granicy f_A . Maksimum widma średniego sygnału (niebieskie kółko) nie mieści się w zakresie częstotliwości odpowiadającym najwyższej wartości MI (zacieniony obszar widma).

Dodatkowo, histogram fazowy, przedstawiony na rysunku 4.12 i, pozwala na odczytanie sprzężonych faz.

Wyniki dla iniekcji ketaminy u szczura

Ostatnie analizowane dane eksperymentalne są zapisem LFP z opuszki węchowej szczura po podaniu ketaminy (rozdział 3.1.3). Na podstawie szeregu publikacji przewiduje się wystąpienie sprzężenia pomiędzy rytmem teta (4-8 Hz) a oscylacjami o wysokiej częstotliwości (~ 150 Hz) po podaniu ketaminy [13, 17, 64, 83]. Natomiast obecność w sygnale oddzielnych oscylacji o wysokiej i niskiej częstotliwości sugeruje fizjologiczną genezę



RYSUNEK 4.12. Wyniki analizy danych elektrofizjologicznych: (a-f) napadu epileptycznego u szczurów (rozdział 4.1.3) i (g-l) rytmu mu (rozdział 4.1.3). a,g) Symulowany sygnał b,h) Wykresy pomocnicze metody eMI dla $f_P = 8$ Hz (b) lub $f_P = 9$ Hz (h): górny wykres – średnia mapa z czarnym obrysem obszarów, które przyczyniają się do istotnego statystycznie sprzężenia, dolny wykres – średni sygnał na turkusowo i średnia oscylacja o niskiej częstotliwości na czarno, wykres po prawej stronie – średnie widmo na czarno i widmo średniego sygnału na turkusowo, zaciemniony zakres częstotliwości wyznacza obszar najwyższej wartości MI, a lokalne maksimum widma oznaczone jest niebieskim kółkiem. c,i) Histogram fazowy eMI dla każdego z obrysowanych obszarów na komodulogramie oraz fragment funkcji cosinus będący wizualizacją zależności fazy od przebiegu w czasie niskoczęstotliwościowej oscylacji. d,j) Komodulogram metody MI. e,k) Komodulogram metody dPAC. f,l) Komodulogram metody eMI prezentujący siłę statystycznie istotnego sprzężenia oraz automatycznie przypisaną mu etykietę *Właściwe*/*Wątpliwe*. Δf_P wynosiło 2 Hz, a $w=5$.

sprężenia. Wyniki dla wybranego szczura i wybranej 20s epoki (6 minut po podaniu ketaminy) przedstawione są na rysunku 4.13. Zgodnie z przewidywaniami wszystkie metody wykryły oczekiwane sprężenie pomiędzy ~ 7 a 120-190 Hz (4.13 d-f). Metoda eMI dodatkowo informuje o klasyfikacji genezy sprężenia jako *Właściwe* oraz umożliwia wgląd w jego charakterystykę przy użyciu wykresów pomocniczych (rys. 4.13 b):

- Średni sygnał (na turkusowo) zawiera oscylacje o kształcie przypominającym sinusa zgodne ze średnią oscylacją o niskiej częstotliwości (na czarno). Dodatkowo, średni sygnał zawiera paczki oscylacji o wysokiej częstotliwości w momentach, które odpowiadają sprężonej fazie (lokalizacja w czasie czarnych obrysów na średniej mapie czas-częstotliwość).
- Średnia mapa czas-częstotliwość wewnątrz czarnych obrysów zawiera obszary o zwiększonej mocy z maksimum w okolicy środka zakreślonego pola. Zakres sprężonych częstotliwości amplitudowych jest ograniczony i nie rozciąga się począwszy od najniższej wartości f_A .
- Zarówno widmo średniego sygnału (kolor turkusowy), jak i średnie widmo (kolor czarny) przejawiają lokalne maksimum (niebieskie kółko) odpowiadające sprężonej częstotliwości amplitudowej, które mieści się w zakresie częstotliwości odpowiadającym najwyższej wartości MI (zacieniony obszar widma).

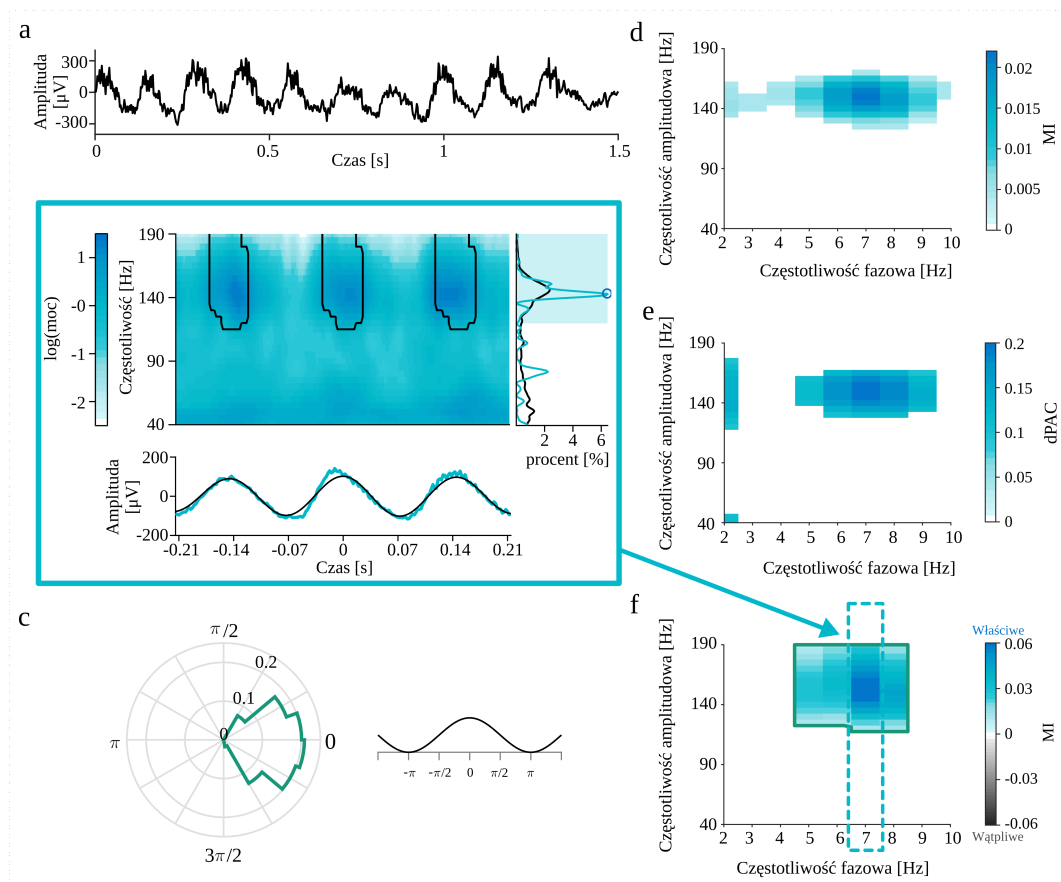
Dodatkowo, histogram fazowy, przedstawiony na rysunku 4.12 c, pozwala na odczytanie sprężonej fazy.

4.3 Wnioski

Celem badań opisanych w tym rozdziale była obrona tezy mówiącej o tym, że **autorska metoda eMI, w przeciwieństwie do metod referencyjnych, wspiera interpretację wykrytego sprężenia.**

4.3.1 Cechy właściwego PAC

W pierwszej kolejności zbadano sygnały symulacyjne zawierające sprężenie o wiadomym pochodzeniu. W przypadku właściwej genezy (rozdział 4.2.1) heurystyczny algorytm metody eMI przypisał do wykrytego PAC poprawną etykietę – *Właściwe*. Natomiast analiza wykresów pomocniczych pozwoliła na identyfikację cech sprężenia właściwego:



RYSUNEK 4.13. Wyniki analizy sygnału elektrofizjologicznego po iniekcji ketaminy (rozdział 3.1.3) u wybranego szczura i wybranej 20 s epoki 6 minut po podaniu środka psychoaktywnego. a) Symulowany sygnał b) Wykresy pomocnicze metody eMI dla $f_P = 7$ Hz: górny wykres – średnia mapa z czarnym obrysem obszarów, które przyczyniają się do istotnego statystycznie sprzężenia, dolny wykres – średni sygnał na turkusowo i średnia oscylacja o niskiej częstotliwości na czarno, wykres po prawej stronie – średnie widmo na czarno i widmo średniego sygnału na turkusowo, zacieniony zakres częstotliwości wyznacza obszar najwyższej wartości MI, a lokalne maksimum widma oznaczone jest niebieskim kółkiem. c) Histogram fazowy eMI dla każdego z obrysowanych obszarów na komodulogramie oraz fragment funkcji cosinus będący wizualizacją zależności fazy od przebiegu w czasie niskoczęstotliwościowej oscylacji. d) Komodulogram metody MI. e) Komodulogram metody dPAC. f) Komodulogram metody eMI prezentujący siłę statystycznie istotnego sprzężenia oraz automatycznie przypisaną mu etykietę *Właściwe/Wątpliwe*. Δf_P wynosiło 2 Hz, a $w=7$.

- W przypadku analizy jednokanałowego sygnału będącego źródłem zarówno wysokich, jak i niskich częstotliwości średni sygnał zawiera regularne oscylacje sinusoidalne, zgodne ze średnią oscylacją o niskiej częstotliwości. Gdy źródła oscylacji znajdują się w oddzielnych kanałach, średni sygnał nie musi mieć w sobie sinusoidalnych oscylacji o niskiej częstotliwości. Ważne jest jednak, że w obydwu przypadkach średni sygnał nie przejawia nagłych nieoscylacyjnych wzrostów lub spadków amplitudy w momentach, które odpowiadają sprzężonej fazie. W sytuacji wysoce zsynchronizowanego sprzężenia w tych chwilach czasu uwidaczniają się paczki oscylacji o wysokiej częstotliwości.

- Średnia mapa czas-częstotliwość wewnątrz czarnych obrysów zawiera obszary o zwiększonej mocy z maksimum w okolicy środka zakreślonego pola. Zakres sprzężonych częstotliwości amplitudowych jest ograniczony i nie rozciąga się począwszy od najniższej wartości f_A .
- W sytuacji wysoce zsynchronizowanego sprzężenia widmo średniego sygnału i średnie widmo przejawia lokalne maksimum odpowiadające sprzężonej częstotliwości amplitudowej wraz z możliwą strukturą harmoniczną, wokół tego pików, malejącą po obu stronach. Maksimum mieści się w zakresie częstotliwości odpowiadającym najwyższej wartości MI. W przypadku słabej synchronizacji paczek oscylacji o wysokiej częstotliwości powyższe obserwacje mogą dotyczyć tylko średniego widma.

4.3.2 Cechy epifenomenalnego PAC

Następnie zbadano szereg sygnałów symulacyjnych zawierających sprzężenie mające swoją genezę jedynie w kształcie sygnału. W większości przypadków (rozdziały 4.2.2, 4.2.2, 4.2.2) metoda eMI właściwie przypisała *Wątpliwe* pochodzenie wykrytego PAC. Natomiast analiza wykresów pomocniczych pozwoliła na identyfikację cech sprzężenia epifenomenalnego:

- Średni sygnał nie zawiera regularnych oscylacji sinusoidalnych i znacznie różni się od średniej oscylacji o niskiej częstotliwości. Zawiera nagle nieoscylacyjne wzrosty i spadki amplitudy w momentach, które odpowiadają sprzężonej fazie.
- Średnia mapa czas-częstotliwość wewnątrz czarnych obrysów zawiera obszary o zwiększonej mocy z maksimum w okolicy dolnej granicy zakreślonego pola. Zakres sprzężonych częstotliwości amplitudowych rozciąga się począwszy od najniższej wartości f_A .
- Zarówno widmo średniego sygnału, jak i średnie widmo przejawiają strukturę harmoniczną rozciągającą się od dolnej granicy f_A . Maksimum widma średniego sygnału znajduje się poza zakresem częstotliwości odpowiadającym najwyższej wartości MI.

W jednym przypadku (rozdział 4.2.2) heurystyczny algorytm metody eMI pomylił się. Jednak analiza dodatkowych informacji zawartych w wykresach pomocniczych umożliwiła korektę tego błędu.

4.3.3 Interpretacja wyników dla danych elektrofizjologicznych

Kolejnym etapem była ocena możliwości interpretacji sprzężenia wykrytego w danych elektrofizjologicznych, dobranych tak, aby pozwalały na predykcję pochodzenia PAC. W pierwszej kolejności analizie poddano sygnał ECoG zawierający zapis napadu epileptycznego u szczura (rozdział 4.2.3). Istnieje wiele publikacji mówiących o detekcji sprzężenia w sygnałach tego typu [26, 67]. Pomimo tego, że napady epileptyczne potrafią różnić się zarówno lokalizacją, jak i pochodzeniem, łączy je wspólna cecha, jaką jest obecność periodycznych szybkozmiennych struktur – iglic. Postuluje się, że ten charakterystyczny kształt sygnału jest generowany przez dynamiczny, nieliniowy proces [63], co pozwala na przyjęcie założenia o epifenomenalnej genezie PAC. Zgodnie z przypuszczeniami w analizowanych danych wykryto sprzężenie oznaczone jako *Wątpliwe*. Dodatkowo, wykresy pomocnicze przejawiały szereg cech przypisanych do epifenomenalnego PAC.

Następnie zbadano sygnał zawierający zapis rytmu mu (rozdział 4.2.3). Choć zakres częstotliwości tej oscylacji pokrywa się z rytmem alfa (8-13 Hz), to wyróżnia je lokalizacja w ruchowo-czuciowych obszarach kory oraz kształt – rytm mu standardowo charakteryzuje się periodycznie występującymi strukturami przypominającymi grecką literę μ . Te informacje posłużyły autorom pracy źródłowej za uzasadnienie epifenomenalnego pochodzenia sprzężenia wykrytego w badanym sygnale [24]. W niniejszej pracy udało się zreplikować wyniki. Zgodnie z przewidywaniami metoda eMI wykryła PAC o *Wątpliwej* genezie, a wykresy pomocnicze przejawiały szereg cech przypisanych do epifenomenalnego sprzężenia.

Jako ostatni analizie poddano zapis LFP szczurów, którym zaaplikowano ketaminę (rozdział 4.2.3). Wiele publikacji raportuje wykrycie sprzężenia w sygnałach otrzymanych w podobnych warunkach eksperymentalnych [13, 17, 64, 83]. Z kolei obecność oddzielnych oscylacji o wysokiej i niskiej częstotliwości w sygnale sugeruje fizjologiczną genezę sprzężenia. Uzyskane wyniki potwierdzają te przypuszczenia – metoda eMI wykryła oczekiwane sprzężenie, oznaczyła je jako *Właściwe*, a informacje uzyskane z wykresów pomocniczych były w pełni zgodne z charakterystyką właściwego PAC.

4.3.4 Porównanie metod

Całość analiz przeprowadzono również przy użyciu metod referencyjnych, w celach porównawczych. W większości przypadków wszystkie trzy metody produkowały podobne jakościowo komodulogramy – wykrywały sprzężenie pomiędzy podobnym zakresem częstotliwości. Wyjątek stanowią sygnał z paczkami oscylacji o wysokiej częstotliwości oraz oscylator van der Pola. W pierwszym z nich różnica pomiędzy metodami objawia się w

zakresie sprzężonych częstotliwości. Istnieje kilka przyczyn tego efektu: różna konstrukcja filtrów zastosowanych do ekstrakcji oscylacji o niskiej częstotliwości, ograniczenie w metodzie eMI dotyczące analizy jedynie istotnych oscylacji o niskiej częstotliwości oraz wpływ parametrów analizy eMI na wyniki (opisany w rozdziale 3.2.1). W drugim przypadku metoda dPAC, w przeciwieństwie do MI i eMI, nie wykrywa żadnego sprzężenia. Dzieje się tak z powodu własności konstrukcyjnej, która sprawia, że jednocześnie sprzężenia dla faz $\pi/2$ i $3\pi/2$ (rys. 4.9 c) znoszą się, dając wynik nieistotny statystycznie. Ten efekt został już wcześniej zaobserwowany i opisany w rozdziale 3.2.3 w sekcji dotyczącej *Liczby modalności fazowych*.

Jednak najważniejszą cechą różnicującą metody jest możliwość interpretacji wykrytego sprzężenia. Korzystając z metod referencyjnych jedynym wskaźnikiem epifenomenalnego PAC może być obecność struktury harmonicznej na komodulogramie. Natomiast metoda eMI nie tylko zapewnia automatyczny, w większości prawidłowy przydział etykiet mówiących o genezie PAC, ale również dostarcza dodatkowych informacji o charakterystyce wykrytego sprzężenia w postaci wykresów pomocniczych.

4.3.5 Rekomendacje stanowiące o rzetelnej analizie

Prace Aru et al. [2], Kramer et al. [42] i Gerber et al. [24] zwróciły uwagę na obecny w wielu publikacjach problem braku rzetelnej analizy umożliwiającej rozróżnienie genezy PAC. Odnosząc się do tego zagadnienia, Aru et al. [2] przygotował listę rekomendacji stanowiących o detekcji właściwego sprzężenia. Poniżej zostanie ona przytoczona wraz z opisem zakresu, w jakim eMI spełnia te kryteria, dzięki czemu umożliwia interpretację uzyskanych wyników.

Obecność oscylacji Jednym z warunków koniecznych do wystąpienia właściwego PAC jest obecność oddzielnych oscylacji o niskiej i wysokiej częstotliwości w sygnale. Metoda eMI posiada wbudowany algorytm selekcyjny (opisane w rozdziale 2.2.1), który sprawia, że analizowane są tylko istotne oscylacje o niskiej częstotliwości. Natomiast wymóg obecności oscylacji o wysokiej częstotliwości jest wbudowany w heurystykę algorytmu stanowiącego o genezie sprzężenia. PAC jest *Właściwe*, gdy lokalne maksimum widma w zakresie częstotliwości amplitudowych jest zgodne z lokalnym maksimum miary sprzężenia (rozdział 2.2.9).

Wybór zakresu częstotliwości Wskazówki odnośnie wyboru zakresu częstotliwości badanej oscylacji o niskiej częstotliwości zostały opisane w rozdziale 3.2.1. Wyniki pokazują, że miara PAC praktycznie nie zależy od szerokości pasma filtracji Δf_P (w rozsądnym zakresie wartości). Z kolei wybór zakresu częstotliwości badanej oscylacji o wysokiej częstotliwości jest kluczowy dla obserwacji modulacji jej

amplitudy. Naturalnym wyborem są metody estymacji gęstości mocy widmowej w dziedzinie czas-częstotliwość. Metoda eMI, podobnie jak Nakhnikian et al. [56] i Caiola et al. [12], korzysta z ciągłej transformaty falkowej. Jednak w przeciwieństwie do Nakhnikian et al. [56], autorska metoda nie wykorzystuje logarytmicznego wektora częstotliwości, dzięki czemu lepiej dopasowuje się do cech sygnałów elektrofizjologicznych. Dodatkową rekomendacją do stosowania CWT są wyniki badania przeprowadzonego przez Caiola et al. [12]. Testy opisane w rozdziale 3.2.1 pokazują, że miara PAC również nie zależy od wybranej liczby falkowej w (w rozsądnym zakresie wartości).

Interpretacja fazy chwilowej Potencjalne zakłócenia w ciągłości fazy powinny być widoczne jako zaburzenia gładkiego przebiegu średniej oscylacji o niskiej częstotliwości $SP_{f_P}^B(t)$. Zależność modulowanej mocy oscylacji o wysokich częstotliwościach od modulującej fazy oscylacji o niskiej częstotliwości może zostać zbadana poprzez porównanie przebiegu średniej mapy $M_{f_P}^B(t, f)$ ze średnią oscylacją o niskiej częstotliwości $SP_{f_P}^B(t)$ lub poprzez histogram fazowy.

Dokładność W przypadku metody eMI potencjalnym źródłem niedokładności mogą być efekty brzegowe towarzyszące estymacji rozkładu gęstości energii. Aby rozwiązać ten problem, obcinane są skrajne fragmenty sygnału o długości $\frac{w}{\min(f_A)}$.

Badanie obecności nieliniowości Aru et al. [2] rekomenduje badanie wpływu nieliniowości i sprzężenia typu faza-faza na obserwowany PAC. Gerber et al. [24] zauważa, że obecność struktury harmoniczej w widmie sygnału i na komodulogramie może być wskaźnikiem, że surowy sygnał zawiera nie-sinusoidalne periodyczne struktury o szerokim zakresie komponentów składowych w dziedzinie częstotliwości amplitudowych. Z tego powodu całe struktury harmoniczne o *Wątpliwej* bazowej częstotliwości fazowej zostają przez eMI oznaczone również jako *Wątpliwe* (rozdział 2.2.9). Dodatkowo, zgodnie z otrzymanymi wynikami, sprzężenie wywodzące się z periodycznych nieliniowych struktur charakteryzuje się szeregiem cech obserwowalnych na wykresach pomocniczych (4.3.2).

Badanie niestacjonarności związanych z bodźcem Metoda eMI nie spełnia tego kryterium. Można je wypełnić poprzez skorzystanie z metody zaproponowanej przez Voytek et al. [79]. Innym rozwiązaniem jest porównanie rozrzutu opóźnień maksimum paczki oscylacji o wysokiej częstotliwości względem bodźca i względem ustalonej fazy oscylacji o niskiej częstotliwości [2].

Struktura czasowa Wykresy pomocnicze metody eMI oferują wizualną inspekcję średniej zależności wzrostów mocy oscylacji o wysokiej częstotliwości względem przebiegu oscylacji o niskiej częstotliwości. Uśrednione fragmenty mapy $M_{f_P}^B(t, f)$ obejmują 3 cykle niskoczęstotliwościowej oscylacji. Dla większych skal czasowych sygnał można analizować po podzieleniu na krótsze fragmenty. Sumaryczne zestawienie wyników z każdej epoki, tak jak w rozdziale 3.2.4, zapewnia możliwość zbadania struktury czasowej oraz kompleksowej interpretacji PAC. Według badań opisanych w rozdziale 3.2.3, 3 s sygnału są wystarczające do detekcji sprzężenia.

Dane zastępcze Procedura generacji danych zastępczych opisana w tej pracy w rozdziale 2.2.5 zapewnia eliminację zależności pomiędzy komponentami o wysokiej i niskiej częstotliwości przy jednoczesnym zachowaniu struktury w wysokich częstotliwościach w przestrzeni czas-częstotliwość. Co ważne, można ją stosować zarówno do danych ciągłych, jak i w eksperymentach z wielokrotnymi powtórzeniami.

Specyficzność efektów Specyficzność efektów jest wspomniana przez Aru et al. [2] w kontekście różnic miary PAC dla różnych warunków eksperymentalnych. Przy takich porównaniach, oprócz konieczności uwzględnienia mocy sprzężonych pasm częstotliwości, warto również zwrócić uwagę na możliwe różnice w rozpiętości faz oscylacji o niskiej częstotliwości powodujących wzmocnienie amplitudy oscylacji o wysokich częstotliwościach. Dla przykładu, zgodnie z modelem Lismana [46], przy obciążeniu pamięci krótkotrwałej większą liczbą elementów można się spodziewać szerszego zakresu sprzężonych faz. Informacja zawarta w histogramach fazowych eMI pozwala na badanie takich zagadnień.

4.3.6 Podsumowanie

Badania opisane w powyższym rozdziale pokazały, że metoda eMI, w przeciwieństwie do metod referencyjnych, wspiera interpretację wykrytego sprzężenia. Zaangażowane w to są dwa elementy autorskiej metody. Pierwszym z nich jest heurystyczny algorytm automatycznie oceniający genezę sprzężenia. Wyniki potwierdzają, że w większości przypadków działa on poprawnie. Drugim elementem są wykresy pomocnicze, które zapewniają dodatkowe informacje o charakterze wykrytego PAC. Przy ich użyciu zidentyfikowano cechy rozróżniające pochodzenie epifenomenalne od właściwego. Te obserwacje, dokonane na sygnałach symulowanych, sprawdziły się również na danych elektrofizjologicznych. Natomiast wyniki metod referencyjnych wykazały, że oferują one jedynie szczątkową formę interpretacji sprzężenia, poprzez poszukiwanie struktur harmoniczných na komodulogramach.

Rozdział 5

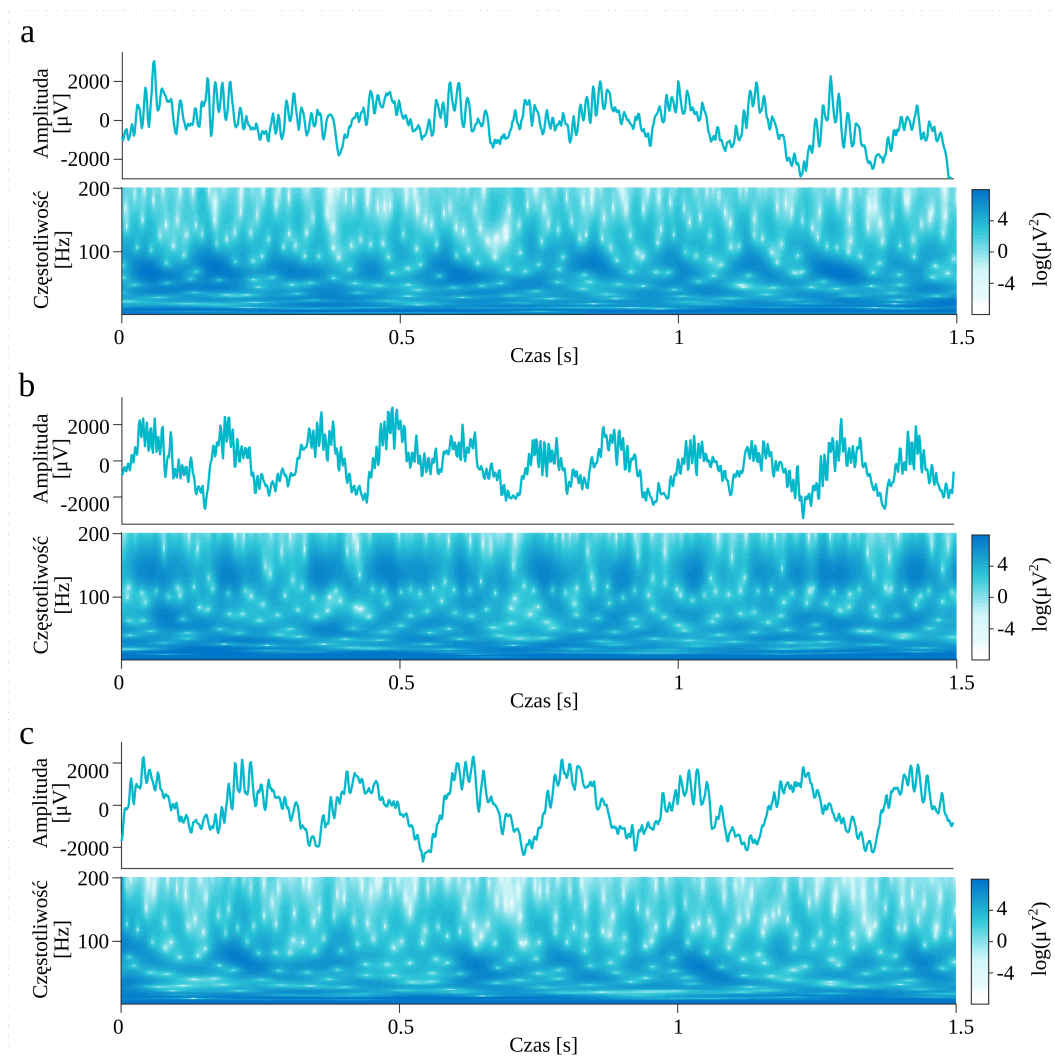
Teza 3

Informacja o fazie wolnej oscylacji, dla której występuje sprzężenie, zapewniona przez autorską metodę, stanowi użyteczną cechę charakteryzującą PAC.

W poniższym rozdziale opisany został zestaw badań mających na celu wykazanie, że informacja o fazie wolnej oscylacji, dla której występuje sprzężenie (fazie PAC), zapewniana przez metodę eMI, jest użyteczna. Analizie poddano dwa zestawy danych elektrofizjologicznych, które obrazują zastosowanie informacji fazowej jako dodatkowego wymiaru różnicującego PAC w różnych warunkach eksperymentalnych. Opisane poniżej wyniki i wnioski stanowią rozszerzenie rozważań zawartych w pracy Wróbel et al. [82].

5.1 Dane

Obydwa zestawy danych pochodzą z badań nad wpływem ketaminy na działanie układu nerwowego u szczurów. Wprowadzenie do tematyki tych badań elektrofizjologicznych znajduje się w rozdziale 1.6. Zasadnicza część tych eksperymentów polegała na zapisie LFP z opuszki węchowej szczurów najpierw podczas swobodnej aktywności szczurów, a następnie po iniekcji wspomnianego środka psychoaktywnego. Bazując na literaturze [39], uzasadnione jest oczekiwanie obecności sprzężenia pomiędzy rytmem teta (4-8 Hz) a rytmem gamma (40-80 Hz) podczas podstawowej swobodnej aktywności szczurów. Dodatkowo, na podstawie badań w innych obszarach korowych i prążkowie można przewidywać pojawienie się sprzężenia pomiędzy rytmem teta a HFO (~ 150 Hz) związanego z podaniem środka psychoaktywnego [13, 17, 64, 83]. Możliwość obserwacji PAC w dwóch różnych warunkach eksperymentalnych (stan spoczynkowy i pod wpływem ketaminy) stanowi sposobność do weryfikacji tytułowej hipotezy.



RYSUNEK 5.1. Przebieg sygnału LFP, pochodzącego z eksperymentu 1, z opuszki węchowej szczura (na górze) wraz ze skalogramem (dolny wykres): (a) przed podaniem ketaminy, (b) tuż po podaniu ketaminy, (c) około 70 minut po podaniu ketaminy. Przy konstrukcji skalogramu użyto liczby falkowej $w=7$.

5.1.1 Dane z eksperymentu 1

Pierwszy zestaw danych został już wcześniej opisany w rozdziale 3.1.3. Analizie poddano całe zapisy LFP pochodzące od wszystkich szczurów. Na rysunku 5.1 przedstawiono wybrane fragmenty sygnału wraz z mapą czas-częstotliwość pochodzące od wybranego szczura przed podaniem ketaminy (panel a), tuż po podaniu środka psychoaktywnego (panel b) i około 70 minut po zastrzyku (panel c).

5.1.2 Dane z eksperymentu 2

Drugi zestaw danych pochodzi z eksperymentów wykonanych przez J. Wróbla z Instytutu Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN. Osiem szczurów rasy Wistar (250-350 g) zostało poddanych procedurze implantacji elektrod wolframowych ($125\ \mu\text{m}$, Science Products, Germany), obustronnie w opuszce węchowej¹ oraz precyzyjnych czujników temperatury ($80\ \mu\text{m}$, Omega Engineering Inc., Czech Republic) w prawej i lewej jamie nosowej². Tydzień po operacji zarejestrowano lokalne potencjały polowe przy użyciu wzmacniacza JFET zapewniającego 1000-krotne wzmocnienie, filtrację 0.01-1000 Hz i próbkowanie z częstotliwością 5 kHz. Szczury miały możliwość swobodnego poruszania się po zaznajomionej klatce. Zapis obejmował ~ 20 minut podstawowej, swobodnej aktywności szczurów, dootrzewnową iniekcję 20 mg/kg ketaminy, a następnie ~ 60 minut aktywności zaburzonej przez ten psychoaktywny środek.

Na koniec badania mózgi szczurów zostały pokrojone ($40\ \mu\text{m}$) przy użyciu kriostatu, a następnie umieszczone na mikroskopowych płytkach pokrytych żelatyną. Lokalizacja końcówek elektrod została ustalona na podstawie skrawków barwionych fioletem krezylowym.

Zostały podjęte wszelkie środki w celu zminimalizowania bólu, dyskomfortu i liczby zwierząt użytych w tym badaniu. Wszystkie eksperymenty zostały przeprowadzone w zgodzie z europejskimi wytycznymi dotyczącymi opieki i wykorzystywania zwierząt laboratoryjnych (86/609/EEC) oraz zostały zatwierdzone przez lokalną komisję etyczną.

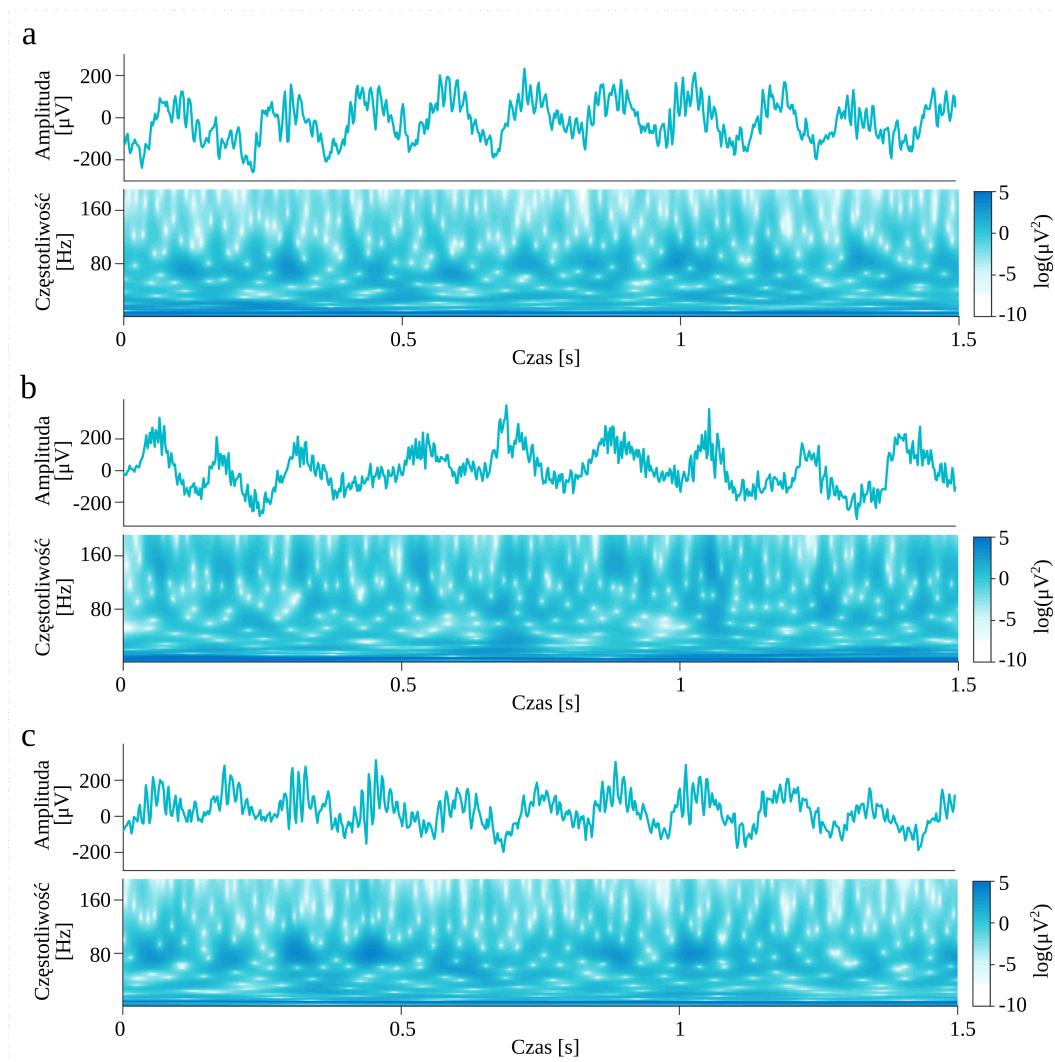
Wstępne przetworzenie sygnałów LFP obejmowało filtrację górnoprzepustową o częstotliwości odcięcia 0.1 Hz (filtr Butterwortha drugiego rzędu), filtrację dolnoprzepustową o częstotliwości odcięcia 250 Hz (filtr Butterwortha drugiego rzędu), przepróbkowanie do 625 Hz i podzielenie danych na 20 s fragmenty. Epoki zawierające mało prawdopodobne próbki³ oraz rozkład próbek znacząco odbiegający od normalnego⁴ zostały automatycznie uznane za artefakty i wykluczone z dalszej analizy. Na rysunku 5.2 przedstawiono wybrane fragmenty sygnału wraz z mapą czas-częstotliwość pochodzące od wybranego szczura przed podaniem ketaminy (panel a), tuż po podaniu środka psychoaktywnego (panel b) i około 30 minut po zastrzyku (panel c).

¹AP=+7.5, ML= ± 0.5 , DV=3-3.5 mm, w odniesieniu do bregmy

²11 mm w głębi i 0.5 mm do boku

³przy użyciu funkcji *pop_jointprob.m* z narzędzia EEGLAB, z progiem dopuszczalnego prawdopodobieństwa ustalonym na 2 standardowe odchylenia

⁴przy użyciu funkcji *pop_rejkurt.m* z narzędzia EEGLAB, z progową wartością kurtozy ustaloną na 2 standardowe odchylenia



RYSUNEK 5.2. Przebieg sygnału LFP, pochodzącego z eksperymentu 2, z opuszki węchowej szczura (na górze) wraz ze skalogramem (dolny wykres): (a) przed podaniem ketaminy, (b) tuż po podaniu ketaminy, (c) około 30 minut po podaniu ketaminy. Przy konstrukcji skalogramu użyto liczby falkowej $w=7$.

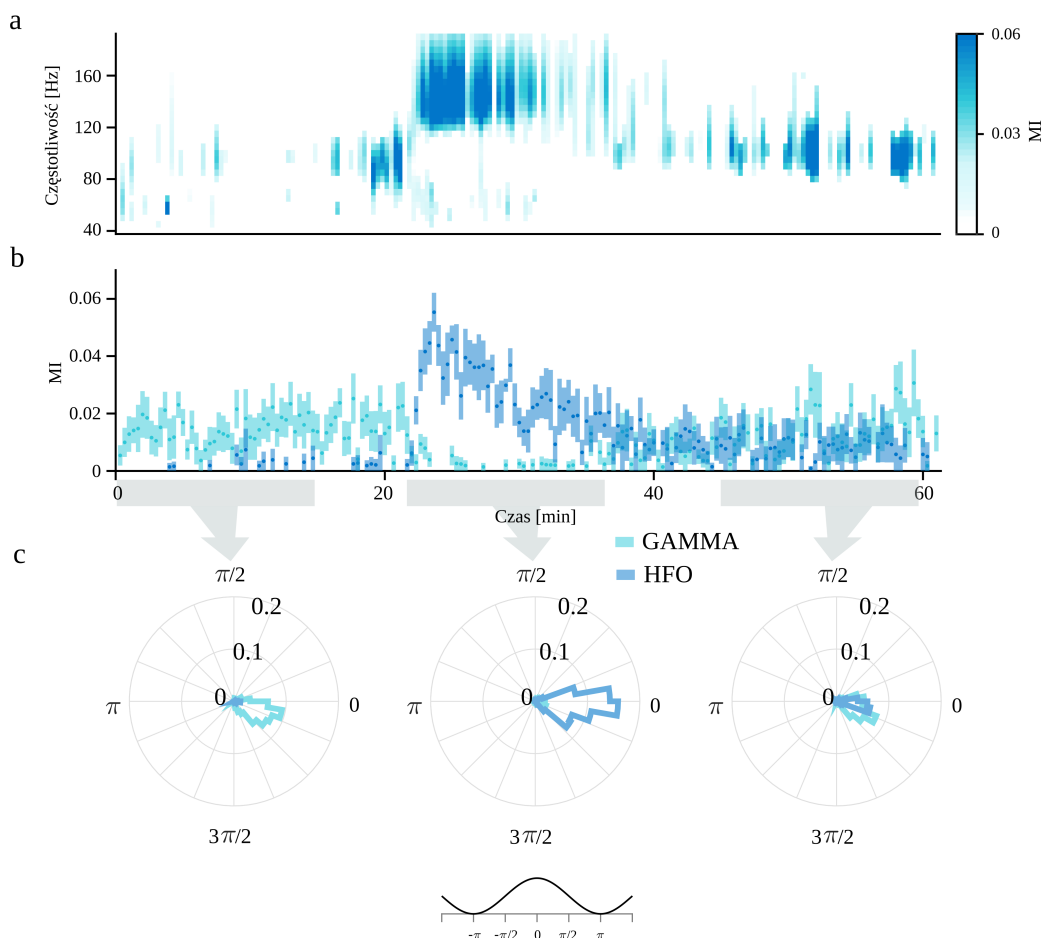
5.2 Wyniki

Wszystkie zapisy sygnału LFP zostały poddane analizie sprzężenia PAC przy użyciu metody eMI. Aby podsumować obszerne wyniki, zebrano je w postaci zależności wykrytych sprzężeń i faz PAC od czasu. W tym celu dla każdej epoki i dla każdej częstotliwości amplitudowej zidentyfikowano maksimum miary PAC wybrane spośród wyników dla wszystkich badanych częstotliwości fazowych (2-10 Hz). Zbiór tych maksimów, wraz z odpowiadającym mu zakresem faz, dla którego występuje sprzężenie, uzyskanych jako ponadprogowe wartości $P_{(f_P, f_A)}(j)$ (rozdział 2.2.7), tworzą wspomniane zależności wykrytych sprzężeń i faz PAC od czasu. Brane pod uwagę były tylko sprzężenia oznaczone

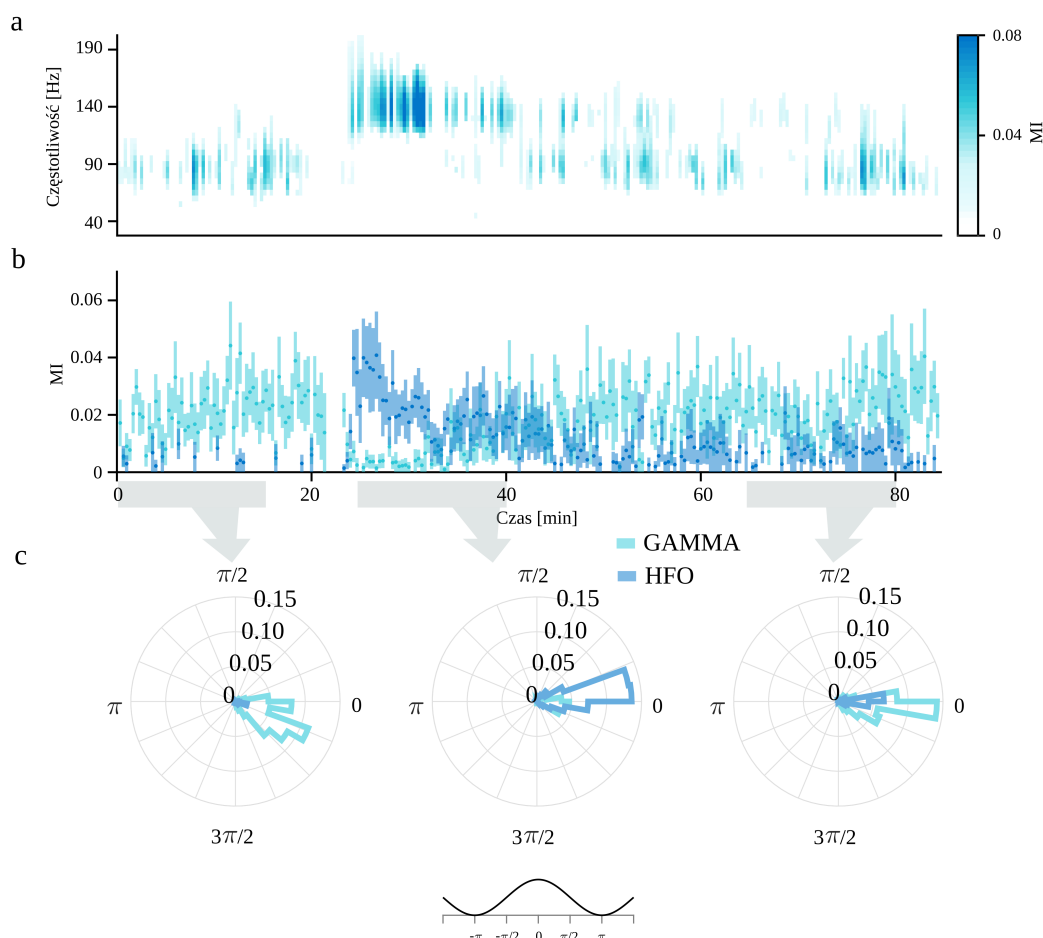
jako *Właściwe*. Aby zminimalizować efekt wielokrotnych porównań zastosowano poprawkę FDR z progiem istotności $\alpha = 0.05$. Parametry analizy eMI zostały ustalone na $\Delta f_P = 2$ Hz, a $w = 7$ (na podstawie wniosków płynących z analizy opisaną w rozdziale 3.2.1).

Zgodnie z założeniami analiza PAC danych z eksperymentu 1 i 2 wykazała u wszystkich szczurów sprzężenie pomiędzy badanym zakresem częstotliwości fazowych (2-10 Hz) a rytmem gamma (~ 90 Hz) oraz HFO (~ 150 Hz). Na rysunku 5.3 i 5.4 na panelu a przedstawiony został przebieg sprzężenia w czasie dla przykładowego szczura. Jak można zauważyć, sprzężenie z HFO powiązane jest z podaniem ketaminy (około 21 minuty dla eksperymentu 1 i około 24 minuty dla eksperymentu 2) i utrzymuje się przez okres 15-20 minut. Sprzężenie z pasmem gamma widoczne jest w stanie spoczynkowym przed podaniem środka psychoaktywnego, znika na czas działania ketaminy i odbudowuje się wraz z zanikiem sprzężenia z HFO. Aby zbadać powtarzalność tych wzorców wśród wszystkich szczurów, obliczono wartość średniej siły sprzężenia i jej odchylenia standardowego dla każdej 20-sekundowej epoki oddzielnie dla pasma HFO i gamma. Zakresy częstotliwości pasma HFO i gamma zostały dobrane oddzielnie dla każdego szczura na podstawie przebiegu sprzężenia w czasie (takiego jak na rys. 5.3 a i 5.4 a). Zależność średniej siły PAC od czasu dla obydwu pasm częstotliwości przedstawiono na rysunkach 5.3 b i 5.4 b odpowiednio dla eksperymentów 1 i 2. Wyniki te przejawiają analogiczne wzorce czasowe.

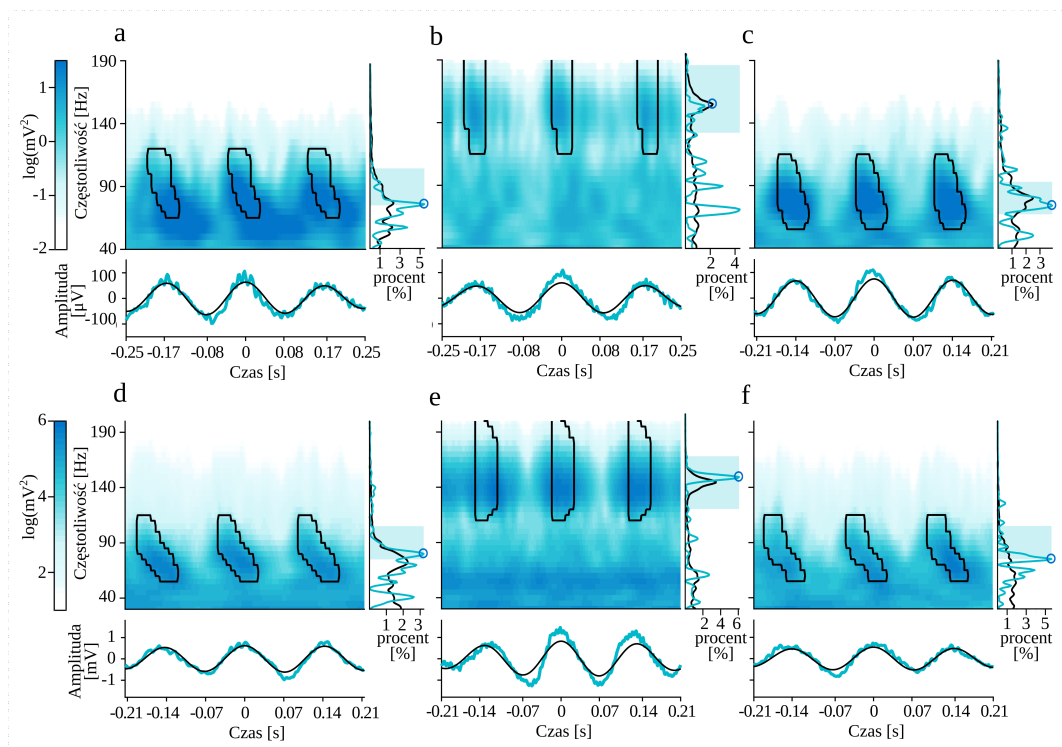
W celu zbadania różnic pomiędzy sprzężeniami występującymi w dwóch różnych warunkach eksperymentalnych (stan spoczynkowy i pod wpływem ketaminy), przygotowano zbiorcze rozkłady faz PAC z podziałem na pasmo HFO i gamma. Wyniki dla trzech 15-minutowych fragmentów (przed, tuż po i długo po iniekcji ketaminy) zostały przedstawione na rysunkach 5.3 c i 5.4 c odpowiednio dla eksperymentu 1 i 2. Na pierwszym z rysunków widoczna jest różnica polegająca na występowaniu PAC w paśmie HFO dla faz bliższych zeru (szczyt niskoczęstotliwościowej oscylacji). Dla eksperymentu 2 różnica polega na obserwacji PAC w paśmie HFO dla dodatnich wartości fazy (tuż za szczytem niskoczęstotliwościowej oscylacji) i w paśmie gamma dla ujemnych wartości fazy (tuż przed szczytem niskoczęstotliwościowej oscylacji). Aby potwierdzić istotność tych różnic, wykonano test Kołmogorowa-Smirnowa dla dwóch prób. Hipoteza zerowa mówiąca o tym, że próbki pochodzą z jednego rozkładu została odrzucona na poziomie istotności $\alpha=0.05$ zarówno w przypadku eksperymentu 1 ($D=0.264$, $p = 2.52 \cdot 10^{-13}$), jak i eksperymentu 2 ($D=0.3599$, $p = 3.54 \cdot 10^{-32}$). Wyniki analizy PAC obrazujące ten efekt dla przykładowego szura i przykładowych epok dla eksperymentów 1 i 2 zostały przedstawione na rysunku 5.5. Warto zauważyć, że sprzężenia HFO (rys. 5.5 b, e) i gamma (rys. 5.5 a, c, d, f) różnią się nie tylko zakresem faz, ale również brakiem (HFO) lub obecnością (gamma) zależności fazy PAC od częstotliwości amplitudowej.



RYSUNEK 5.3. Wyniki analizy PAC danych z eksperymentu 1. a) Przebieg w czasie wykrytego *Właściwego* sprzężenia dla wybranego szczura. Do każdej epoki i do każdej częstotliwości amplitudowej przypisane zostało maksimum miary PAC, wybrane spośród wyników dla wszystkich badanych częstotliwości fazowych (2-10 Hz). b) Przebieg w czasie średniej siły sprzężenia (punkt) i jej odchylenia standardowego (zaczieniony obszar wokół punktu) oddzielnie dla pasma HFO (kolor niebieski) i gamma (kolor turkusowy). Zakresy częstotliwości pasma HFO i gamma zostały dobrane dla każdego szczura oddzielnie. c) Histogramy fazowe obrazujące rozkład faz PAC oddzielnie dla pasma HFO (kolor niebieski) i gamma (kolor turkusowy), dla trzech 15-minutowych fragmentów zaczienionych na szaro na skali czasu. Wyniki znormalizowane są przez sumaryczną liczbę zliczeń. Poniżej fragment funkcji cosinus będący wizualizacją zależności fazy od przebiegu w czasie niskoczęstotliwościowej oscylacji.



RYSUNEK 5.4. Wyniki analizy PAC danych z eksperymentu 2. a) Przebieg w czasie wykrytego *Właściwego* sprzężenia dla wybranego szczura. Do każdej epoki i do każdej częstotliwości amplitudowej przypisane zostało maksimum miary PAC, wybrane spośród wyników dla wszystkich badanych częstotliwości fazowych (2-10 Hz). b) Przebieg w czasie średniej siły sprzężenia (punkt) i jej odchylenia standardowego (zaczieniony obszar wokół punktu) oddzielnie dla pasma HFO (kolor niebieski) i gamma (kolor turkusowy). Zakresy częstotliwości pasma HFO i gamma zostały dobrane dla każdego szczura oddzielnie. c) Histogramy fazowe obrazujące rozkład faz PAC oddzielnie dla pasma HFO (kolor niebieski) i gamma (kolor turkusowy), dla trzech 15-minutowych fragmentów zaczienionych na szaro na skali czasu. Wyniki znormalizowane są przez sumaryczną liczbę zliczeń. Poniżej fragment funkcji cosinus będący wizualizacją zależności fazy od przebiegu w czasie niskoczęstotliwościowej oscylacji.



RYSUNEK 5.5. Wykresy pomocnicze analizy PAC danych z eksperymentu 1 (a-c) i 2 (d-f) dla trzech wybranych epok: górny wykres – średnia mapa czas-częstotliwość z czarnym obrysem obszarów, które przyczyniają się do istotnego statystycznie sprzężenia, dolny wykres – średni sygnał na turkusowo i średnia oscylacja o niskiej częstotliwości na czarno, wykres po prawej stronie – średnie widmo na czarno i widmo średniego sygnału na turkusowo, zaciemniony zakres częstotliwości wyznacza obszar najwyższej wartości MI, a lokalne maksimum oznaczone jest niebieskim kółkiem. a) Epoka ~18 minuty sygnału, wykresy pomocnicze dla $f_P = 6$ Hz. b) Epoka ~24 minuty sygnału, wykresy pomocnicze dla $f_P = 6$ Hz. c) Epoka ~55 minuty sygnału, wykresy pomocnicze dla $f_P = 7$ Hz. d) Epoka ~11 minuty sygnału, wykresy pomocnicze dla $f_P = 7$ Hz. e) Epoka ~27 minuty sygnału, wykresy pomocnicze dla $f_P = 6$ Hz. f) Epoka ~91 minuty sygnału, wykresy pomocnicze dla $f_P = 6$ Hz.

Aby zbadać te efekty, które również wydają się różnicować dwa warunki eksperymentalne, dla każdego szczura dla każdej epoki wyrysowano zależność średniej fazy PAC od częstotliwości amplitudowej. Wyniki przedstawiono na rysunkach 5.6 a i 5.7 a odpowiednio dla eksperymentu 1 i 2. Analiza wizualna pozwala potwierdzić dla pasma gamma obecność zależności: im niższa częstotliwość amplitudowa, tym faza PAC zbliża się do zera, czyli szczytu oscylacji o niskiej częstotliwości. Dla pasma HFO relacja taka nie jest widoczna. W celu potwierdzenia tych obserwacji dla każdego szczura i dla każdej epoki dopasowano funkcję liniową opisującą zależność średniej fazy PAC od częstotliwości amplitudowej. Rozkład otrzymanych współczynników kierunkowych został przedstawiony na rysunkach 5.6 b i 5.7 b odpowiednio dla eksperymentów 1 i 2. Na obydwu rysunkach można zauważyć, że średni współczynnik kierunkowy dla HFO jest bliski zeru, natomiast dla pasma gamma wyraźnie od niego odbiega. Aby potwierdzić istotność tych różnic, wykonano test Kołmogorowa-Smirnowa dla dwóch prób. Hipoteza zerowa mówiąca o

tym, że współczynniki kierunkowe pochodzą z jednego rozkładu została odrzucona na poziomie istotności $\alpha=0.05$ zarówno dla eksperymentu 1 ($D=0.4652$, $p = 2.41 \cdot 10^{-37}$), jak i eksperymentu 2 ($D=0.4947$, $p = 1.76 \cdot 10^{-57}$).

5.3 Wnioski

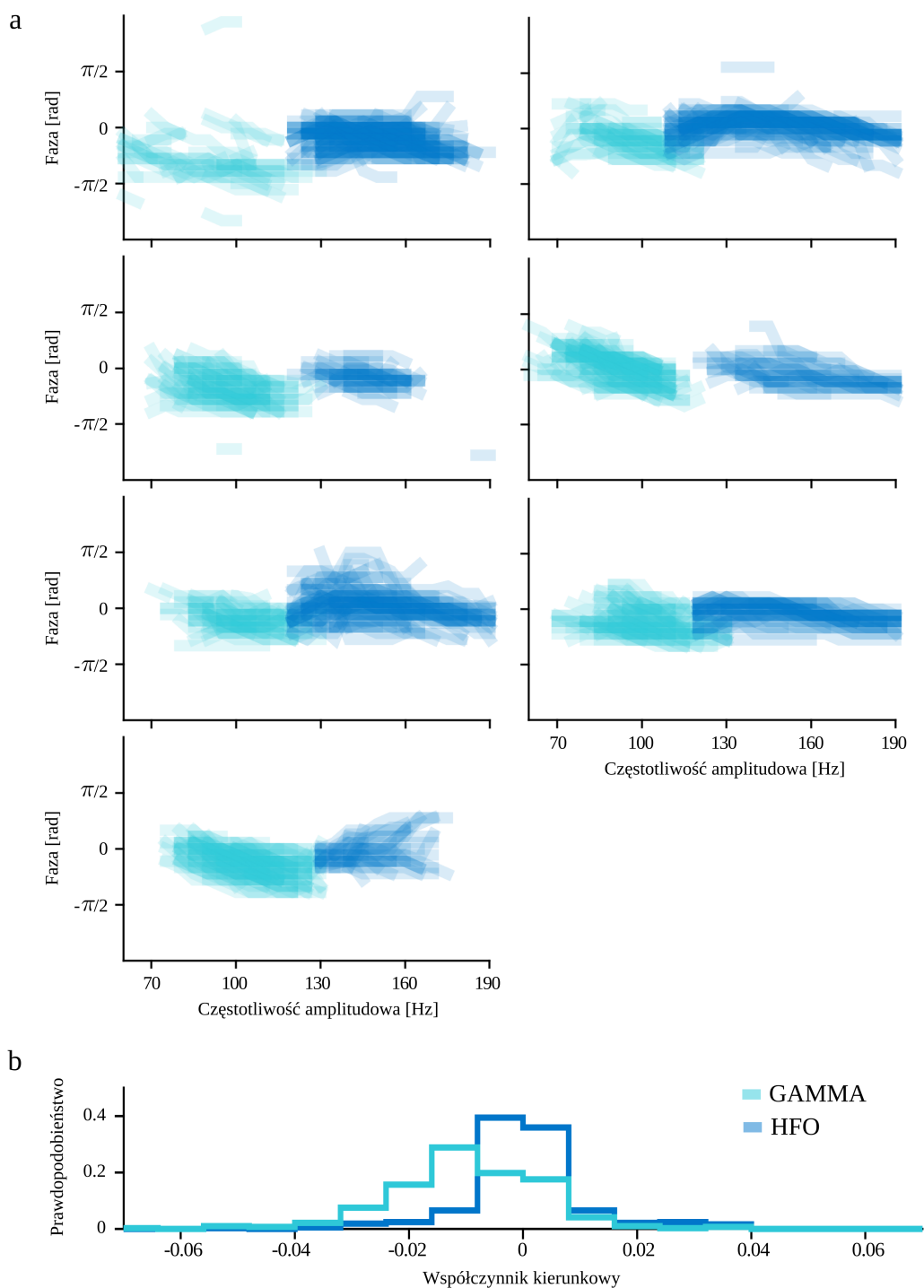
Celem badań opisanych w tym rozdziale była obrona tezy mówiącej o tym, że **informacja o fazie wolnej oscylacji, dla której występuje sprzężenie, zapewniona przez autorską metodę, stanowi użyteczną cechę charakteryzującą PAC**.

Wyniki zawarte w rozdziale 5.2 obrazują kolejne kroki analizy PAC rozszerzonej o badanie informacji o fazie PAC. Ze względu na podobieństwo obydwu eksperymentów oraz zbieżność założeń i przewidywań zostały one rozpatrzone wspólnie jako całość.

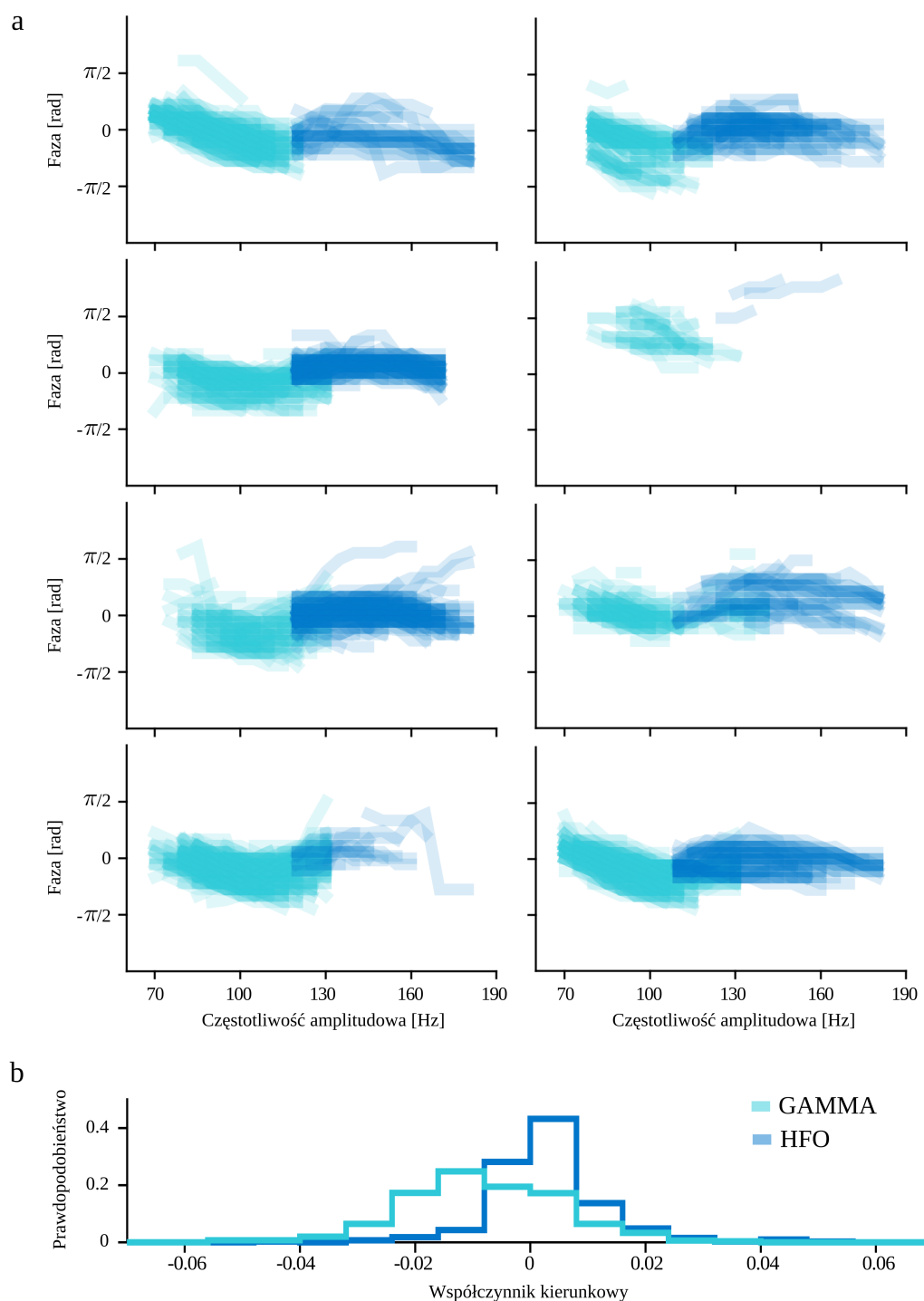
Obydwa zestawy danych zawierają zapis LFP z opuszki węchowej szczurów najpierw podczas swobodnej aktywności szczurów, a następnie po iniekcji ketaminy. Dotychczasowe badania [23, 39, 49, 65] sugerują obecność sprzężenia rytmu teta (4-8 Hz) z rytmem gamma (40-80 Hz) podczas podstawowej aktywności szczurów i z oscylacją HFO (~ 150 Hz) po podaniu środka psychoaktywnego [13, 17, 64, 83]. Uzyskane w niniejszej pracy wyniki analizy PAC potwierdziły obydwie hipotezy. Sprzężenie pomiędzy badanym zakresem częstotliwości fazowych (2-10 Hz) a pasmem gamma (~ 90 Hz) pojawiło się u wszystkich szczurów w stanie spoczynku przed podaniem ketaminy, zanikło w czasie działania środka psychoaktywnego, a następnie odbudowało się (rys. 5.3 b, 5.4 b). Natomiast w czasie działania ketaminy (około 20 minut) wykryto obecność PAC pomiędzy oscylacją o niskiej częstotliwości (2-10 Hz) a oscylacją HFO (~ 150 Hz). Zgodność przebiegu czasowego sprzężeń ze schematem eksperymentalnym sugeruje zasadność rozróżnienia PAC nie tylko pod kątem zakresu sprzężonych częstotliwości amplitudowych, ale również względem okoliczności występowania (stan spoczynkowy/działanie ketaminy).

Autorska metoda eMI, w odróżnieniu od metod referencyjnych, oferuje użytkownikowi dodatkowo informację o fazie PAC ⁵. W niniejszym badaniu to właśnie ona stanowi przedmiot dalszej analizy. Zbadane zostały rozkłady faz PAC przy podziale na pasmo HFO i gamma dla fragmentów sygnału, które odpowiadały różnym warunkom eksperymentalnym (stan spoczynkowy, działanie środka psychoaktywnego). Wyniki przedstawione na rysunkach 5.3 c, 5.4 c wskazują na istnienie różnicy pomiędzy badanymi pasmami PAC. Sprzężenie z rytmem gamma występuje tuż przed szczytem oscylacji o niskiej częstotliwości, natomiast sprzężenie z HFO tuż po wierzchołku. Istotność tego

⁵jest ona zapisana wraz z pozostałymi rezultatami w postaci łatwo-dostępnej struktury w środowisku Matlab®



RYСУNEK 5.6. Wyniki analizy zależności średniej fazy PAC od częstotliwości amplitudowej oddzielnie dla pasma HFO (kolor niebieski) i gamma (kolor turkusowy) dla danych z eksperymentu 1. a) Wykresy przedstawiające zależność średniej fazy PAC od częstotliwości amplitudowej dla każdej epoki (pojedyncza linia) dla każdego szczura (kolejne wykresy). Półprzezroczyste linie zostały nałożone na siebie aby zobrazować zarówno trend globalny jak i rozrzut między epokami. b) Rozkład współczynników kierunkowych funkcji liniowej opisującej zależność średniej fazy PAC od częstotliwości amplitudowej dla każdej epoki i dla każdego szczura oddzielnie.



RYСУNEK 5.7. Wyniki analizy zależności średniej fazy PAC od częstotliwości amplitudowej oddzielnie dla pasma HFO (kolor niebieski) i gamma (kolor turkusowy) dla danych z eksperymentu 2. a) Wykresy przedstawiające zależność średniej fazy PAC od częstotliwości amplitudowej dla każdej epoki (pojedyncza linia) dla każdego szczura (kolejne wykresy). Półprzezroczyste linie zostały nałożone na siebie, aby zobrazować zarówno trend globalny jak i rozrzut między epokami. b) Rozkład współczynników kierunkowych funkcji liniowej opisującej zależność średniej fazy PAC od częstotliwości amplitudowej dla każdej epoki i dla każdego szczura oddzielnie.

efektu została potwierdzona testem Kołmogorowa-Smirnowa dla dwóch prób. Różnica ta jest najlepiej widoczna dla fragmentów obrazujących klarowną sytuację: przed podaniem ketaminy, gdy szczury przejawiały normalną aktywność spoczynkową i tuż po podaniu ketaminy, gdy szczury były pod silnym wpływem środka psychoaktywnego. Ten kontrast słabnie dla końcowego fragmentu sygnału, gdzie obecne są jednocześnie obydwa pasma PAC i występuje niepewność co do stopnia wpływu ketaminy. Preferowane fazy sprzężenia HFO i gamma opisane w literaturze różnią się w zależności od badania. Część z nich raportuje występowanie oscylacji gamma i HFO wokół szczytu oscylacji teta [23, 39, 49, 65], a część wokół minimum oscylacji teta [17, 83]. Tę rozbieżność można jednak wytłumaczyć odwróceniem fazy oscylacji występującym w kolejnych warstwach opuszki węchowej [39]. Zaobserwowane w niniejszym badaniu przesunięcie preferowanej fazy sprzężenia HFO względem gammy pojawiło się również w pracy Ye et al. [83].

Analiza informacji fazowej nie kończy się na obserwacji różnicy w preferowanej fazie sprzężenia dla pasma gamma i HFO. Zaobserwowano również odmienną relację fazy PAC i częstotliwości amplitudowej (rys. 5.5, 5.6 a, 5.7 a). Dla pasma gamma występuje zależność, której brak dla pasma HFO: im niższa częstotliwość amplitudowa, tym faza PAC zbliża się do zera, czyli szczytu oscylacji o niskiej częstotliwości. W celu weryfikacji tych spostrzeżeń dla każdego szczura i dla każdej epoki dopasowano funkcję liniową opisującą zależność średniej fazy PAC od częstotliwości amplitudowej. Rozkłady współczynników kierunkowych dla pasma gamma i HFO przejawiały różnice, których istotność została potwierdzona testem statystycznym Kołmogorowa-Smirnowa dla dwóch prób (rys. 5.6 b, 5.7 b). Taki wzorzec sprzężenia gamma badany był przez Fukunaga et al. [23], Kay [39], Manabe and Mori [49] oraz widoczny jest w pracy Cordon et al. [17], natomiast jego brak dla sprzężenia HFO można zauważyć w badaniach Cordon et al. [17], Ye et al. [83]. Proponowane wyjaśnienie tego zjawiska w paśmie gamma obejmuje dwutorowe przetwarzanie sygnałów węchowych przez komórki pędzelkowate i mitralne opuszki węchowej. Pierwsze z nich reagują szybciej i odpowiadają za generację oscylacji gamma o wyższej częstotliwości (65-100 Hz), natomiast drugie mają wolniejszy czas reakcji i uznawane są za generator nieco późniejszych oscylacji gamma o niższej częstotliwości (40-65 Hz). Połączenie tych dwóch systemów przetwarzania informacji węchowej skutkuje obserwacją stopniowego spadku częstotliwości trwającego około ~ 45 ms [23, 39, 49]. Brak zależności fazy PAC od częstotliwości amplitudowej dla pasma HFO może wynikać z zaburzonego przez ketaminę procesu przetwarzania bodźców węchowych. Potwierdzenie tej hipotezy wymaga jednak dalszych badań obejmujących analizę sygnałów pochodzących bezpośrednio z warstwy komórek mitralnych i pędzelkowatych opuszki węchowej.

Badania opisane w powyższym rozdziale pokazały, że informacja o fazie PAC, zapewniana przez metodę eMI, jest użyteczna. Wyniki analizy obrazują zastosowanie informacji

fazowej jako dodatkowej cechy różnicującej PAC w różnych warunkach eksperymentalnych.

Rozdział 6

Teza 4

Autorska metoda eMI jest użyteczna do badania dynamiki sprzężeń typu faza-amplituda.

W poniższym rozdziale opisany został zestaw kilku badań mających na celu wykazanie, że analiza dynamiki sprzężeń typu faza-amplituda wykonana przy użyciu metody eMI pozwala wyciągać wnioski dotyczące zagadnień fizjologicznych. Użyteczność autorskiej metody zaprezentowano na przykładzie trzech zestawów danych elektrofizjologicznych będących częścią obszernych badań nad działaniem subanastetycznej dawki ketaminy na szczury, prowadzonych w Instytucie Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN. Opisane poniżej wyniki i wnioski stanowią rozszerzenie rozważań zawartych w pracy Wróbel et al. [82].

6.1 Dane

Wszystkie zestawy danych uwzględnione w tym rozdziale są częścią obszernych badań nad działaniem subanastetycznej dawki ketaminy na szczury. Wprowadzenie do tematyki tych badań znajduje się w rozdziale 1.6. W oparciu o bieżący stan wiedzy, zespół z Instytutu Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN, postawił kilka hipotez. Dwie z nich, opisane poniżej, zostaną zweryfikowane w kolejnych eksperymentach.

Dotychczasowe badania, przytoczone w rozdziale 1.6, wykazały, że ketamina podana szczurom w subanastetycznej dawce wywołuje silny stan psychotyczny oraz wzrost mocy oscylacji o wysokiej częstotliwości 130-180 Hz (HFO) w wielu strukturach mózgu. Postuluje się, że to opuszka węchowa (OB) jest ich źródłem przyczyniającym się do obserwacji HFO w prążkowie brzuszny (VS), które z kolei dokonuje projekcji na wiele

odległych regionów mózgu [34]. Jest to jedna z hipotez badanych przez zespół z Instytutu Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN.

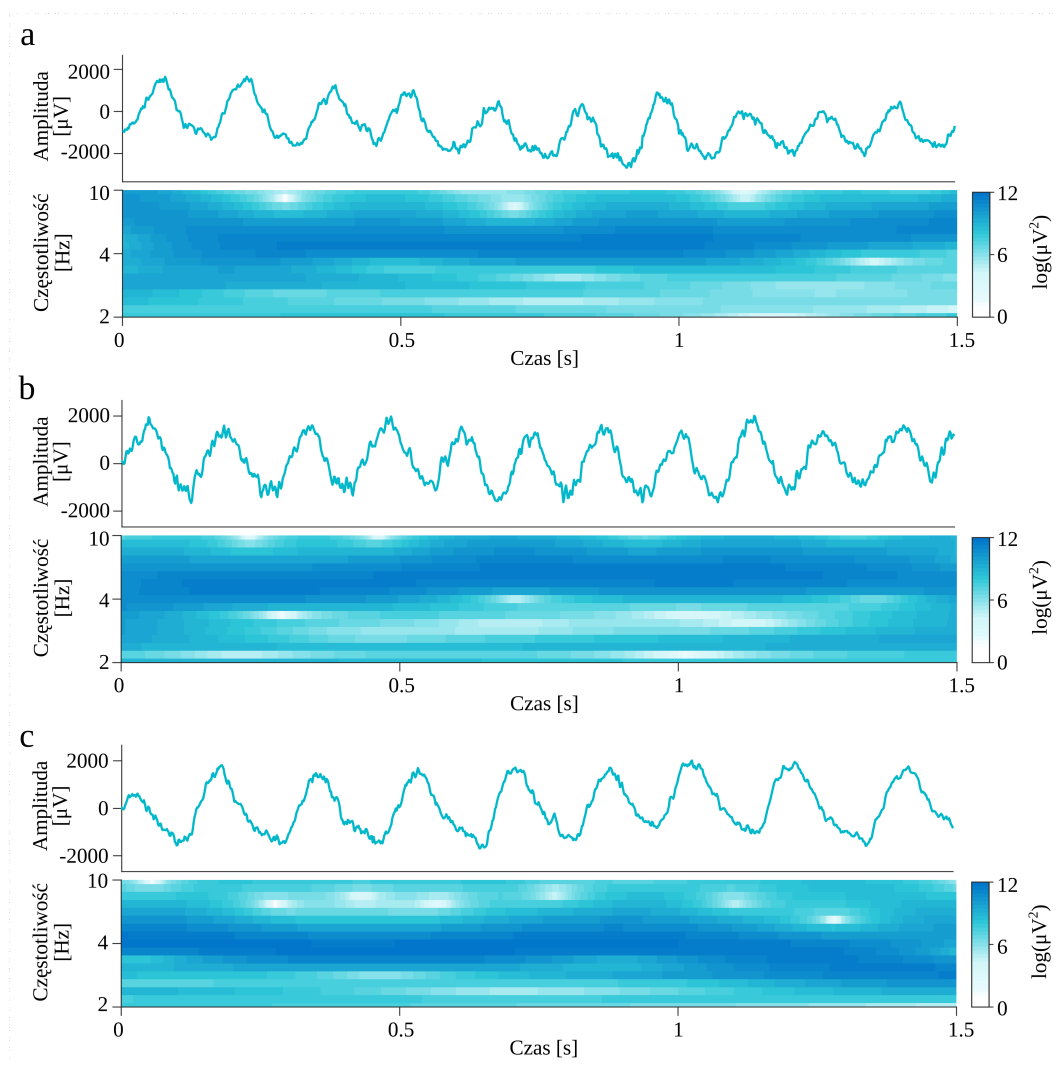
Jak wspomniano w rozdziale 1.6, amplituda oscylacji HFO wywołanych ketaminą sprzęga się z fazą wolniejszego rytmu delta (1-3 Hz) lub teta (4-8 Hz). Taki zakres niskich częstotliwości zgodny jest z pasmem rytmu oddechowego, przejawiającego się w postaci wolnych oscylacji w obszarach mózgu przetwarzających bodźce węchowe [35, 52, 53]. Ta obserwacja stanowi podstawę kolejnej hipotezy, testowanej w Instytucie Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN, o kluczowej roli przepływu wdychanego powietrza w generacji HFO i stanu psychotycznego po iniekcji ketaminy.

6.1.1 Pomiar rytmu oddechowego szczurów

W eksperymencie 2, opisanym w rozdziale 5.1.2, poza elektrodami umieszczonymi w opuszce węchowej i rejestrującymi LFP, zwierzęta miały czujniki temperatury (termopary) umieszczone w jamie nosowej, w celu pomiaru czynności oddechowej. Tym razem w analizie PAC wykorzystano zarówno sygnał LFP z opuszki węchowej, który stanowił sygnał amplitudowy (jego amplituda podlega modulacji), jak i zapis z czujnika temperatury, który spełniał funkcję sygnału fazowego (jego faza jest modulatorem). Wykorzystane dane pochodzą tylko z tej strony szczura, z której zapis zawierał mniej zakłóceń. Na rysunku 6.1 przedstawiono wybrane fragmenty sygnału termopary wraz z mapą czas-częstotliwość pochodzące od wybranego szczura przed podaniem ketaminy (panel a), tuż po podaniu środka psychoaktywnego (panel b) i około 30 minut po zastrzyku (panel c).

6.1.2 Dane z eksperymentu 3

Drugi zestaw danych pochodzi z eksperymentów wykonanych przez J. Wróbla z Instytutu Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN. Te badania dotyczyły wpływu haloperidolu, środka o silnym działaniu uspokajającym, na stan psychozy wywołany iniekcją ketaminy. W tym badaniu wykorzystano pięć szczurów spośród ośmiu użytych w badaniu opisanym w rozdziale 5.1.2. Szczury miały zaimplementowane elektrody obustronnie w opuszce węchowej oraz precyzyjne czujniki temperatury w prawej i lewej jamie nosowej. Tydzień po operacji zarejestrowano lokalne potencjały polowe oraz sygnał z termopary przy użyciu wzmacniacza JFET zapewniającego 1000-krotne wzmocnienie, filtrację 0.01-1000 Hz i próbkowanie z częstotliwością 5 kHz. Szczury miały możliwość swobodnego poruszania się po zaznajomionej klatce. Zapis obejmował ~20 minut podstawowej swobodnej aktywności szczurów, dootrzewnową iniekcję 1mg/kg haloperidolu, 20 min



RYSUNEK 6.1. Przebieg sygnału z termopary (na górze), pochodzącego z eksperymentu 2, wraz ze skalogramem (dolny wykres): (a) przed podaniem ketaminy, (b) tuż po podaniu ketaminy, (c) około 30 minut po podaniu ketaminy. Przy konstrukcji skalogramu użyto liczby falkowej $w=7$.

aktywności szczurów pod wpływem tego środka, dootrzewnową iniekcję 20 mg/kg ketaminy, a następnie ~ 40 minut aktywności zaburzonej przez obydwa psychoaktywne środki.

Zostały podjęte wszelkie środki w celu zminimalizowania bólu, dyskomfortu i liczby zwierząt użytych w tym badaniu. Wszystkie eksperymenty zostały przeprowadzone w zgodzie z europejskimi wytycznymi dotyczącymi opieki i wykorzystywania zwierząt laboratoryjnych (86/609/EEC) oraz zostały zatwierdzone przez lokalną komisję etyczną.

Wstępne przetworzenie danych obejmowało filtrację górnoprzepustową o częstotliwości odcięcia 0.1 Hz (filtr Butterwortha drugiego rzędu), filtrację dolnoprzepustową o częstotliwości odcięcia 250 Hz (filtr Butterwortha drugiego rzędu), przepróbkowanie do 625 Hz

i podzielenie danych na 20 s fragmenty. Epoki zawierające mało prawdopodobne próbki¹ oraz rozkład próbek znacząco odbiegający od normalnego² zostały automatycznie uznane za artefakty i wykluczone z dalszej analizy. Do analizy PAC wykorzystano jednocześnie obydwa kanały: sygnał z LFP stanowił sygnał amplitudowy (jego amplituda podlega modulacji), natomiast z termopary spełniał funkcję sygnału fazowego (jego faza jest modulatorem). Wykorzystano dane pochodzące tylko z tej strony szczura, z której zapis zawierał mniej zakłóceń.

Na rysunkach 6.2 przedstawiono wybrane fragmenty odpowiednio sygnału LFP wraz z mapą czas-częstotliwość pochodzące od wybranego szczura po podaniu haloperidolu, ale przed podaniem ketaminy (panel a), tuż po podaniu ketaminy (panel b) i około 40 minut po zastrzyku (panel c).

6.1.3 Dane pochodzące z eksperymentu 4

Ostatni zestaw danych również pochodzi z eksperymentów wykonanych przez J. Wróbla z Instytutu Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN. Głównym celem tego badania było potwierdzenie hipotezy o lokalizacji głównego źródła oscylacji HFO w opuszce węchowej. Siedem szczurów rasy Wistar (250-350 g) zostało poddanych procedurze implantacji elektrod stalowych obustronnie w opuszce węchowej³, w korze przedczołowej (PFC - ang. *Prefrontal Cortex*)⁴ i w prążkowiu brzuszno (VS)⁵. Tydzień po operacji zarejestrowano lokalne potencjały polowe przy użyciu wzmacniacza JFET zapewniającego 1000-krotne wzmocnienie, filtrację 0.01-1000 Hz i próbkowanie z częstotliwością 5 kHz. Szczury miały możliwość swobodnego poruszania się po zaznajomionej klatce. Zapis obejmował ~20 minut podstawowej, swobodnej aktywności szczurów, dootrzewnową iniekcję 20 mg/kg ketaminy, a następnie ~40 minut aktywności zaburzonej przez ten psychoaktywny środek.

Na koniec badania mózgi szczurów zostały pokrojone (40 μ m) przy użyciu kriostatu, a następnie umieszczone na mikroskopowych płytkach pokrytych żelatyną. Lokalizacja końcówek elektrod została ustalona na podstawie skrawków barwionych fioletem kryzlowym.

Zostały podjęte wszelkie środki w celu zminimalizowania bólu, dyskomfortu i liczby zwierząt użytych w tym badaniu. Wszystkie eksperymenty zostały przeprowadzone w

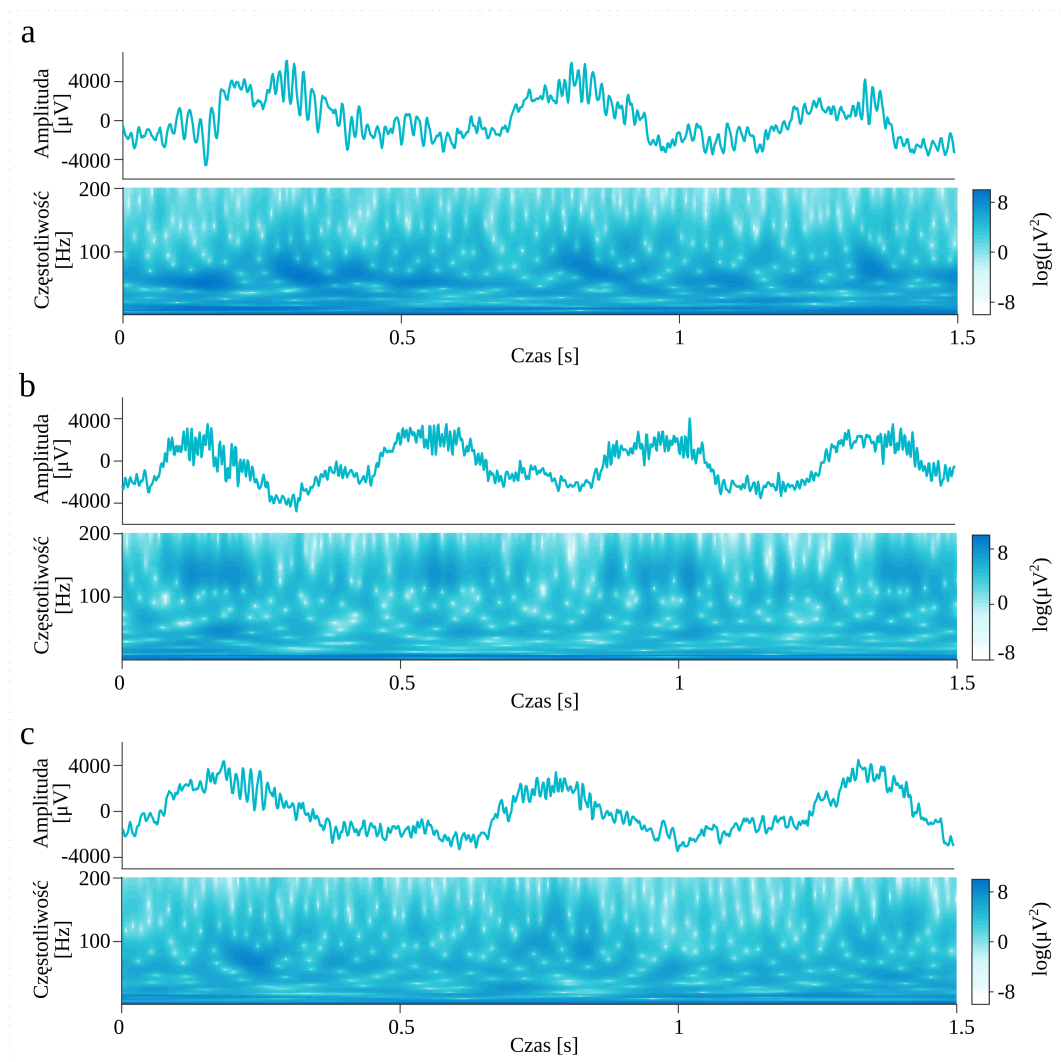
¹przy użyciu funkcji *pop_jointprob.m* z narzędzia EEGLAB, z progiem dopuszczalnego prawdopodobieństwa ustalonym na 2 standardowe odchylenia

²przy użyciu funkcji *pop_rejkurt.m* z narzędzia EEGLAB, z progową wartością kurtozy ustaloną na 2 standardowe odchylenia

³AP=+7.5, ML=±0.5, DV=3-3.5 mm, w odniesieniu do bregmy

⁴AP=+3.2, ML=0.5, DV=3.0 mm, w odniesieniu do bregmy

⁵AP=1.6, ML=+1.0, DV=7.0 mm, w odniesieniu do bregmy



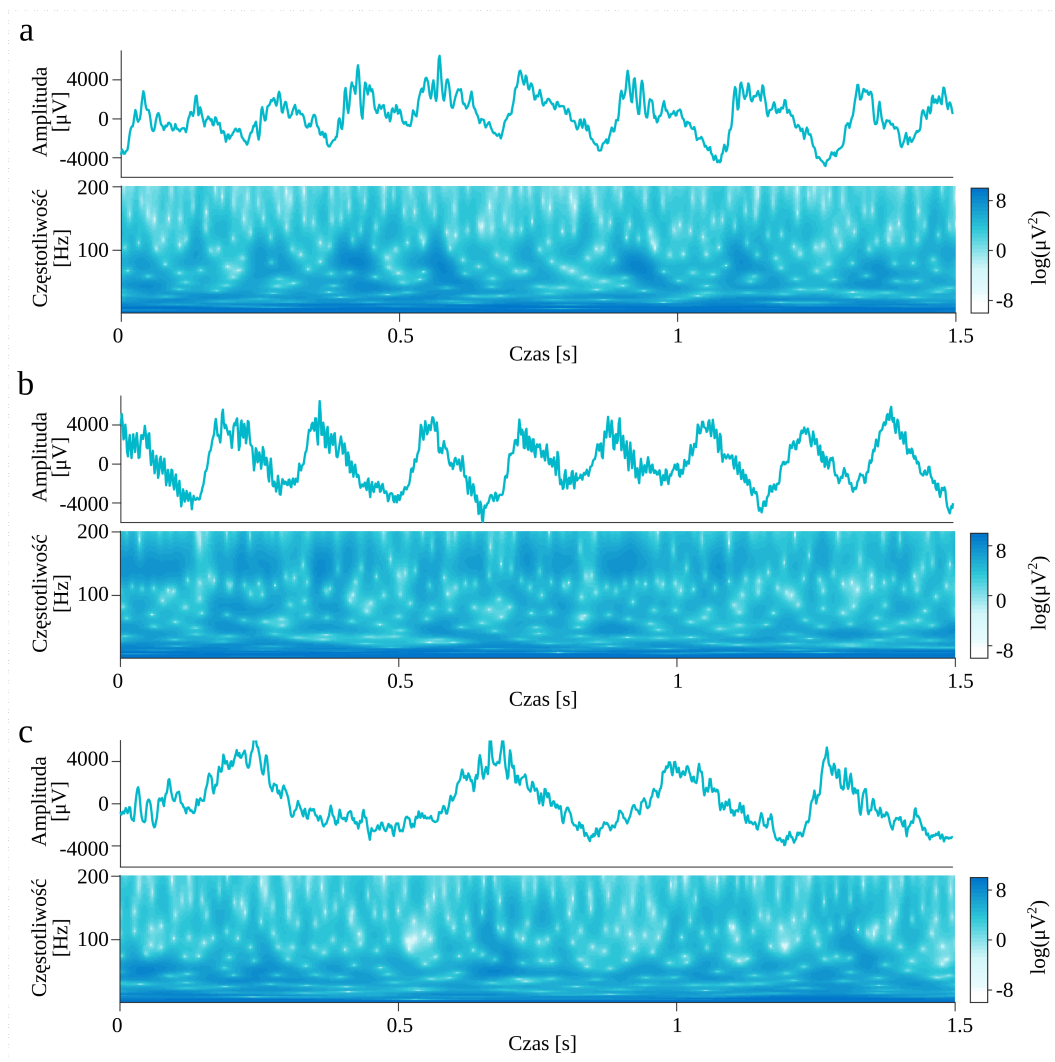
RYSUNEK 6.2. Przebieg sygnału LFP z opuszki węchowej szczura (na górze), z eksperymentu 3, wraz ze skalogramem (dolny wykres): (a) po podaniu haloperidolu ale przed podaniem ketaminy, (b) tuż po podaniu ketaminy, (c) około 40 minut po podaniu ketaminy. Przy konstrukcji skalogramu użyto liczby falkowej $w=7$.

zgodzie z europejskimi wytycznymi dotyczącymi opieki i wykorzystywania zwierząt laboratoryjnych (86/609/EEC) oraz zostały zatwierdzone przez lokalną komisję etyczną.

Wstępne przetworzenie danych obejmowało filtrację górnoprzepustową o częstotliwości odcięcia 0.1 Hz (filtr Butterwortha drugiego rzędu), filtrację dolnoprzepustową o częstotliwości odcięcia 250 Hz (filtr Butterwortha drugiego rzędu), przepróbkowanie do 625 Hz i podzielenie danych na 20 s fragmenty. Epoki zawierające mało prawdopodobne próbki⁶ oraz rozkład próbek znacząco odbiegający od normalnego⁷ zostały automatycznie uznane za artefakty i wykluczone z dalszej analizy. Wykorzystano dane pochodzące tylko z

⁶przy użyciu funkcji *pop_jointprob.m* z narzędzia EEGLAB, z progiem dopuszczalnego prawdopodobieństwa ustalonym na 2 standardowe odchylenia

⁷przy użyciu funkcji *pop_rejkurt.m* z narzędzia EEGLAB, z progową wartością kurtozy ustaloną na 2 standardowe odchylenia



RYSUNEK 6.3. Przebieg sygnału LFP z opuszki węchowej szczura (na górze), z eksperymentu 4, wraz ze skalogramem (dolny wykres): (a) przed podaniem ketaminy, (b) tuż po podaniu ketaminy, (c) około 20 minut po podaniu ketaminy. Przy konstrukcji skalogramu użyto liczby falkowej $w=7$.

tej strony szczura, z której zapis zawierał mniej zakłóceń.

Na rysunku 6.3 przedstawiono wybrane fragmenty sygnału wraz z mapą czas-częstotliwość pochodzące od wybranego szczura przed podaniem ketaminy (panel a), tuż po podaniu środka psychoaktywnego (panel b) i około 20 minut po zastrzyku (panel c).

6.2 Wyniki

Wszystkie zapisy sygnału LFP i z termopary zostały poddane analizie sprzężenia PAC przy użyciu metody eMI. Zapisy badane były na dwa sposoby. W pierwszym podejściu zarówno sygnał fazowy, jak i amplitudowy uzyskiwane są z tego samego zapisu LFP.

To podejście będzie nazywane dalej analizą względem LFP. Natomiast w drugim podejściu tylko sygnał amplitudowy wydobywany jest z LFP, zaś sygnał fazowy uzyskiwany jest z czujników temperatury. Ta wersja analizy nazywana będzie dalej analizą względem oddechu. W ten sposób badany jest związek amplitudy oscylacji HFO obecnych w różnych strukturach mózgu z fazą rytmu oddechowego lub z fazą niskoczęstotliwościowych oscylacji pojawiających się w lokalnych potencjałach polowych. Aby podsumować obszerne wyniki, przedstawiono je w postaci zbiorczych przebiegów czasowych. W tym celu dla każdej epoki i dla każdej częstotliwości amplitudowej zidentyfikowano maksimum miary PAC wybrane spośród wyników dla wszystkich badanych częstotliwości fazowych (2-10 Hz). Zbiór tych maksimów, wraz z odpowiadającymi im częstotliwościami fazowymi (dominującymi częstotliwościami fazowymi), tworzą zależności wykrytych sprzężeń i dominujących częstotliwości fazowych od czasu. Brane pod uwagę były tylko sprzężenia oznaczone jako *Właściwe*. Aby zminimalizować efekt wielokrotnych porównań, zastosowano poprawkę FDR z progiem istotności $\alpha = 0.05$. Parametry analizy eMI zostały ustalone na $\Delta f_P = 2$ Hz, a $w = 7$ (na podstawie wniosków płynących z analizy opisanej w rozdziale 3.2.1).

6.2.1 Badanie udziału rytmu oddechowego w generacji sprzężeń obserwowanych w sygnale LFP

Analiza PAC sygnałów z eksperymentu 2, względem LFP oraz względem oddechu, wykazała u wszystkich szczurów sprzężenie pomiędzy badanym zakresem częstotliwości fazowych (2-10 Hz) a rytmem gamma (~ 90 Hz) oraz HFO (~ 150 Hz). Na rysunku 6.4 na panelach a i d przedstawiony został przebieg sprzężenia w czasie dla przykładowego szczura odpowiednio dla analizy względem LFP i względem oddechu. Jak można zauważyć, sprzężenie z HFO powiązane jest z podaniem ketaminy (około 22 minuty) i utrzymuje się przez okres 15-20 minut. Sprzężenie z pasmem gamma widoczne jest w stanie spoczynkowym przed podaniem środka psychoaktywnego, znika na czas działania ketaminy i odbudowuje się wraz z zanikiem sprzężenia z HFO. Aby zbadać powtarzalność tych wzorców wśród wszystkich szczurów, obliczono wartość średniej siły sprzężenia i jej odchylenia standardowego dla każdej 20-sekundowej epoki oddzielnie dla pasma HFO i gamma. Zakresy częstotliwości pasma HFO i gamma zostały dobrane oddzielnie dla każdego szczura na podstawie przebiegu sprzężenia w czasie. Zależność średniej siły PAC od czasu dla obydwu pasm częstotliwości przedstawiono na rysunku 6.4 na panelach b i e, odpowiednio dla analizy względem LFP i względem oddechu. Wyniki te przejawiają analogiczne wzorce czasowe. Aby zbadać stopień zależności między nimi, obliczono współczynniki korelacji Spearmana, które wyniosły $\rho(252) = 0.5372$ ($p = 2.15 \cdot 10^{-20}$) i

$\rho(252) = 0.7881$ ($p = 4.88 \cdot 10^{-55}$) dla przebiegu siły sprzężenia w czasie odpowiednio w paśmie gamma i HFO.

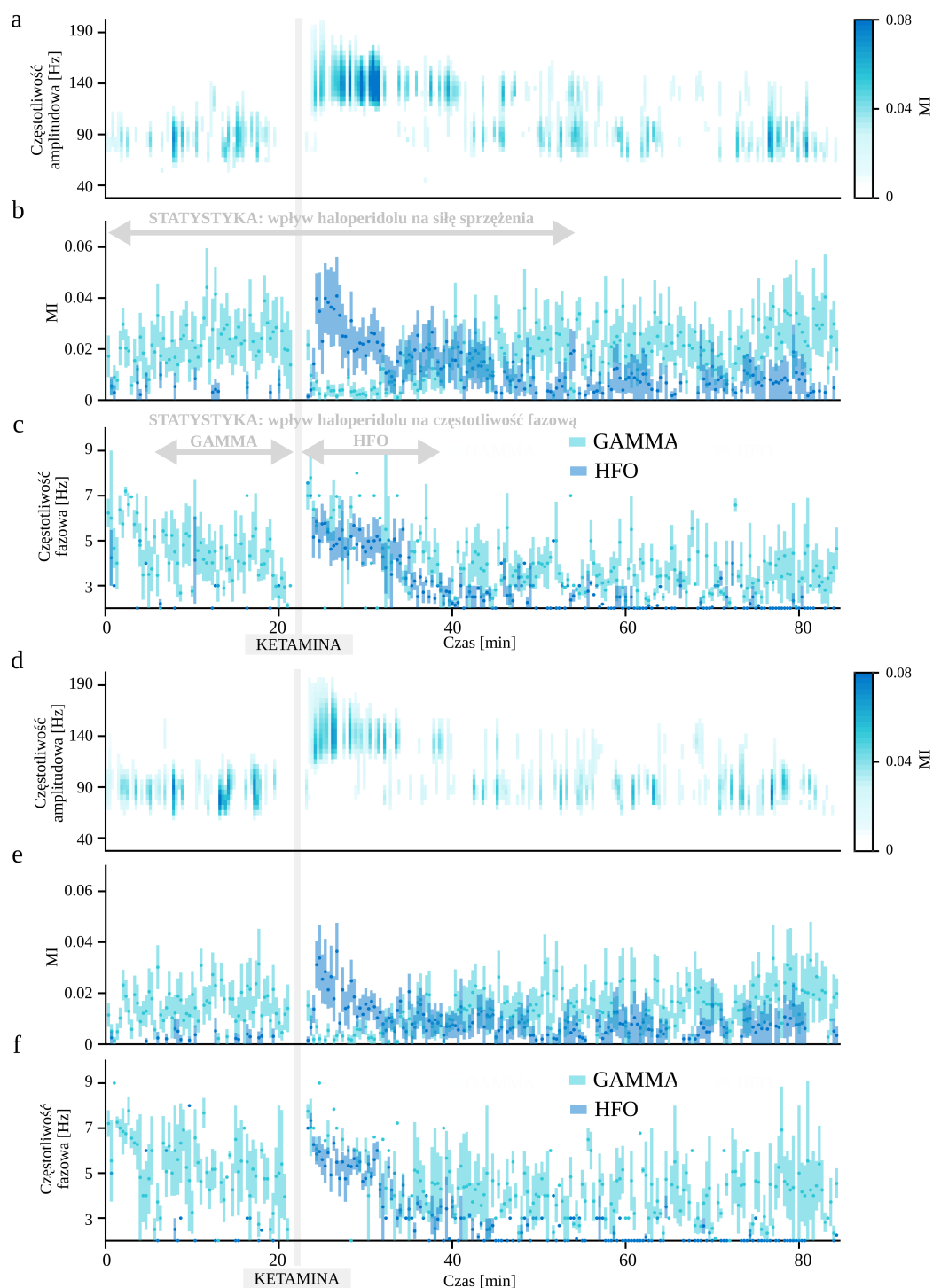
Mając na uwadze wolne oscylacje przypadające na zakres częstotliwości rytmu oddechowego, zbadano również przebieg zależności dominujących częstotliwości fazowych od czasu. Średnie częstotliwości fazowe, dla których występuje maksimum sprzężenia w paśmie HFO i gamma, przedstawiono na rysunku 6.4 na panelu c i f, odpowiednio dla analizy względem LFP i względem oddechu. Jak można zauważyć, obydwa przebiegi przejawiają analogiczne wzorce czasowe. Zarówno na wynikach analizy względem LFP, jak i względem oddechu można zaobserwować:

- wysoką dominującą częstotliwość fazową pasma gamma na początku sygnału ($\sim 6-7$ Hz), która następnie zaczyna silnie fluktuować wokół niższej częstotliwości ($\sim 4-5$ Hz) aż do momentu iniekcji ketaminy
- tuż po iniekcji ketaminy dominująca częstotliwość fazowa pasma gamma i HFO jest wysoka (~ 7 Hz) i szybko maleje do stabilnego poziomu $\sim 4-5$ Hz, który utrzymuje się do około 10 minut po zastrzyku
- po około 10 minutach po zastrzyku dominująca częstotliwość fazowa pasma HFO maleje do ~ 3 Hz, natomiast pasma gamma do $\sim 4-5$ Hz i aż do końca sygnału fluktuuje wokół tych wartości

Aby skwantyfikować stopień podobieństwa przebiegów pochodzących z analizy względem LFP i względem oddechu, obliczono współczynniki korelacji Spearmana (pomijając punkty bez wykrytego sprzężenia), które wyniosły $\rho(236) = 0.4833$ ($p = 2.46 \cdot 10^{-15}$) i $\rho(141) = 0.7407$ ($p = 3.98 \cdot 10^{-26}$) dla zależności dominujących częstotliwości fazowych od czasu odpowiednio dla pasma gamma i HFO.

6.2.2 Badanie wpływu haloperidolu na behawioralne i elektrofizjologiczne efekty działania ketaminy

Analiza PAC sygnałów z eksperymentu 3, względem LFP oraz względem oddechu, wykazała u wszystkich szczurów sprzężenie pomiędzy badanym zakresem częstotliwości fazowych (2-10 Hz) a rytmem gamma (~ 90 Hz) oraz HFO (~ 150 Hz). Na rysunku 6.5 na panelach a i d, przedstawiony został przebieg sprzężenia w czasie dla przykładowego szczura odpowiednio dla analizy względem LFP i względem oddechu. Jak można zauważyć, sprzężenie z HFO powiązane jest z podaniem ketaminy (około 54 minuty) i utrzymuje się przez okres 20 minut. Sprzężenie z pasmem gamma widoczne jest w



RYSUNEK 6.4. Wyniki analizy PAC (a-c) względem LFP oraz (d-f) względem oddechu dla eksperymentu 2. a,d) Przebieg w czasie wykrytego *Właściwego* sprzężenia dla wybranego szczura. Do każdej epoki i do każdej częstotliwości amplitudowej przypisane zostało maksimum miary PAC, wybrane spośród wyników dla wszystkich badanych częstotliwości fazowych (2-10 Hz). b,e) Przebieg w czasie średniej siły sprzężenia (punkt) i jej odchylenia standardowego (zaciemiony obszar wokół punktu) dla pasma HFO (kolor niebieski) i gamma (kolor turkusowy). Zakresy częstotliwości pasma HFO i gamma zostały dobrane dla każdego szczura oddzielnie. c,f) Przebieg w czasie średniej dominującej częstotliwości fazowej (punkt) i jej odchylenia standardowego (zaciemiony obszar wokół punktu) dla pasma HFO (kolor niebieski) i gamma (kolor turkusowy). Szarymi strzałkami oznaczono fragmenty, które zostały poddane analizom statystycznym opisanym w sekcji 6.2.2.

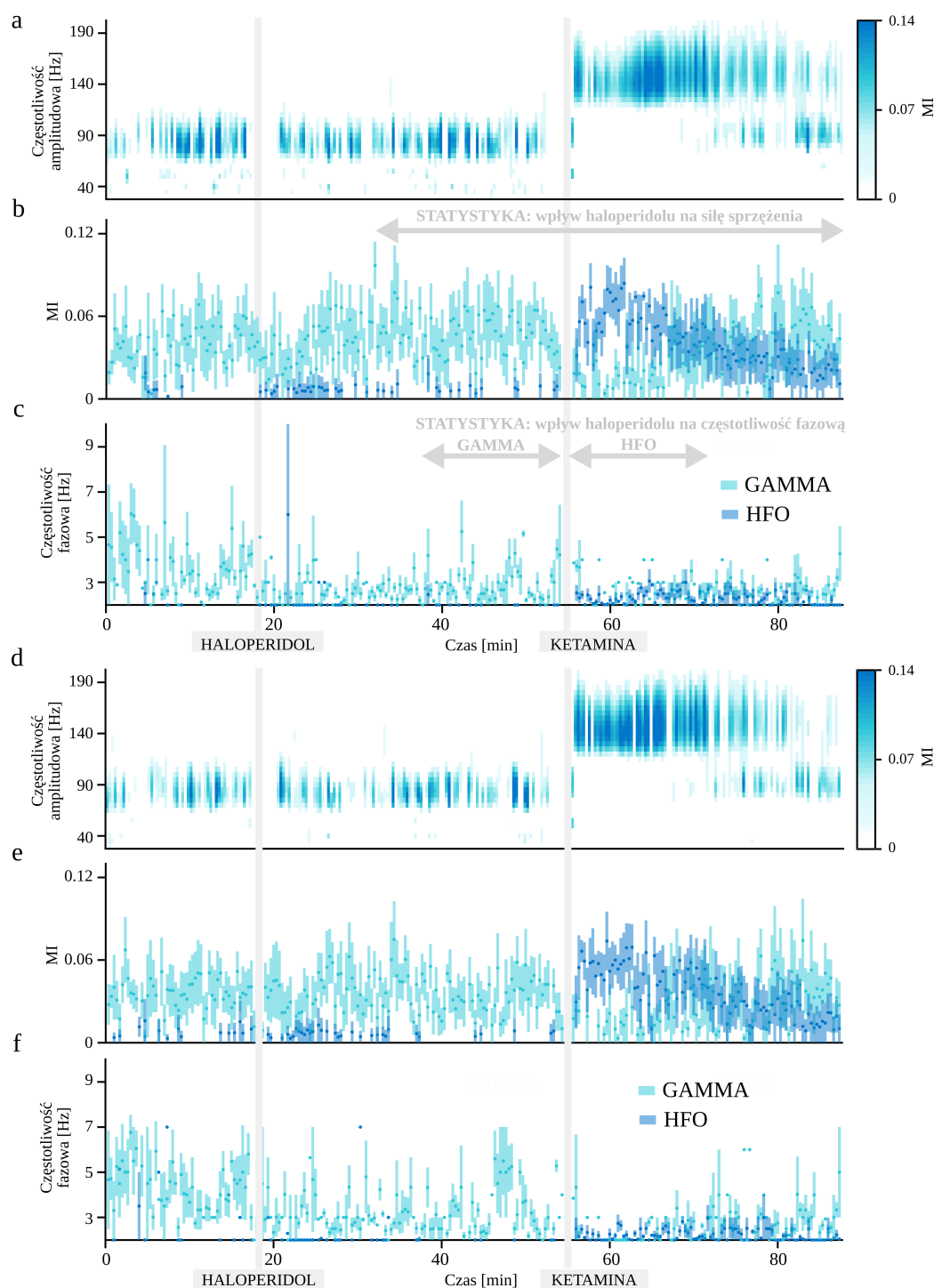
stanie spoczynkowym (do około 20 minuty), po podaniu haloperidolu, a przed podaniem ketaminy (między 20 a 55 minutą), zanika na czas działania ketaminy, a następnie odbudowuje się. Aby zbadać powtarzalność tych wzorców wśród wszystkich szczurów, obliczono wartość średniej siły sprężenia i jej odchylenia standardowego dla każdej 20-sekundowej epoki oddzielnie dla pasma HFO i gamma. Zakresy częstotliwości pasma HFO i gamma zostały dobrane oddzielnie dla każdego szczura na podstawie przebiegu sprężenia w czasie. Zależność średniej siły PAC od czasu dla obydwu pasm częstotliwości przedstawiono na rysunku 6.5 na panelach b i e, odpowiednio dla analizy względem LFP i oddechu. Wyniki te przejawiają analogiczne wzorce czasowe. Aby zbadać stopień zależności między nimi, obliczono współczynniki korelacji Spearmana, które wyniosły $\rho(261) = 0.5832$ ($p = 2.31 \cdot 10^{-25}$) i $\rho(261) = 0.8583$ ($p = 1.40 \cdot 10^{-77}$) dla przebiegu siły sprężenia w czasie odpowiednio dla pasma gamma i HFO.

W następnej kolejności zbadano przebieg zależności dominujących częstotliwości fazowych od czasu. Wyniki oddzielne dla pasma HFO i gamma przedstawiono na rysunku 6.5 na panelach c i f, odpowiednio dla analizy względem LFP i względem oddechu. Jak można zauważyć, obydwa przebiegi przejawiają analogiczne wzorce czasowe. Zarówno na wynikach pochodzących z analizy względem LFP, jak i względem oddechu można zaobserwować:

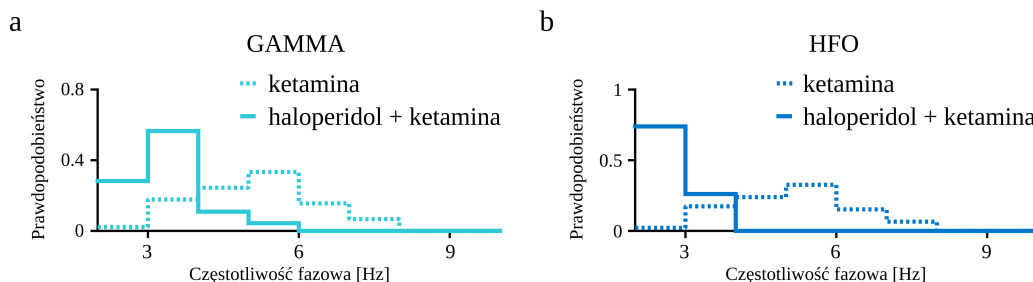
- wysoką dominującą częstotliwość fazową pasma gamma na początku sygnału (~ 6 Hz), która następnie zaczyna silnie fluktuować wokół niższej częstotliwości (~ 4 Hz) aż do momentu iniekcji haloperidolu (około 20 minuty sygnału)
- po iniekcji haloperidolu dominująca częstotliwość fazowa pasma gamma utrzymuje się na poziomie ~ 3 -4 Hz, czasami krótkotrwale przyjmując wartości około 5 Hz. Taki stan utrzymuje się do iniekcji ketaminy około 55 minuty sygnału
- po iniekcji ketaminy dominująca częstotliwość fazowa pasma gamma nie ulega zmianie, natomiast dla pasma HFO utrzymuje się na poziomie ~ 3 Hz aż do końca sygnału

Aby skwantyfikować stopień podobieństwa przebiegów pochodzących z analizy względem LFP i względem oddechu, obliczono współczynniki korelacji Spearmana (pomijając punkty bez wykrytego sprężenia), które wyniosły $\rho(233) = 0.4352$ ($p = 2.81 \cdot 10^{-12}$) i $\rho(118) = 0.4086$ ($p = 3.61 \cdot 10^{-6}$) dla zależności dominujących częstotliwości fazowych od czasu odpowiednio dla pasma gamma i HFO.

Aby zbadać wpływ haloperidolu, porównano wyniki analizy względem LFP dla eksperymentu 2 i 3. Ze względu na różne schematy eksperymentalne do porównań przebiegu siły sprężenia wykorzystano 54 minutowy wycinek sygnału zawierający 22 minuty przed



RYSUNEK 6.5. Wyniki analizy PAC (a-c) względem LFP oraz (d-f) względem oddechu dla eksperymentu 3. a,d) Przebieg w czasie wykrytego *Właściwego* sprzężenia dla wybranego szczura. Do każdej epoki i do każdej częstotliwości amplitudowej przypisane zostało maksimum miary PAC, wybrane spośród wyników dla wszystkich badanych częstotliwości fazowych (2-10 Hz). b,e) Przebieg w czasie średniej siły sprzężenia (punkt) i jej odchylenia standardowego (zaczerniony obszar wokół punktu) dla pasma HFO (kolor niebieski) i gamma (kolor turkusowy). Zakresy częstotliwości pasma HFO i gamma zostały dobrane dla każdego szczura oddzielnie. c,f) Przebieg w czasie średniej dominującej częstotliwości fazowej (punkt) i jej odchylenia standardowego (zaczerniony obszar wokół punktu) dla pasma HFO (kolor niebieski) i gamma (kolor turkusowy). Szarymi strzałkami oznaczono fragmenty poddane analizom statystycznym.



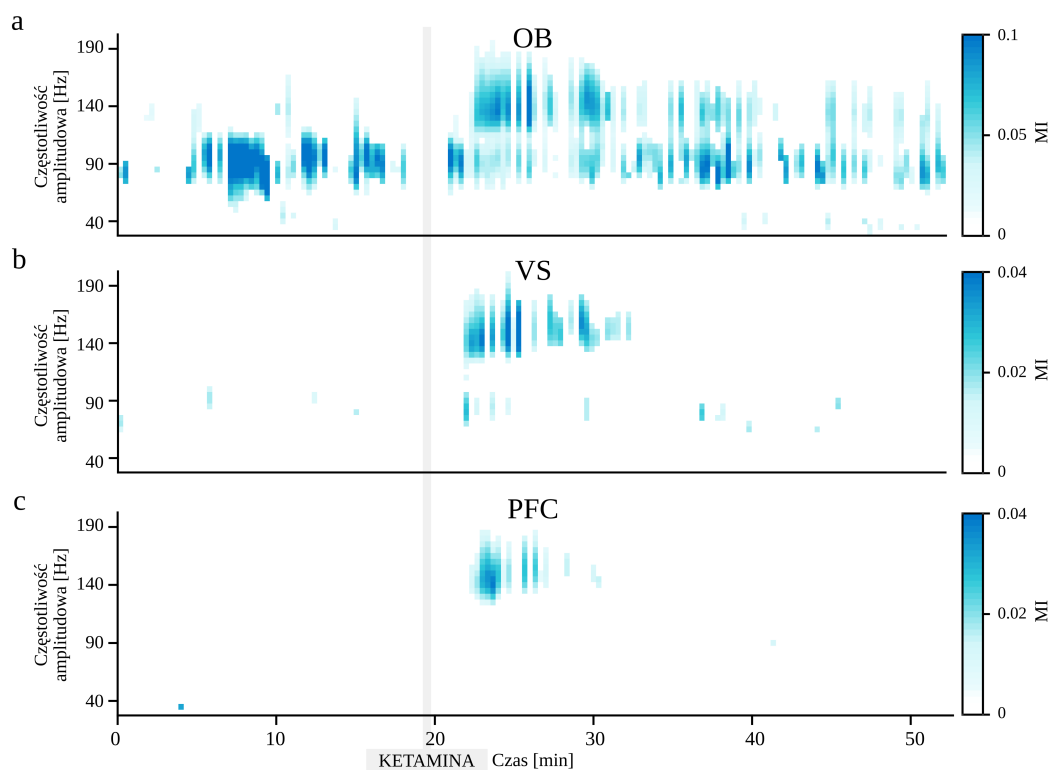
RYSUNEK 6.6. Rozkłady dominujących częstotliwości fazowych dla analizy względem LFP z eksperymentu 2 (ciągła linia), gdzie podana była tylko ketamina, oraz z eksperymentu 3 (kropkowana linia), gdzie najpierw nastąpiła iniekcja haloperidolu a dopiero potem ketaminy. Rozkłady dla pasma gamma (a) pochodzą z wycinka sygnału obejmującego 15 minut tuż przed podaniem ketaminy, natomiast rozkłady dla pasma HFO (b) pochodzą z fragmentu sygnału obejmującego 15 minut tuż po podaniu ketaminy.

podaniem ketaminy i 32 minuty po podaniu tego środka psychoaktywnego. Aby zbadać stopień zależności między przebiegiem siły sprzężenia bez iniekcji haloperidolu i po zastosowaniu tego środka, obliczono współczynniki korelacji Spearmana, które wyniosły $\rho(161) = 0.5355$ ($p = 1.77 \cdot 10^{-13}$) dla pasma gamma i $\rho(161) = 0.8359$ ($p = 8.65 \cdot 10^{-44}$) dla pasma HFO.

Wpływ haloperidolu na dominującą częstotliwość fazową zbadano oddzielnie dla pasma gamma (wycinki sygnału obejmujące 15 minut tuż przed podaniem ketaminy) i dla pasma HFO (wycinki sygnału obejmujące 15 minut tuż po podaniu ketaminy). Porównano ze sobą rozkłady dominujących częstości fazowych pochodzących od każdego szczura w zadanych przedziałach czasowych. Wyniki przedstawiono na rysunku 6.6. Różnicę w otrzymanych rozkładach potwierdzono przy użyciu testu Kołmogorowa-Smirnowa dla dwóch prób na poziomie istotności $\alpha=0.05$, zarówno w przypadku pasma gamma ($D=0.6083$, $p = 1.95 \cdot 10^{-30}$), jak i pasma HFO ($D=0.4013$, $p = 1.91 \cdot 10^{-12}$).

6.2.3 Badanie wpływu lokalizacji elektrod na przebieg sprzężenia z HFO

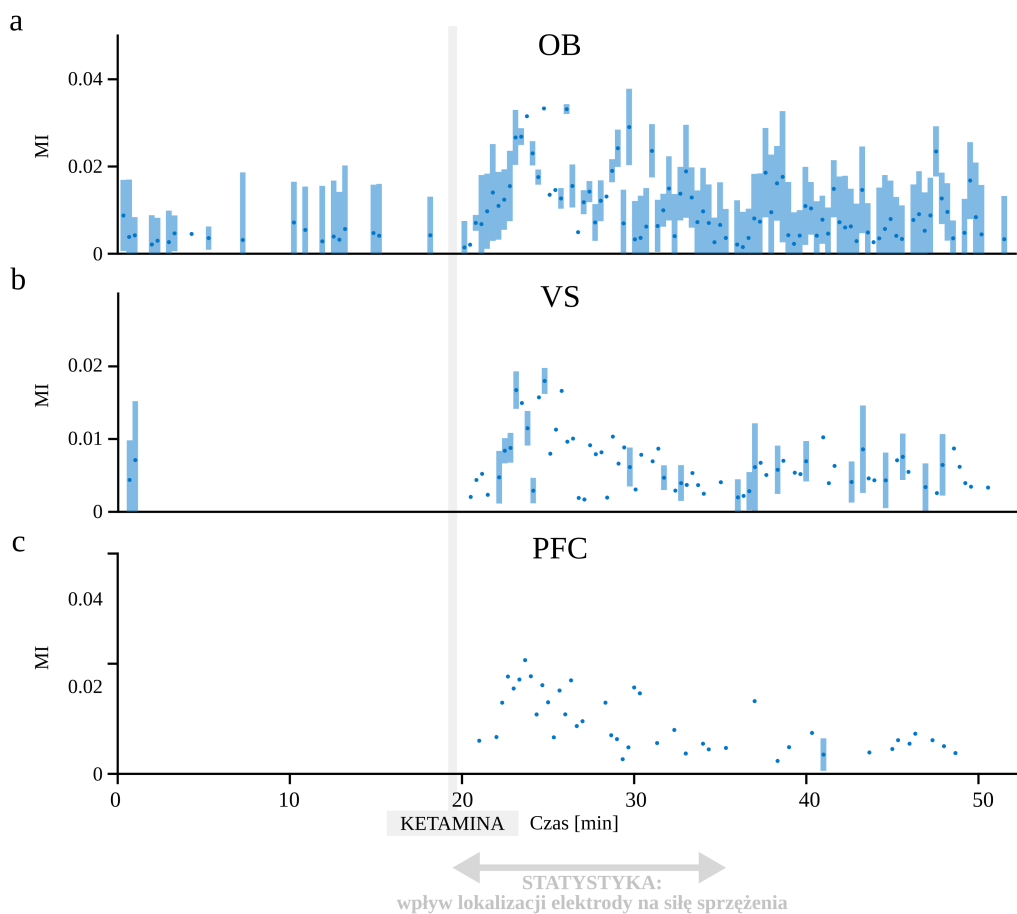
Analiza PAC względem sygnału LFP z opuszki węchowej (OB), prążkowie brzuszne (VS) i kory przedczołowej (PFC) z eksperymentu 4 wykazała u wszystkich szczurów sprzężenie pomiędzy badanym zakresem częstotliwości fazowych (2-10 Hz) a rytmem gamma (~ 90 Hz) oraz HFO (~ 150 Hz). Na rysunku 6.7 przedstawiony został przebieg sprzężenia w czasie dla przykładowego szczura uzyskany dla sygnałów LFP z kolejnych struktur mózgu: OB (a), VS (b), PFC (c). Jak można zauważyć, wyniki dla każdej z kolejnych elektrod zawierają coraz mniej PAC. Sprzężenie z HFO pojawia się we wszystkich kanałach tuż po podaniu ketaminy (około 19 minuty) i w opuszcze węchowej utrzymuje



RYSUNEK 6.7. Przebieg w czasie wykrytego *Właściwego* sprzężenia dla sygnałów LFP, pochodzących z eksperymentu 4, z różnych struktur mózgu wybranego szczura: (a) opuszka węchowa–OB, (b) prążkowie brzuszne–VS, (c) kora przedczołowa–PFC. Do każdej epoki i do każdej częstotliwości amplitudowej przypisane zostało maksimum miary PAC, wybrane spośród wyników dla wszystkich badanych częstotliwości fazowych (2-10 Hz).

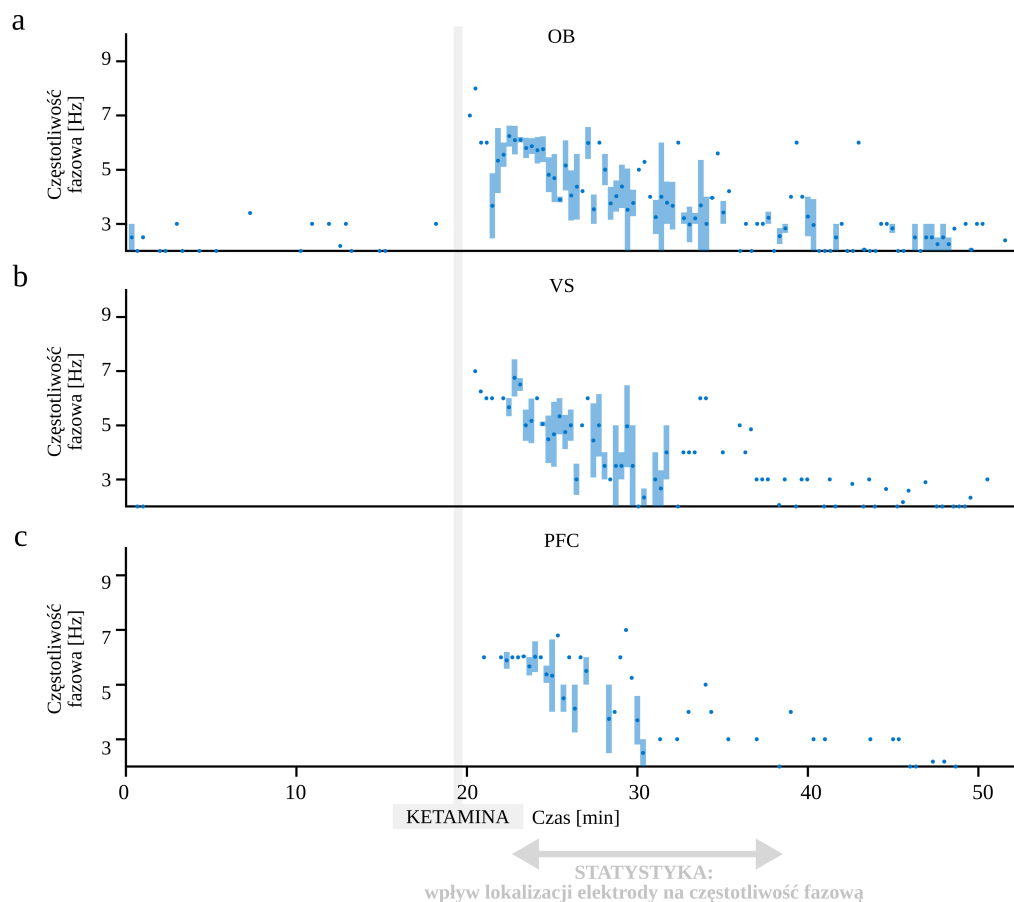
się przez około 20 minut, w prążkowie brzuszno około 10 minut i w korze przedczołowej około 5 minut. Sprzężenie z pasmem gamma jest wyraźnie widoczne tylko w OB i rozciąga się na cały czas trwania sygnału.

Aby zbadać zależność siły sprzężenia HFO od czasu, dla wszystkich szczurów obliczono wartość średniej siły sprzężenia i jej odchylenia standardowego dla każdej 20-sekundowej epoki. Zakres częstotliwości pasma HFO został dobrany oddzielnie dla każdego szczura na podstawie przebiegu sprzężenia w czasie. Zależność średniej siły PAC od czasu dla pasma HFO dla kanałów OB, VS i PFC przedstawiono na rysunku 6.8 odpowiednio na panelach a, b, c. Można zauważyć, że wyniki prezentują podobne wzorce czasowe – wzrost siły sprzężenia tuż po podaniu ketaminy (około 19 minuty), maksimum po około 4 minutach od iniekcji i następujący po nim powolny spadek wartości MI. Aby zbadać stopień podobieństwa między przebiegiem siły sprzężenia w czasie dla różnych struktur mózgu, obliczono współczynniki korelacji Spearmana, które wyniosły $\rho(158) = 0.6456$ ($p = 5.28 \cdot 10^{-20}$) dla OB i VS, $\rho(158) = 0.5945$ ($p = 1.81 \cdot 10^{-16}$) dla OB i PFC oraz $\rho(158) = 0.5577$ ($p = 2.71 \cdot 10^{-14}$) dla VS i PFC.



RYSUNEK 6.8. Przebieg w czasie średniej siły sprzężenia dla pasma HFO (punkt) i jej odchylenia standardowego (zaczieniony obszar wokół punktu) dla sygnałów pochodzących z różnych struktur mózgu z eksperymentu 4: (a) opuszka węchowa–OB, (b) prążkowie brzuszne–VS, (c) kora przedczołowa–PFC. Szarą strzałką oznaczono fragment poddany analizie statystycznej.

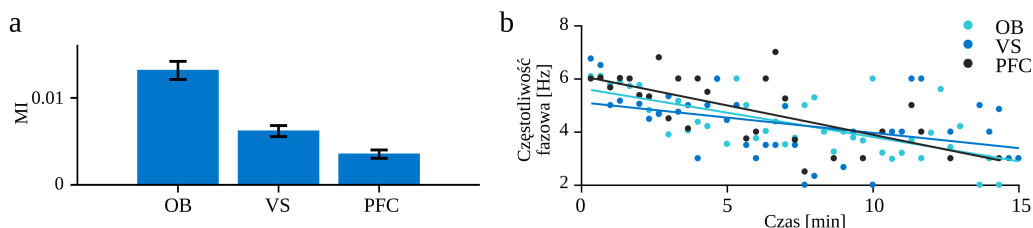
Powyższe wyniki przeanalizowano również pod kątem zależności siły sprzężenia od umiejscowienia elektrody rejestrującej. Warto zauważyć, że siła sprzężenia i jego wykrywalność największa jest dla opuszki węchowej i maleje dla kolejnych kanałów. Aby stwierdzić, czy ten efekt jest istotny statystycznie, wykonano dwukierunkową analizę wariancji ANOVA(kanał x czas) na 15 minutowym odcinku sygnału rozpoczynającym się tuż po podaniu ketaminy. Wyniki testu potwierdziły istotność czynnika lokalizacji ($F(90,690)=47.5685$, $p=4.43 \cdot 10^{-20}$) oraz czynnika czasu ($F(90,690)=3.0979$, $p=2.61 \cdot 10^{-10}$). Przeprowadzone w następnej kolejności testy post-hoc, zawierające poprawkę Bonferroniego będącą odpowiedzią na problem wielokrotnych porównań, wykazały różnice między wszystkimi lokalizacjami: siła sprzężenia jest większa w OB niż w VS ($p < 0.001$) i PFC ($p < 0.001$) oraz w VS niż w PFC ($p=0.0285$). Uśrednione wartości MI, pochodzące z 15 minutowego fragmentu sygnału tuż po podaniu ketaminy, wraz z odchyleniem standardowym średniej przedstawione zostały na rysunku 6.10 a.



RYSUNEK 6.9. Przebieg w czasie średniej dominującej częstotliwości fazowej dla pasma HFO (punkt) i jej odchylenia standardowego (zacieniony obszar wokół punktu) dla analizy sygnałów z eksperymentu 4, pochodzących z różnych struktur mózgu: (a) opuszka węchowa–OB, (b) prążkowie brzuszne–VS, (c) kora przedczołowa–PFC. Szarą strzałką oznaczono fragment poddany analizie statystycznej.

W następnej kolejności zbadano przebieg zależności dominujących częstotliwości fazowych od czasu. Wyniki dla pasma HFO dla kanałów OB, VS i PFC przedstawiono na rysunku 6.9 odpowiednio na panelach a, b, c. Jak można zauważyć, przebiegi przejawiają analogiczne wzorce czasowe – wzrost częstotliwości tuż po podaniu ketaminy (około 19 minuty), maksimum po około 4 minutach od iniekcji i następujący po nim powolny spadek dominującej częstotliwości fazowej. Aby zbadać stopień podobieństwa między przebiegiem dominujących częstotliwości fazowych w czasie dla różnych struktur mózgu, obliczono współczynniki korelacji Spearmana (pomijając punkty bez wykrytego sprzężenia), które wyniosły $\rho(69) = 0.5857$ ($p = 1.25 \cdot 10^{-7}$) dla OB i VS, $\rho(42) = 0.8083$ ($p = 9.61 \cdot 10^{-11}$) dla OB i PFC oraz $\rho(37) = 0.6794$ ($p = 3.77 \cdot 10^{-6}$) dla VS i PFC.

Aby zbadać, czy lokalizacja elektrody ma wpływ na przebieg średniej dominującej częstotliwości fazowej w czasie, przeprowadzono analizę kowariancji ANCOVA. Test wykonany był na średnich z 15 minutowego odcinka sygnału rozpoczynającego się 4 minuty po podaniu ketaminy. Wyniki nie pozwoliły na odrzucenie hipotezy zerowej mówiącej o braku



RYSUNEK 6.10. Wyniki eksperymentu 4. a) Uśrednione wyniki siły sprzężenia w paśmie HFO dla 15 minut sygnału tuż po podaniu ketaminy, przy podziale na różne struktury mózgu (opuszkę węchową–OB, prążkowie brzuszne–VS i korę przedczołową) wraz z zaznaczonym odchyleniem standardowym średniej. b) Przebieg średniej dominującej częstotliwości fazowej w czasie dla pasma HFO, z 15-minutowego odcinka sygnału rozpoczynającego się 4 minuty po podaniu ketaminy, przy podziale na różne struktury mózgu: OB (kolor turkusowy), VS (kolor niebieski), PFC(kolor czarny). Ciągłe linie wyznaczają proste dopasowane do każdej z grup oddzielnie.

wpływu czynnika lokalizacyjnego na przebieg dominującej częstotliwości fazowej w czasie ($F(2,102)=0.8865$, $p=0.4152$). Dane poddane analizie kowariancji, wraz z dopasowanymi prostymi, przedstawione zostały na rysunku 6.10 b.

6.3 Wnioski

Celem badań opisanych w tym rozdziale była obrona tezy mówiącej o tym, że **autor-ska metoda eMI jest użyteczna do badania dynamiki sprzężeń typu faza-amplituda**.

Wyniki zawarte w rozdziałach 6.2.1, 6.2.2 i 6.2.3 stanowią część obszernych badań nad działaniem subanastetycznej dawki ketaminy na szczury, prowadzonych w Instytucie Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN. Poznanie mechanizmu wpływu tego środka psychoaktywnego na funkcjonowanie sieci neuronalnych ma ogromne znaczenie ze względu na potencjalnie możliwe wykorzystanie ketaminy jako leku na depresję [44].

Podczas swobodnej aktywności u szczurów można wydzielić dwa typowe rytmy oddecho- chowe. Wolniejszy (1-3 Hz) powiązany jest z nieruchomym stanem czuwania i spoczynkiem, natomiast szybszy (4-10 Hz) z aktywnością eksploracyjną i węszeniem. Swobodna aktywność u szczurów zazwyczaj składa się z naprzemiennych kilkusekundowych epizodów obydwu wzorców aktywności. Podanie subanastetycznej dawki ketaminy wiąże się z tymczasowymi zmianami w zachowaniu takimi jak hiperlokomocja, zachowania stereotypowe (nienormalna, powtarzalna, bezcelowa aktywność ruchowa taka jak: nadmierne węszenie, kołysanie głową na boki, odchylenie głowy z wystawieniem języka, kręcenie się w kółko, chodzenie do tyłu i wiele innych), zaburzenie interakcji społecznych oraz upośledzenie funkcji poznawczych [1, 5, 50]. Natomiast haloperidol, jako antagonist

receptorów dopaminowych, ma silne działanie antypsychotyczne – zmniejsza niepokój, pobudzenie psychoruchowe i napęd psychoruchowy [19, 61, 69].

Bazując na literaturze, [39] uzasadnione jest oczekiwanie obecności sprzężenia pomiędzy rytmem teta (4-8 Hz) a rytmem gamma (40-80 Hz) w sygnale LFP podczas podstawowej swobodnej aktywności szczurów. Natomiast inne badania sugerują, że po iniekcji ketaminy w sygnale LFP można zaobserwować sprzężenie amplitudy oscylacji HFO z fazą wolniejszego rytmu delta (1-3 Hz) lub teta (4-8 Hz) [13, 17, 64, 83].

Wyniki badań, w których jedynym podanym środkiem psychoaktywnym była ketamina (rozdziały 6.2.1 i 6.2.3), obrazują wspomniane powyżej wzorce sprzężenia w sygnale LFP dla podstawowej aktywności spoczynkowej szczurów i dla aktywności pod wpływem ketaminy. Na rysunkach 6.4 a, b i 6.7 a, b można zaobserwować, że sprzężenie z HFO pojawia się tuż po podaniu ketaminy, utrzymuje się przez około 15-20 minut i powoli zanika, natomiast sprzężenie z pasmem gamma obecne jest przed iniekcją, słabnie w okresie działania ketaminy, a następnie odbudowuje się.

Wyniki analizy PAC względem oddechu przejawiają bardzo podobny wzorec przebiegu siły sprzężenia pasma HFO i gamma w czasie (rysunek 6.4 d, e). Analiza statystyczna wykazała, że są one silnie skorelowane z analogicznymi wynikami analizy względem LFP. Ta obserwacja sugeruje istnienie związku pomiędzy rytmem oddechowym szczurów a oscylacjami o niskiej częstotliwości występującymi w OB. Za tym wnioskiem przemawia również zgodność przebiegu dominującej częstotliwości fazowej w czasie (zarówno pasma HFO, jak i gamma) dla analizy względem LFP i względem oddechu, potwierdzona statystycznie wysokim współczynnikiem korelacji (rysunek 6.4 c i f).

Dodatkowo, zależność dominującej częstotliwości fazowej pasma HFO i gamma od czasu (zarówno dla analizy względem LFP, jak i względem oddechu) przejawiają cechy zgodne z przyjętymi założeniami. Początkowo wysoka częstotliwość fazowa pasma gamma odpowiada wstępnej intensywnej eksploracji klatki eksperymentalnej, natomiast dalsze silne fluktuacje wokół niższej częstotliwości mogą być epizodami naprzemiennej aktywności spoczynkowej i eksploracyjnej. Tuż po iniekcji ketaminy, która wywołuje tymczasowy stan psychotyczny objawiający się m.in. hiperlokomocją i nadmiernym węszeniem, pojawia się wysoka częstotliwość fazowa pasma HFO zgodna z dużą częstotliwością oddechu. Wraz ze słabnącym działaniem ketaminy i ustępowaniem stanu psychozy, dominująca częstotliwość pasma HFO maleje. Następnie, gdy zachowanie szczura wraca do normy, częstotliwość fazowa pasma gamma ponownie zaczyna fluktuować wokół niższych wartości. Całość powyższych rozważań sugeruje istotną rolę rytmu oddechowego w generacji sprzężeń z pasmem HFO i gamma.

Ketamina, będąca niekonkurencyjnym antagonistą receptora NMDA, wywołuje szereg efektów elektrofizjologicznych, w tym wzrost mocy oscylacji o wysokiej częstotliwości (HFO), oraz behawioralnych. Spowodowane iniekcją ketaminy zachowania stereotypowe i hiperlokomocja są klasycznymi przykładami pobudzenia układu dopaminergicznego [16]. Z tego względu haloperidol, który jest blokerem receptorów dopaminowych, może im przeciwdziałać. Jednakże badania przeprowadzone przez Hunt et al. [31] wykazały, że środki pobudzające receptory dopaminowe mają niewielki wpływ na moc oscylacji HFO.

Wyniki analizy PAC przedstawione na rysunku 6.5 są zgodne z powyższymi założeniami. Brak wpływu haloperidolu na sprzężenie z HFO widoczny jest na przebiegach sprzężenia dla przykładowego szczura (rys. 6.5 a, d) oraz przebiegach średniej siły sprzężenia w czasie dla pasma HFO i gamma (rys. 6.5 b, e). Wspomniane wykresy zawierają wzorce analogiczne do tych pochodzących z eksperymentu z iniekcją samej ketaminy (rys. 6.4 a, b, d, e). Porównanie tych wzorców, pochodzących z analiz względem LFP, na fragmencie obejmującym 22 minuty przed podaniem ketaminy i 32 minuty po podaniu tego środka psychoaktywnego wykazało, że są one silnie skorelowane.

Dodatkowo, zależność dominującej częstotliwości fazowej pasma HFO i gamma od czasu (zarówno dla analizy względem LFP, jak i względem oddechu – rys. 6.5 c, f) przejawiają cechy zgodne z przyjętymi założeniami. Początkowo wysoka częstotliwość fazowa pasma gamma odpowiada wstępnej intensywnej eksploracji klatki eksperymentalnej, natomiast dalsze silne fluktuacje wokół niższej częstotliwości mogą być epizodami naprzemiennej aktywności spoczynkowej i eksploracyjnej. Tuż po iniekcji haloperidolu, który zmniejsza niepokój, pobudzenie psychoruchowe i napęd psychoruchowy, pojawia się spadek częstotliwości fazowej pasma gamma zgodny z uspokojeniem oddechu. Widoczne fluktuacje wokół niskiej częstotliwości fazowej mogą być epizodami naprzemiennej aktywności spoczynkowej i eksploracyjnej. Utrzymujące się działanie haloperidolu przeciwdziała behawioralnym efektom ketaminy, co skutkuje brakiem stanu psychozy, a co za tym idzie, brakiem podwyższonej częstotliwości. Pojawiające się po iniekcji ketaminy sprzężenie w paśmie HFO utrzymuje niską częstotliwość fazową. Po 10-15 minutach, gdy działanie ketaminy słabnie, odbudowuje się sprzężenie w paśmie gamma, dla którego dominująca częstotliwość fazowa ponownie fluktuuje wokół niskich wartości. Test statystyczny Kołmogorowa-Smirnowa potwierdził istotność zaobserwowanej różnicy w rozkładzie dominującej częstotliwości fazowej pasma HFO i gamma pomiędzy wynikami eksperymentu z podanym haloperidolem i ketaminą, a samą ketaminą (rys. 6.6). Całość powyższych rozważań potwierdza hipotezę o istotnej roli rytmu oddechowego w generacji sprzężeń w paśmie HFO i gamma.

Aby dodatkowo potwierdzić postawioną wcześniej hipotezę o istnieniu związku pomiędzy rytmem oddechowym szczurów a oscylacjami o niskiej częstotliwości występującymi w OB, zbadano podobieństwo wzorców przebiegu siły sprzężenia i dominującej częstotliwości fazowej w czasie pomiędzy wynikami analizy względem LFP i względem oddechu. Analiza statystyczna wykazała, że są one ze sobą silnie skorelowane.

Ostatni eksperyment z danymi pochodzącymi z różnych struktur mózgu miał na celu zbadanie lokalizacji źródła oscylacji o wysokiej częstotliwości pojawiających się po iniekcji ketaminy. Jak już wcześniej wspomniano, przebieg sprzężenia w paśmie HFO i gamma (rys. 6.7) przejawiał wzorec czasowy zgodny z oczekiwaniami. Aby dodatkowo zbadać, czy sygnały pochodzące z trzech różnych struktur mózgu obrazują ten sam efekt, dla każdej z par elektrod obliczono współczynnik korelacji przebiegu siły sprzężenia w czasie oraz przebiegu dominującej częstotliwości fazowej w czasie (rys. 6.8 oraz 6.9). Wyniki potwierdziły istnienie silnej zależności między każdą z par kanałów. W następnej kolejności, korzystając z dwuczynnikowej analizy wariancji ANOVA, potwierdzono istotny wpływ czynnika lokalizacji elektrody rejestrującej na siłę sprzężenia w paśmie HFO. Testy post-hoc wykazały, że siła sprzężenia jest największa w opuszce węchowej, nieco mniejsza w prążkowie brzuszny i najmniejsza w korze przedczołowej (rys. 6.10 a). Natomiast korzystając z analizy kowariancji, potwierdzono brak wpływu czynnika lokalizacji elektrody rejestrującej na dominującą częstotliwość fazową (rys. 6.10 b). Całość wyników sugeruje, że sygnały ze struktur opuszki węchowej, prążkowie brzuszny i kory przedczołowej obrazują ten sam efekt sprzężenia w paśmie HFO pojawiającego się po podaniu ketaminy, którego największe nasilenie występuje dla OB. Takie wnioski wspierają hipotezę o głównym źródle oscylacji HFO mieszczącym się w opuszce węchowej.

Podsumowując, autorska metoda detekcji sprzężenia okazała się użyteczna w poparciu hipotezy o roli rytmu oddechowego w generacji HFO i o głównym źródle wysokoczęstotliwościowych oscylacji w opuszce węchowej. Badania opisane w powyższym rozdziale pokazały, że analiza dynamiki sprzężeń typu faza-amplituda wykonana przy użyciu metody eMI pozwala wyciągać wnioski dotyczące zagadnień fizjologicznych.

Rozdział 7

Podsumowanie

7.1 Wyniki badań

Głównym celem niniejszej pracy była ewaluacja autorskiej metody detekcji sprzężeń typu faza-amplituda. Schemat badań i kryteria oceny (w postaci postawionych hipotez) są wynikiem rozważań motywujących powstanie narzędzia służącego do rzetelnej analizy PAC.

W pierwszej kolejności zbadano poprawność konstrukcji autorskiej metody eMI. Wyniki opisane w rozdziale 3 wykazały, że jest ona stabilna, działa poprawnie dla szerokiego zakresu parametrów (o wartości których można zdecydować, kierując się listą praktycznych wskazówek) oraz zawiera prawidłowe wnioskowanie statystyczne o efektach prezentowanych na komodulogramach, skutkujące oczekiwanym poziomem fałszywych detekcji.

Następnie, aby umiejscowić eMI w kontekście dostępnych metod, porównano ją z dwoma szeroko stosowanymi reprezentantami. Wyniki, również zawarte w rozdziale 3, sugerują duże podobieństwo w charakterystyce zależności od badanych parametrów analizowanego sygnału. Analiza granicznych wartości parametrów umożliwiających detekcję ponad połowy przypadków sprzężenia wykazała porównywalną lub miejscami wyższą czułość autorskiej metody, w stosunku do metod referencyjnych. Wyniki otrzymane dla danych elektrofizjologicznych również potwierdzają dużą zgodność wszystkich trzech metod.

W następnej kolejności zbadano elementy metody eMI, będące odpowiedzią na problem identyfikacji genezy sprzężenia typu faza-amplituda. Wyniki opisane w rozdziale 4 wykazały, że heurystyczny algorytm automatycznie oceniający genezę sprzężenia w większości przypadków działa poprawnie. Natomiast wykresy pomocnicze okazały się

użyteczne przy identyfikacji cech rozróżniających pochodzenie epifenomenalne od właściwego. Zastosowanie obydwu wspomnianych elementów umożliwia uwzględnienie większości rekomendacji Aru et al. [2], stanowiących o rzetelnej analizie PAC.

W rozdziale 5 zwrócono uwagę na dodatkowe możliwości analizy sprzężenia typu faza-amplituda, jakie stwarza autorska metoda. Szereg przeprowadzonych badań obrazuje zastosowanie informacji o fazie wolnej oscylacji, dla której występuje sprzężenie, jako dodatkowego wymiaru różnicującego PAC w różnych warunkach eksperymentalnych.

Na koniec, w rozdziale 6, przedstawiono zastosowanie metody eMI w badaniach nad działaniem subanastetycznej dawki ketaminy na szczury, prowadzonych w Instytucie Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN. Analiza dynamiki sprzężeń typu faza-amplituda wykonana przy użyciu autorskiej metody okazała się użyteczna w poparciu hipotez dotyczących badanego zjawiska fizjologicznego.

Całość powyższych badań sugeruje, że autorska metoda eMI jest narzędziem umożliwiającym dokładną, wielowymiarową i rzetelną analizę PAC. Dodatkowo pakiet ePAC zawierający autorską metodę eMI, dwie metody referencyjne oraz zestaw przykładowych skryptów i sygnałów jest powszechnie dostępny pod adresem <https://github.com/GabrielaJurkiewicz/ePAC>.

7.2 Ograniczenia metody eMI

Autorska metoda eMI ma pewne potencjalne ograniczenia. Sprzężenie typu faza-amplituda może przejawiać się nie tylko w formie zależnego od fazy niskoczęstotliwościowej oscylacji wzmocnienia amplitudy wysokoczęstotliwościowej oscylacji, ale również jej osłabienia. Metoda eMI wspiera tylko pierwszy z wymienionych modeli PAC. Jest to celowy zabieg wynikający z założenia, że w przypadku sygnałów elektrofizjologicznych bardziej prawdopodobne jest, że oscylacja o wysokiej częstotliwości występuje w postaci paczek aktywności pojawiających się w określonych momentach (co zgodne jest hipotezą zwiększonej pobudliwości błony neuronalnej w modelu pamięci krótkotrwałej [47]), niż w postaci stałej aktywności, która zanika zgodnie z fazą oscylacji o niskiej częstotliwości.

Kolejnym istotnym ograniczeniem są założenia leżące u podstaw algorytmu określającego genezę sprzężenia. Powstały one na podstawie wniosków z szeregu przeprowadzonych analiz i nie wynikają bezpośrednio z definicji PAC. Z tego względu, heurystyczny algorytm może czasami nieprawidłowo przydzielać etykiety opisujące wykryte PAC (przykład został opisany w rozdziale 4.2.2). Jednakże, oprócz algorytmu, na system identyfikacji genezy sprzężenia w metodzie eMI składa się również drugi element – wykresy pomocnicze. To właśnie one umożliwiają wykrycie błędnych oznaczeń oraz wgląd w

charakterystykę wykrytego PAC. Takie rozwiązanie jest podatne na subiektywny osąd użytkownika, jednak zapewnia dodatkowe źródło kontroli wyników.

7.3 Kierunek rozwoju

Metoda eMI osiąga bardzo dobre wyniki i spełnia swoje zadanie, jednak nadal możliwy jest jej dalszy rozwój. Usprawnić metodę można na dwa sposoby – zwiększając jej czułość lub precyzję automatycznego określania genezy sprzężenia.

Pierwszy kierunek zmian stanowi duże wyzwanie, gdyż ze względu na zasadę nieoznaczoności Heisenberga estymacja gęstości mocy w dziedzinie czas-częstotliwość zawsze będzie się wiązać z kompromisem rozdzielczości w obydwu wymiarach. Rozwiązaniem może okazać się zastosowanie modelu dobrze opisującego dynamikę sprzężenia typu faza-amplituda w wymiarze czasu. Jednakże, bazując na przeglądzie literatury, na chwilę obecną taki model jeszcze nie powstał.

Natomiast w ramach drugiego kierunku rozwoju jednym z ulepszeń może być konstrukcja dodatkowego algorytmu oznaczającego istotne piki w średnim widmie $AS(f_A)$ i widmie średniego sygnału $SA(f_A)$, spośród których wybierane byłoby maksimum zakresu częstotliwości f_A^M . Taki zabieg mógłby zwiększyć dokładność przypisywanych automatycznie etykiet *Wątpliwe/Właściwe*. Dodatkowo, dalsza analiza wykresów pomocniczych może pozwolić na wykrycie kolejnych wskaźników genezy PAC, które po wbudowaniu w heurystyczny algorytm zwiększą jego precyzję.

Dodatek A

Publikacje Autora¹

O tematyce zgodnej z rozprawą doktorską:

[A1] **Jurkiewicz G. J.**, Hunt M. J., Żygierewicz J. Addressing pitfalls in phase-amplitude coupling analysis with an extended Modulation Index toolbox. *Neuroinformatics*, 2020, doi:10.1007/s12021-020-09487-3

wkład własny:

- konstrukcja metody eMI
- analiza danych symulacyjnych i eksperymentalnych przy pomocy metody eMI przedstawionej w niniejszej rozprawie
- analiza statystyczna otrzymanych wyników
- przygotowanie materiałów graficznych
- redakcja tekstu

[A2] Wróbel J., Średniawa W., **Bernatowicz G. J.**, Żygierewicz J., Wójcik D., Whittington M. A., Hunt M. J. Nasal respiration is necessary for the emergence of ketamine-induced high frequency network oscillations and behavioral hyperactivity in freely moving rats. *Biorxiv*, 2020, doi: <https://doi.org/10.1101/2020.07.22.213850>

wkład własny:

- analiza danych eksperymentalnych przy pomocy wcześniejszej wersji metody eMI nie zawierającej heurystycznego algorytmu przypisującego genezę sprzężenia
- analiza statystyczna otrzymanych wyników

¹Bernatowicz to panieńskie nazwisko Gabrieli Jurkiewicz

- przygotowanie materiałów graficznych
- udział w redagowaniu tekstu

Pozostałe:

- [A3] Imbir K., Spustek T., Duda J., **Bernatowicz G.**, Żygierewicz J. N450 and LPC Event-Related Potential Correlates of an Emotional Stroop Task with Words Differing in Valence and Emotional Origin. *Frontiers in Psychology*. 8:880, May 2017, doi: 10.3389/fpsyg.2017.00880
- [A4] Imbir K., Spustek T., Duda J., **Bernatowicz G.**, Żygierewicz J. Two aspects of activation: arousal and subjective significance – behavioral and event-related potential correlates investigated by means of a modified emotional Stroop task. *Frontiers in Human Neuroscience*, 11:608, Dec 2017, doi: 10.3389/fnhum.2017.00608
- [A5] Imbir K., **Bernatowicz G.**, Duda-Goławska J., Żygierewicz J. The role of activation charge in an emotional categorisation task for words: insight from the perspective of a dual process theory of the activation mechanisms, *Journal of Cognitive Psychology*, 588-608, July 2018, doi: 10.1080/20445911.2018.1499658
- [A6] Imbir K., **Jurkiewicz G.**, Duda-Goławska J., Pastwa M., Żygierewicz J. The N400/FN400 and Lateralized Readiness Potential Neural Correlates of Valence and Origin of Words' Affective Connotations in Ambiguous Task Processing. *Frontiers in Psychology*, Oct 2018, doi: 10.3389/fpsyg.2018.01981
- [A7] Imbir K., **Jurkiewicz G.**, Duda-Goławska J., Żygierewicz J. The role of valence and origin of emotions in emotional categorization task for words. *Journal of Neurolinguistics*, Nov 2019, doi: 10.1016/j.jneuroling.2019.100854

Bibliografia

- [1] W. M. Abi-Saab, D. C. D’Souza, B. Moghaddam, and J. H. Krystal. The NMDA antagonist model for schizophrenia: Promise and pitfalls. *Pharmacopsychiatry*, 31: 104–109, 1998. ISSN 0176-3679. doi: 10.1055/s-2007-979354.
- [2] J. Aru, J. Aru, V. Priesemann, M. Wibral, L. Lana, G. Pipa, W. Singer, and R. Vicente. Untangling cross-frequency coupling in neuroscience. *Current Opinion in Neurobiology*, 31:51–61, Apr. 2015. ISSN 0959-4388. doi: 10.1016/j.conb.2014.08.002.
- [3] N. Axmacher, M. M. Henseler, O. Jensen, I. Weinreich, C. E. Elger, and J. Fell. Cross-frequency coupling supports multi-item working memory in the human hippocampus. *PNAS*, 107(7):3228–3233, 2010. doi: 10.1073/pnas.0911531107.
- [4] F. Bartoli, M. Clerici, and G. Carrà. Antidepressant response and dissociative effects after ketamine treatment: Two sides of the same coin? *J Clin Psychiatry*, 78, 2017. doi: 10.4088/JCP.17lr11789.
- [5] A. Becker, B. Peters, H. Schroeder, T. Mann, G. Huether, and G. Grecksch. Ketamine-induced changes in rat behaviour: A possible animal model of schizophrenia. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 27(4): 687 – 700, 2003. ISSN 0278-5846. doi: 10.1016/S0278-5846(03)00080-0.
- [6] Y. Benjamini and Y. Hochberg. Controlling the false discovery rate: A practical and powerful approach to multiple testing. *Journal of the Royal Statistical Society: Series B (Methodological)*, 57(1):289–300, 1995. doi: 10.1111/j.2517-6161.1995.tb02031.x.
- [7] J. I. Berman, S. Liu, L. Bloy, L. Blaskey, T. P. Roberts, and J. C. Edgar. Alpha-to-Gamma phase-amplitude coupling methods and application to Autism Spectrum Disorder. *Brain Connectivity*, 5(2):80–90, Mar. 2015. ISSN 2158-0014, 2158-0022. doi: 10.1089/brain.2014.0242.
- [8] A. Bragin, G. Jando, Z. Nadasdy, J. Hetke, K. Wise, and G. Buzsáki. Gamma (40–100 Hz) oscillation in the hippocampus of the behaving rat. *Journal of Neuroscience*, 15(1):47–60, 1995. ISSN 0270-6474. doi: 10.1523/JNEUROSCI.15-01-00047.1995.

- [9] V. Braitenberg and A. Schüz. *Cortex: Statistics and Geometry of Neuronal Connectivity*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1998.
- [10] G. Buzsáki and A. Draguhn. Neuronal oscillations in cortical networks. *Science*, 304(5679):1926–1929, June 2004. ISSN 0036-8075, 1095-9203. doi: 10.1126/science.1099745.
- [11] G. Buzsáki, C. Geisler, D. A. Henze, and X.-J. Wang. Interneuron diversity series: Circuit complexity and axon wiring economy of cortical interneurons. *Trends in Neurosciences*, 27, 2004. ISSN 0166-2236. doi: 10.1016/j.tins.2004.02.007.
- [12] M. Caiola, A. Devergnas, M. H. Holmes, and T. Wichmann. Empirical analysis of phase-amplitude coupling approaches. *PLoS ONE*, 14(7):e0219264, July 2019. doi: 10.1371/journal.pone.0219264.
- [13] F. V. Caixeta, A. M. Cornélio, R. Scheffer-Teixeira, S. Ribeiro, and A. B. L. Tort. Ketamine alters oscillatory coupling in the hippocampus. *Scientific Reports*, 3(1), Dec. 2013. ISSN 2045-2322. doi: 10.1038/srep02348.
- [14] R. Canolty, E. Edwards, S. S. Dalal, M. Soltani, S. S. Nagarajan, H. E. Kirsch, M. S. Berger, N. M. Barbaro, and R. T. Knight. High gamma power is phase-locked to theta oscillations in human neocortex. *Science (New York, N.Y.)*, 313(5793):1626–1628, 2006. doi: 10.1126/science.1128115.
- [15] R. T. Canolty and R. T. Knight. The functional role of cross-frequency coupling. *Trends in Cognitive Sciences*, 14(11):506–515, Nov. 2010. ISSN 1364-6613. doi: 10.1016/j.tics.2010.09.001.
- [16] L. H. Conti, D. S. Segal, and R. Kuczenski. Maintenance of amphetamine-induced stereotypy and locomotion requires ongoing dopamine receptor activation. *Psychopharmacology*, 130, 1997. ISSN 1432-2072. doi: 10.1007/s002130050227.
- [17] I. Cordon, M. J. Nicolás, S. Arrieta, E. Lopetegui, J. López-Azcárate, M. Alegre, J. Artieda, and M. Valencia. Coupling in the cortico-basal ganglia circuit is aberrant in the ketamine model of schizophrenia. *European Neuropsychopharmacology*, 25(8):1375–1387, Aug. 2015. ISSN 0924977X. doi: 10.1016/j.euroneuro.2015.04.004.
- [18] M. Cowles and C. Davis. On the origins of the .05 level of statistical significance. *American Psychologist*, 37(5):553–558, 1982. doi: 10.1037/0003-066X.37.5.553.
- [19] I. Creese, D. R. Burt, and S. H. Snyder. Dopamine receptor binding predicts clinical and pharmacological potencies of antischizophrenic drugs. *Science*, 192(4238):481–483, 1976. ISSN 0036-8075. doi: 10.1126/science.3854.
- [20] J. Csicsvari, B. Jamieson, K. D. Wise, and G. Buzsáki. Mechanisms of gamma oscillations in the hippocampus of the behaving rat. *Neuron*, 37, 2003. ISSN 0896-6273. doi: 10.1016/S0896-6273(02)01169-8.
- [21] C. de Hemptinne, E. S. Ryapolova-Webb, E. L. Air, P. A. Garcia, K. J. Miller, J. G.

- Ojemann, J. L. Ostrem, N. B. Galifianakis, and P. A. Starr. Exaggerated phase-amplitude coupling in the primary motor cortex in Parkinson disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(12):4780–4785, Mar. 2013. ISSN 0027-8424, 1091-6490. doi: 10.1073/pnas.1214546110.
- [22] T. Demiralp, Z. Bayraktaroglu, D. Lenz, S. Junge, N. A. Busch, B. Maess, M. Ergen, and C. S. Herrmann. Gamma amplitudes are coupled to theta phase in human EEG during visual perception. *International Journal of Psychophysiology*, 64(1):24–30, 2007. doi: 10.1016/j.ijpsycho.2006.07.005.
- [23] I. Fukunaga, M. Berning, M. Kollo, A. Schmaltz, and A. T. Schaefer. Two distinct channels of olfactory bulb output. *Neuron*, 75(2):320 – 329, 2012. ISSN 0896-6273. doi: <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2012.05.017>.
- [24] E. M. Gerber, B. Sadeh, A. Ward, R. T. Knight, and L. Y. Deouell. Non-sinusoidal activity can produce cross-frequency coupling in cortical signals in the absence of functional interaction between neural sources. *PLOS ONE*, 11(12):e0167351, Dec. 2016. ISSN 1932-6203. doi: 10.1371/journal.pone.0167351.
- [25] P. Goupillaud, A. Grossmann, and J. Morlet. Cycle-octave and related transforms in seismic signal analysis. *Geoexploration*, 23(1):85–102, 1984. ISSN 0016-7142. doi: 10.1016/0016-7142(84)90025-5. Seismic Signal Analysis and Discrimination III.
- [26] M. Guirgis, Y. Chinvarun, M. del Campo, P. L. Carlen, and B. L. Bardakjian. Defining regions of interest using cross-frequency coupling in extratemporal lobe epilepsy patients. *Journal of Neural Engineering*, 12(2):026011, mar 2015. doi: 10.1088/1741-2560/12/2/026011.
- [27] B. Händel and T. Haarmeier. Cross-frequency coupling of brain oscillations indicates the success in visual motion discrimination. *NeuroImage*, 45(3):1040–1046, Apr. 2009. ISSN 1053-8119. doi: 10.1016/j.neuroimage.2008.12.013.
- [28] I. H. Hansen, C. Agerskov, L. Arvastson, J. F. Bastlund, H. B. D. Sørensen, and K. F. Herrik. Pharmacoelectroencephalographic responses in the rat differ between active and inactive locomotor states. *European Journal of Neuroscience*, 50(2): 1948–1971, 2019. doi: 10.1111/ejn.14373.
- [29] M. J. Hülsemann, E. Naumann, and B. Rasch. Quantification of phase-amplitude coupling in neuronal oscillations: Comparison of phase-locking value, mean vector length, modulation index, and generalized-linear-modeling-cross-frequency-coupling. *Frontiers in Neuroscience*, 13:573, 2019. ISSN 1662-453X. doi: 10.3389/fnins.2019.00573.
- [30] A. P. Holmes, R. Blair, J. D. Watson, and I. Ford. Nonparametric analysis of static images from functional mapping experiments. *Journal of Cerebral Blood Flow And Metabolism*, 16(1):7–22, Jan 1996. doi: 10.1097/00004647-199601000-00002.

- [31] M. J. Hunt, B. Raynaud, and R. Garcia. Ketamine dose-dependently induces high-frequency oscillations in the nucleus accumbens in freely moving rats. *Biological Psychiatry*, 60(11):1206–1214, Dec. 2006. ISSN 00063223. doi: 10.1016/j.biopsych.2006.01.020.
- [32] M. J. Hunt, M. Falinska, S. Łęski, D. K. Wójcik, and S. Kasicki. Differential effects produced by ketamine on oscillatory activity recorded in the rat hippocampus, dorsal striatum and nucleus accumbens. *Journal of Psychopharmacology*, 25(6): 808–821, 2011. doi: 10.1177/0269881110362126. PMID: 20413405.
- [33] M. J. Hunt, N. J. Kopell, R. D. Traub, and M. A. Whittington. Aberrant network activity in schizophrenia. *Trends in Neurosciences*, 40(6):371 – 382, 2017. ISSN 0166-2236. doi: <https://doi.org/10.1016/j.tins.2017.04.003>.
- [34] M. J. Hunt, N. E. Adams, W. Średniawa, D. K. Wójcik, A. Simon, S. Kasicki, and M. A. Whittington. The olfactory bulb is a source of high-frequency oscillations (130-180 Hz) associated with a subanesthetic dose of ketamine in rodents. *Neuropsychopharmacology*, 44(2):435–442, Jan. 2019. ISSN 0893-133X, 1740-634X. doi: 10.1038/s41386-018-0173-y.
- [35] J. Ito, S. Roy, Y. Liu, Y. Cao, M. Fletcher, L. Lu, J. Boughter, S. Grün, and D. Heck. Whisker barrel cortex delta oscillations and gamma power in the awake mouse are linked to respiration. *Nature Communications*, 5, 2014. ISSN 2041-1723. doi: 10.1038/ncomms4572.
- [36] O. Jensen and L. L. Colgin. Cross-frequency coupling between neuronal oscillations. *Trends in Cognitive Sciences*, 11, 2007. ISSN 1364-6613. doi: 10.1016/j.tics.2007.05.003.
- [37] V. Jirsa and V. Müller. Cross-frequency coupling in real and virtual brain networks. *Frontiers in Computational Neuroscience*, 7:78, 2013. ISSN 1662-5188. doi: 10.3389/fncom.2013.00078.
- [38] G. J. Jurkiewicz, M. J. Hunt, and J. Żygierewicz. Addressing pitfalls in phase-amplitude coupling analysis with an Extended Modulation Index toolbox. *Neuroinformatics*, 2020. ISSN 1559-0089. doi: 10.1007/s12021-020-09487-3.
- [39] L. M. Kay. Circuit oscillations in odor perception and memory. In *Progress in Brain Research*, volume 208, pages 223–251. Elsevier, 2014. ISBN 978-0-444-63350-7. doi: 10.1016/B978-0-444-63350-7.00009-7.
- [40] M. Köster, U. Frieze, B. Schöne, N. Trujillo-Barreto, and T. Gruber. Theta-gamma coupling during episodic retrieval in the human EEG. *Brain research*, 1577:57–68, 2014. doi: 10.1016/j.brainres.2014.06.028.
- [41] E. Koutsoukos, E. Angelopoulos, A. Maillis, G. N. Papadimitriou, and C. Stefanis. Indication of increased phase coupling between theta and gamma EEG rhythms

- associated with the experience of auditory verbal hallucinations. *Neuroscience Letters*, 534:242–245, Feb. 2013. ISSN 03043940. doi: 10.1016/j.neulet.2012.12.005.
- [42] M. A. Kramer, A. B. L. Tort, and N. J. Kopell. Sharp edge artifacts and spurious coupling in EEG frequency comodulation measures. *Journal of Neuroscience Methods*, 170(2):352–357, May 2008. ISSN 0165-0270. doi: 10.1016/j.jneumeth.2008.01.020.
- [43] T. J. La Vaque. The history of EEG hans berger. *Journal of Neurotherapy*, 3, 1999. doi: 10.1300/J184v03n02'01.
- [44] G. L. Larkin and A. L. Beautrais. A preliminary naturalistic study of low-dose ketamine for depression and suicide ideation in the emergency department. *The international journal of neuropsychopharmacology*, 20:611, 2017. doi: 10.1093/ijnp/pyx035.
- [45] Y. Li, D. Cao, L. Wei, Y. Tang, and J. Wang. Abnormal functional connectivity of eeg gamma band in patients with depression during emotional face processing. *Clinical Neurophysiology*, 126(11):2078 – 2089, 2015. ISSN 1388-2457. doi: <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2014.12.026>.
- [46] J. Lisman. The theta/gamma discrete phase code occuring during the hippocampal phase precession may be a more general brain coding scheme. *Hippocampus*, 15(7): 913–922, 2005. ISSN 1098-1063. doi: 10.1002/hipo.20121.
- [47] J. E. Lisman and M. A. Idiart. Storage of 7 ± 2 short-term memories in oscillatory subcycles. *Science*, 267(5203):1512–15, 1995. doi: 10.1126/science.7878473.
- [48] D. A. Luckenbaugh, M. J. Niciu, D. F. Ionescu, N. M. Nolan, E. M. Richards, N. E. Brutsche, S. Guevara, and C. A. Zarate. Do the dissociative side effects of ketamine mediate its antidepressant effects? *Journal of Affective Disorders*, 159:56 – 61, 2014. ISSN 0165-0327. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jad.2014.02.017>.
- [49] H. Manabe and K. Mori. Sniff rhythm-paced fast and slow gamma-oscillations in the olfactory bulb: relation to tufted and mitral cells and behavioral states. *Journal of Neurophysiology*, 110(7):1593–1599, 2013. doi: 10.1152/jn.00379.2013. PMID: 23864376.
- [50] R. S. Mansbach. Effects of nmda receptor ligands on sensorimotor gating in the rat. *European Journal of Pharmacology*, 202(1):61 – 66, 1991. ISSN 0014-2999. doi: 10.1016/0014-2999(91)90253-M.
- [51] H. K. M. Meeren, J. P. M. Pijn, E. L. J. M. Van Luijtelaar, A. M. L. Coenen, and F. H. Lopes da Silva. Cortical Focus Drives Widespread Corticothalamic Networks during Spontaneous Absence Seizures in Rats. *The Journal of Neuroscience*, 22(4):1480–1495, Feb. 2002. ISSN 0270-6474, 1529-2401. doi: 10.1523/JNEUROSCI.22-04-01480.2002.
- [52] A. H. Moberly, M. Schreck, J. P. Bhattarai, L. S. Zweifel, W. Luo, and M. Ma. Olfactory inputs modulate respiration-related rhythmic activity in the prefrontal

- cortex and freezing behavior. *Nature Communications*, 9, 2018. ISSN 2041-1723. doi: 10.1038/s41467-018-03988-1.
- [53] J. D. Moore, M. Deschênes, T. Furuta, D. Huber, M. C. Smear, M. Demers, and D. Kleinfeld. Hierarchy of orofacial rhythms revealed through whisking and breathing. *Nature*, 497, 2013. ISSN 1476-4687. doi: 10.1038/nature12076.
- [54] F. Mormann, J. Fell, N. Axmacher, B. Weber, K. Lehnertz, C. E. Elger, and G. Fernández. Phase/amplitude reset and theta-gamma interaction in the human medial temporal lobe during a continuous word recognition memory task. *Hippocampus*, 15(7):890–900, 2005. ISSN 1050-9631. doi: 10.1002/hipo.20117.
- [55] T. T. Munia and S. Aviyente. Time-frequency based phase-amplitude coupling measure for neuronal oscillations. *Scientific Reports*, 9(12441), Aug. 2019. doi: 10.1038/s41598-019-48870-2.
- [56] A. Nakhnikian, S. Ito, L. L. Dwiell, L. M. Grasse, G. V. Rebec, L. N. Lauridsen, and J. M. Beggs. A novel cross-frequency coupling detection method using the generalized Morse wavelets. *Journal of Neuroscience Methods*, 269:61–73, Aug. 2016. ISSN 0165-0270. doi: 10.1016/j.jneumeth.2016.04.019.
- [57] E. Niedermeyer and F. Lopes da Silva. *Electroencephalography: Basic Principles, Clinical Applications, and Related Fields*. Lippincott Williams & Wilkins, 2005.
- [58] A. C. E. Onslow, R. Bogacz, and M. W. Jones. Quantifying phase–amplitude coupling in neuronal network oscillations. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, 105(1):49–57, Mar. 2011. ISSN 0079-6107. doi: 10.1016/j.pbiomolbio.2010.09.007.
- [59] T. E. Özkurt and A. Schnitzler. A critical note on the definition of phase–amplitude cross-frequency coupling. *Journal of Neuroscience Methods*, 201(2):438–443, Oct. 2011. ISSN 01650270. doi: 10.1016/j.jneumeth.2011.08.014.
- [60] W. D. Penny, E. Düzel, K. J. Miller, and O. J. G. Testing for nested oscillation. *Journal of Neuroscience Methods*, 174:50–61, June 2008. doi: 10.1016/j.jneumeth.2008.06.035.
- [61] S. J. Peroutka and S. H. Snyder. Relationship of neuroleptic drug effects at brain dopamine, serotonin, alpha-adrenergic, and histamine receptors to clinical potency. *American Journal of Psychiatry*, 137(12):1518–1522, 1980. doi: 10.1176/ajp.137.12.1518.
- [62] K. G. Phillips, M. C. Cotel, A. P. McCarthy, D. M. Edgar, M. Tricklebank, M. J. O’Neill, M. W. Jones, and K. A. Wafford. Differential effects of nmda antagonists on high frequency and gamma eeg oscillations in a neurodevelopmental model of schizophrenia. *Neuropharmacology*, 62(3):1359 – 1370, 2012. ISSN 0028-3908. doi: <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2011.04.006>. Schizophrenia.
- [63] J. P. M. Pijn, D. N. Velis, M. J. van der Heyden, J. DeGoede, C. W. M. van Veelen,

- and F. H. Lopes da Silva. Nonlinear dynamics of epileptic seizures on basis of intracranial eeg recordings. *Brain Topography*, 9:249–270, 1997. ISSN 1573-6792. doi: 10.1007/BF01464480.
- [64] B. Pittman-Polletta, K. Hu, and B. Kocsis. Subunit-specific NMDAR antagonism dissociates schizophrenia subtype-relevant oscillopathies associated with frontal hypofunction and hippocampal hyperfunction. *Scientific Reports*, 8(1), Dec. 2018. ISSN 2045-2322. doi: 10.1038/s41598-018-29331-8.
- [65] D. Rojas-Líbano, D. E. Frederick, J. I. Egaña, and L. M. Kay. The olfactory bulb theta rhythm follows all frequencies of diaphragmatic respiration in the freely behaving rat. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 8:214, 2014. ISSN 1662-5153. doi: 10.3389/fnbeh.2014.00214.
- [66] S. Samiee and S. Baillet. Time-resolved phase-amplitude coupling in neural oscillations. *NeuroImage*, 159:270–279, Oct. 2017. ISSN 1053-8119. doi: 10.1016/j.neuroimage.2017.07.051.
- [67] S. Samiee, M. Lévesque, M. Avoli, and S. Baillet. Phase-amplitude coupling and epileptogenesis in an animal model of mesial temporal lobe epilepsy. *Neurobiology of Disease*, 114:111 – 119, 2018. ISSN 0969-9961. doi: <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2018.02.008>.
- [68] C. E. Schroeder and P. Lakatos. Low-frequency neuronal oscillations as instruments of sensory selection. *Trends in neurosciences*, 32(1), Jan. 2009. ISSN 0166-2236. doi: 10.1016/j.tins.2008.09.012.
- [69] P. Seeman, T. Lee, M. Chau-Wong, and K. Wong. Antipsychotic drug doses and neuroleptic/dopamine receptors. *Nature*, 261, 1976. ISSN 1476-4687. doi: 10.1038/261717a0.
- [70] H. Soulat, E. P. Stephen, A. M. Beck, and P. L. Purdon. State space methods for phase amplitude coupling analysis. *bioRxiv*, 2019. doi: 10.1101/772145.
- [71] M. Steriade. Impact of network activities on neuronal properties in corticothalamic systems. *Journal of Neurophysiology*, 86(1):1–39, 2001. doi: 10.1152/jn.2001.86.1.1.
- [72] A. B. Tort, M. A. Kramer, C. Thorn, D. J. Gibson, Y. Kubota, A. M. Graybiel, and N. J. Kopell. Dynamic cross-frequency couplings of local field potential oscillations in rat striatum and hippocampus during performance of a T-maze task. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(51):20517–22, 2008. doi: 10.1073/pnas.0810524105.
- [73] A. B. L. Tort, R. W. Komorowski, J. R. Manns, N. J. Kopell, and H. Eichenbaum. Theta-gamma coupling increases during the learning of item-context associations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(49):20942–20947, Dec. 2009. ISSN 0027-8424. doi: 10.1073/pnas.0911331106.

- [74] A. B. L. Tort, R. Komorowski, H. Eichenbaum, and N. Kopell. Measuring phase-amplitude coupling between neuronal oscillations of different frequencies. *Journal of Neurophysiology*, 104(2):1195–1210, May 2010. ISSN 0022-3077. doi: 10.1152/jn.00106.2010.
- [75] P. J. Uhlhaas and W. Singer. Abnormal neural oscillations and synchrony in schizophrenia. *Nature Reviews Neuroscience*, 11:100–113, 2010. ISSN 1471-0048. doi: 10.1038/nrn2774.
- [76] J. van Driel, R. Cox, and M. X. Cohen. Phase-clustering bias in phase-amplitude cross-frequency coupling and its removal. *Journal of Neuroscience Methods*, 254: 60–72, Oct. 2015. ISSN 0165-0270. doi: 10.1016/j.jneumeth.2015.07.014.
- [77] O. M. Velarde, E. Urdapilleta, G. Mato, and D. Dellavale. Bifurcation structure determines different phase-amplitude coupling patterns in the activity of biologically plausible neural networks. *NeuroImage*, 202(116031), July 2019. doi: 10.1016/j.neuroimage.2019.116031.
- [78] A. von Stein and J. Sarnthein. Different frequencies for different scales of cortical integration: from local gamma to long range alpha/theta synchronization. *International Journal of Psychophysiology*, 38(3):301–313, Dec. 2000. ISSN 0167-8760. doi: 10.1016/S0167-8760(00)00172-0.
- [79] B. Voytek, M. D’Esposito, N. Crone, and R. T. Knight. A method for event-related phase/amplitude coupling. *NeuroImage*, 64:416–424, Jan. 2013. ISSN 1053-8119. doi: 10.1016/j.neuroimage.2012.09.023.
- [80] M. Wacker and H. Witte. Time-frequency techniques in biomedical signal analysis. *Methods Inf Med*, 52:279–296, may 2013. doi: 10.3414/ME12-01-0083.
- [81] X.-J. Wang. Neurophysiological and computational principles of cortical rhythms in cognition. *Physiological Reviews*, 90(3):1195–1268, July 2010. ISSN 0031-9333. doi: 10.1152/physrev.00035.2008.
- [82] J. Wróbel, W. Średniawa, G. Bernatowicz, J. Zygierewicz, D. K. Wójcik, M. A. Whittington, and M. J. Hunt. Nasal respiration is necessary for the emergence of ketamine-induced high frequency network oscillations and behavioral hyperactivity in freely moving rats. *bioRxiv*, 2020. doi: 10.1101/2020.07.22.213850.
- [83] T. Ye, M. J. Bartlett, M. B. Schmit, S. J. Sherman, T. Falk, and S. L. Cowen. Ten-hour exposure to low-dose ketamine enhances corticostriatal cross-frequency coupling and hippocampal broad-band gamma oscillations. *Frontiers in Neural Circuits*, 12, August 2018. ISSN 1662-5110. doi: 10.3389/fncir.2018.00061.
- [84] X. Zhang, W. Zhong, J. Brankač, S. W. Weyer, U. C. Müller, A. B. L. Tort, and A. Draguhn. Impaired theta-gamma coupling in APP-deficient mice. *Scientific Reports*, 6(1), Apr. 2016. ISSN 2045-2322. doi: 10.1038/srep21948.