

Uniwersytet Warszawski
Wydział Fizyki

Agnieszka Porowska

Nr albumu: 323371

**Analiza zmian w sygnale LFP
związanych z treningiem
wzrokowym i stymulacją
elektryczną w strukturach układu
wzrokowego szczura.**

Praca licencjacka
na kierunku ZASTOSOWANIA FIZYKI W BIOLOGII I MEDYCYNIE
SPECJALNOŚĆ NEUROINFORMATYKA

Praca wykonana pod kierunkiem
dra hab. Jarosława Żygierewicza
Zakład Fizyki
Instytut Fizyki Doświadczalnej
Wydział Fizyki
Uniwersytet Warszawski
oraz
prof. dr hab. Wioletty Waleszczyk
Pracownia Neurobiologii Widzenia
Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN

Czerwiec 2015

Oświadczenie kierującego pracą

Potwierdzam, że niniejsza praca została przygotowana pod moim kierunkiem i kwalifikuje się do przedstawienia jej w postępowaniu o nadanie tytułu zawodowego.

Data

Podpis kierującego pracą

Oświadczenie autora (autorów) pracy

Świadom 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 zawodowego w wyższej uczelni.

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

Data

Podpis autora (autorów) pracy

Streszczenie

W pracy wykorzystano dane pochodzące z eksperymentów na szczurach w dwóch paradygmatach. Dla obu warunków doświadczalnych zarejestrowano sygnał kontrolny, czyli odpowiedź układu wzrokowego na bodziec świetlny. Następnie jedną grupę szczurów od razu poddano treningowi wzrokowemu, i zbierano sygnał po 1 godzinie, 2 i 3 od początku treningu. W drugiej grupie również rejestrowano efekt treningu wzrokowego w tych samych odstępach czasowych, jednak zanim przystąpiono do treningu przez 1 min stymulowano oko sygnałem elektrycznym prostokątnym o częstotliwości 20 Hz i amplitudzie (peak-to-peak) 200 μ A. Elektrody zostały umieszczone bezpośrednio w mózgu szczura w strukturach układu wzrokowego. W pracy wykorzystano po 13 elektrod wybranych na podstawie kształtu odpowiedzi na bodziec. Sygnały filtrowano filtrem Butterwortha oraz filtrem notch (pasmowozaporowym). Do analizy wykorzystano non-normalized Direct Transfer Function (nDTF). Istotność statystyczną na poziomie 95 procent sprawdzono za pomocą bootstrapu.

Słowa kluczowe

analiza sygnałów, potencjał wywołany, kora wzrokowa, układ wzrokowy, Direct Transfer Function, nDTF

Dziedzina pracy (kody wg programu Socrates-Erasmus)

13.2 Fizyka

Tytuł pracy w języku angielskim

Analysis of changes in LFP signal related to visual training and electric stimulation in rat visual system structures.

Spis treści

Cel pracy	5
1. Wprowadzenie	7
1.1. Wstęp	7
1.2. Budowa układu wzrokowego	8
1.3. Lokalne potencjały polowe	9
1.4. Trening wzrokowy	9
1.5. Stymulacja elektryczna	10
2. Pochodzenie danych doświadczalnych	11
2.1. Dane doświadczalne	11
2.2. Procedury eksperymentu	11
2.2.1. Eksperyment A	11
2.2.2. Eksperyment B	12
2.3. Przygotowanie danych do analizy	12
3. Metodologia	15
3.1. Uśrednianie potencjałów wywołanych	15
3.2. Wielokanałowy model autoregresyjny	16
3.3. Połączenia funkcjonalne	16
3.4. Statystyka	16
4. Wyniki	17
4.1. Uśrednianie EP	17
4.2. Analiza widmowa	17
4.3. Połączenia funkcjonalne	17
5. Dyskusja	19

Cel pracy

Celem pracy było porównanie odpowiedzi na bodziec wzrokowy poprzedzony treningiem wzrokowym i stymulacją elektryczną.

Rozdział 1

Wprowadzenie

1.1. Wstęp

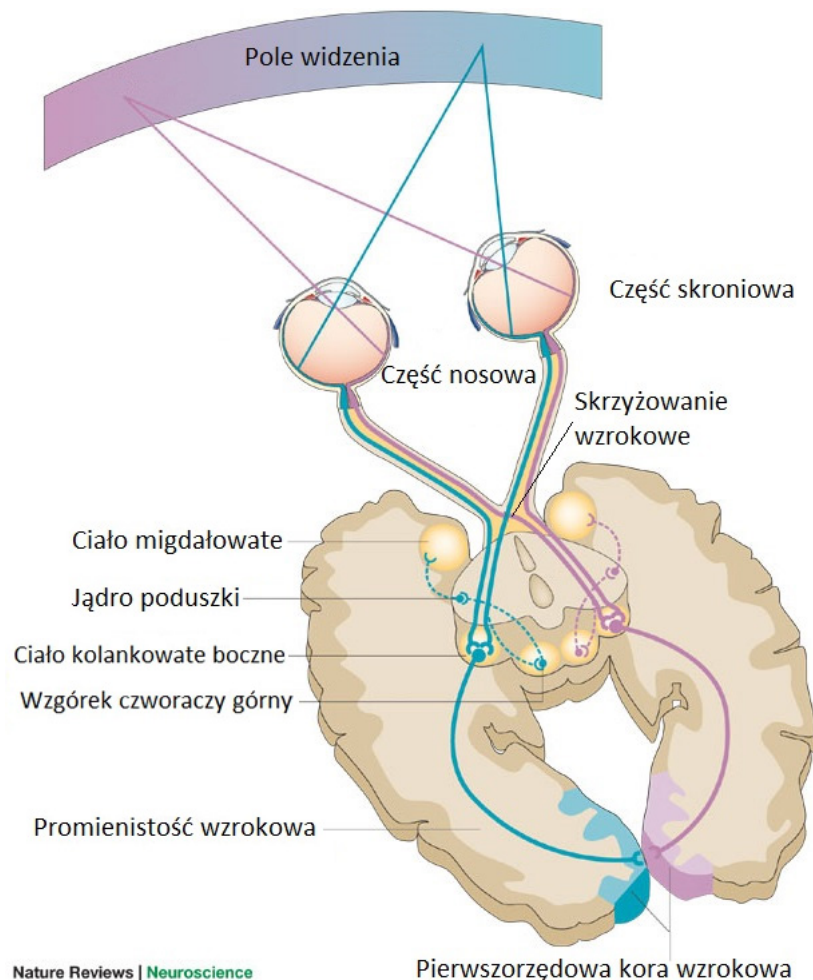
Odkrycie aktywności elektrycznej w mózgu przypisuje się Richardowi Catonowi i Adolfowi Beckowi, którzy niezależnie od siebie rejestrowali zmiany potencjału elektrycznego bezpośrednio z mózgu zwierząt. Skutkiem tych doświadczeń było odkrycie najpierw elektokortykogramu (ECoG) a następnie elektroencefalogramu (EEG). Za twórcę nieinwazyjnej metody rejestrowania sygnału z powierzchni skóry uznaje się Hansa Bergera (Coenen and Zayachkivska, 2013). Dalsze doświadczenia pozwoliły na sformułowanie wniosku, iż w spontanicznej aktywności mózgu można wyróżnić pasma o określonej częstotliwości i amplitudzie, które mają różne właściwości. Do najważniejszych zaliczają się:

- pasmo delta – 0 - 4 Hz
- pasmo theta – 4 - 7 Hz
- pasmo alfa 8 - 13 Hz
- pasmo beta 15 - 30 Hz
- pasmo gamma >30 Hz. (Schomer and Lopes da Silva, 2010)

Już pod koniec lat 40 ubiegłego wieku zauważono, że w wyniku prezentacji bodźca w zapisie EEG pojawia się słabo widoczna odpowiedź na ten bodziec. Pionierem badań w tym zakresie był G.D. Dawson który zarejestrował odpowiedzi na bodziec na kilku kliszach fotograficznych i po nałożeniu ich na siebie dostrzegł wzmocnienie odpowiedzi. Uśredniony sygnał z kilku realizacji zsynchronizowanych względem bodźca nazywa się potencjałem wywołanym EP (z *ang. evoked potentials*) (Schomer and Lopes da Silva, 2010). Amplituda potencjału jest różna dla każdego organizmu a także badanej struktury. Jednakże wielokrotne powtarzanie serii jednakowych bodźców, zwane po prostu treningiem wzrokowym, powoduje jej wzmocnienie (Hager and Dringenberg, 2010). To wzmocnienie jest zauważalne jako zwiększenie amplitudy odpowiedzi na bodziec. Jednocześnie obserwuje się polepszenie funkcji wzrokowych za pomocą nieinwazyjnego stymulowania mózgu prądem o niskiej amplitudzie (Schulz et al., 2013). W mojej pracy sprawdzę, czy dodatkowa stymulacja prądem przed treningiem wzrokowym wpłynie na zwiększenie odpowiedzi na bodziec.

1.2. Budowa układu wzrokowego

Na Rysunku 1.1 przedstawiono schemat organizacji układu wzrokowego. Informacja wzrokowa z siatkówki dociera do kory wzrokowej dwiema równoległymi drogami. Obie zaczynają się na siatkówce, gdzie bodźce świetlne odbierane przez fotoreceptory, są przetwarzane przez szereg komórek nerwowych i w postaci zmian potencjału są przekazywane do nerwu wzrokowego. Tu drogi się rozdzielają. Pierwsza z nich, zwana kolankowatą drogą wzrokową, prowadzi przez część grzbietową jądra kolankowatego bocznego (*ang. dorsal lateral geniculate nucleus, dLGN*) do pierwszorzędowej kory wzrokowej (V1), a stamtąd do pól korowych wyższych rzędów. Druga droga, zwana pozakolankowatą drogą wzrokową, wiedzie przez wzgórek czworaczy górny przez kompleks jądra tylnego-bocznego poduszki i dociera, podobnie jak pierwsza jak w poprzednim przypadku do pierwszorzędowej kory wzrokowej i dalej do pól korowych wyższych rzędów. (Waleszczyk et al., 2004).



Rysunek 1.1: Schemat układu wzrokowego (Hannula et al., 2005).

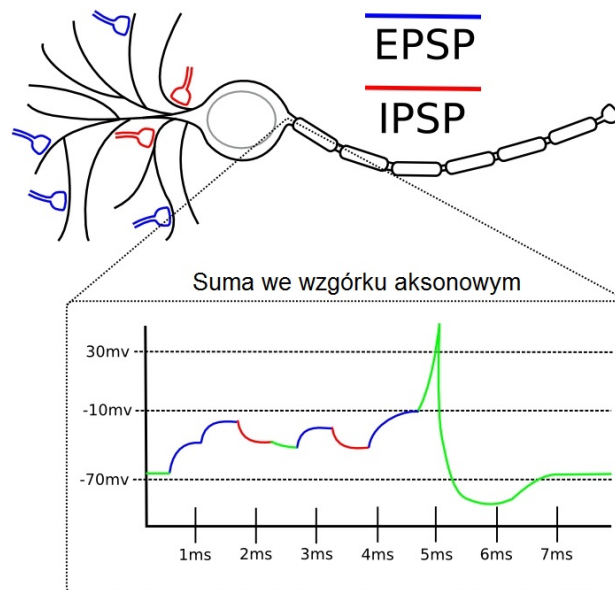
1.3. Lokalne potencjały polowe

Sygnał rejestrowany bezpośrednio z kory i warstw podkorowych nazywany jest elektrokorykogramem. Jest to metoda inwazyjna i tylko w wyjątkowych okolicznościach przeprowadza się ją na ludziach. Jest znacznie dokładniejsza od EEG dzięki temu, że elektrody umieszczone są tuż obok neuronów – zbiera się w ten sposób zapis aktywności mózgu z niewielkiego obszaru. Zapis ten zwany jest lokalnymi potencjałami polowymi (ang. *Local Field Potentials*). W odróżnieniu od sygnału z powierzchni głowy, w LFP rejestruje się nie tylko potencjał postsynaptyczny (Rysunek 1.2), ale także czynnościowy (Rysunek 1.3).

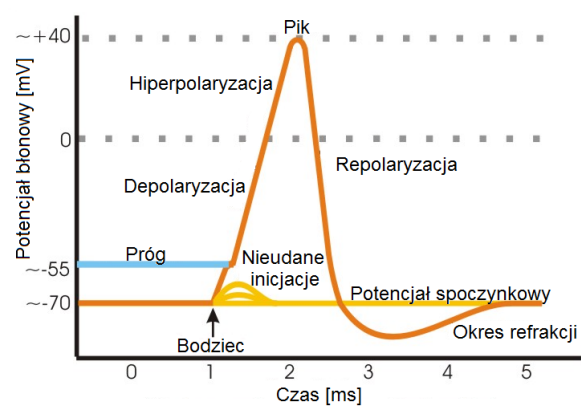
Potencjały postsynaptyczne są to potencjały docierające do dendrytu komórki nerwowej. Występują dwa rodzaje:

- potencjały pobudzające EPSP (z ang. *Excitatory Post-Synaptic Potentials*)
- potencjały hamujące IPSP (z ang. *Inhibitory Post-Synaptic Potentials*)

Pierwsze z nich zwiększają szansę na wywołanie potencjału czynnościowego, a drugie tę szansę zmniejszają. Do neuronu dociera równocześnie wiele potencjałów. W chwili, gdy ich suma przekroczy pewną wartość graniczną, neuron zostaje pobudzony. Generuje potencjał czynnościowy, który propaguje się wzdłuż aksonu.



Rysunek 1.2: Schemat potencjałów postsynaptycznych.



Rysunek 1.3: Bla.

1.4. Trening wzrokowy

?

1.5. Stymulacja elektryczna

?

Rozdział 2

Pochodzenie danych doświadczalnych

2.1. Dane doświadczalne

Dane wykorzystane w niniejszej pracy pochodzą z eksperymentów przeprowadzonych w Pracowni Neurobiologii Widzenia Instytutu Biologii Doświadczalnej PAN im. Marcelego Nenckiego w Warszawie. Zostały zebrane przez zespół doświadczalny składający się z dra Andrzeja Foika i mgr inż. Katarzyny Żeber w okresie od września do grudnia 2014 r.

W każdym doświadczeniu wykorzystano ok. 20 szczurów z gatunku Wistar, z których do analizy wybrano po 2 (łącznie 4). Szczury zostały znieczulone dootrzewnowym zastrzykiem z uretanu (2 ml/kg). W mózgu każdego ze zwierząt umieszczono 4 elektrody:

- 1 po stronie ipsilateralnej względem bodźca – w korze wzrokowej (*CxI*)
- 3 po stronie kontralateralnej względem bodźca:
 - w korze wzrokowej (*CxC*)
 - we wzgórku czworaczym górnym (*SC*)
 - w jądrze kolankowatym bocznym (*LGN*)

Na każdej elektrodzie znajdowało się od 7 do 16 kontaktów.

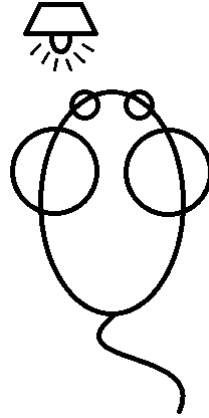
2.2. Procedury eksperymentu

Zastosowano dwie różne procedury eksperymentalne opisane poniżej.

2.2.1. Eksperyment A

Co 15 minut prezentowano serię bodźców w postaci błyskającego światła, który umieszczono blisko jednego oka (Rysunek 2.1). Jako próbę kontrolną przyjęto pierwszą rejestrację, zakładając, że jest to odpowiedź nieprzystawiona do stymulacji. Błysk trwał 2 ms i pojawiał się

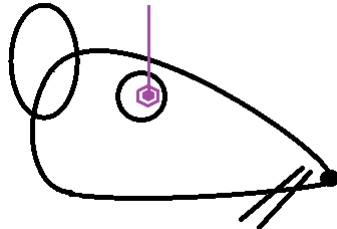
z różną częstotliwością (przerwy trwały od 2 do 2,13 s) 300 razy. Sygnał zbierano co godzinę.



Rysunek 2.1: Schemat eksperymentu A.

2.2.2. Eksperyment B

Czterokrotnie przez pół sekundy stymulowano lewe oko prądem elektrycznym za pomocą niewielkiej elektrody umieszczonej na gałce ocznej (Rysunek 2.2). Amplituda prądu wynosiła 2 mA, a częstotliwość 100 Hz. Następnie stymulowano to samo oko bodźcem świetlnym w seriach po 200 błysków (takich jak w eksperymencie A) i co godzinę rejestrowano odpowiedź.



Rysunek 2.2: Schemat stymulacji elektrycznej przeprowadzanej podczas eksperymentu B.

2.3. Przygotowanie danych do analizy

Sygnał został zarejestrowany z częstotliwością 20 kHz, odfiltrowany pasmowo-przepustowo w przedziale 0.3-10 kHz oraz wzmocniony 500-krotnie przy użyciu wzmacniacza różnicowego prądu zmiennego firmy A-M SystemsTM (<https://www.a-msystems.com/>).

Uznano, że tak wysoka częstość próbkowania nie jest potrzebna do dalszej analizy, dlatego zdecydowano się zejść do częstości 250 Hz. W tym celu trzykrotnie na przemian filtrowano sygnał dolnoprzepustowym filtrem Butterwortha (częstości odcięcia: 2 kHz 1,25 kHz i 0,1 kHz) i decymowano (ang. *downsampling*). Kolejnym krokiem było odfiltrowanie artefaktów

pochodzących od napięcia sieciowego (pasmowo-zaporowy filtr Butterwortha w przedziale 49,5-50,5 Hz) i usunięcie niskich częstotliwości (górnoprzepustowy filtr Butterwortha 1 Hz).

Następnie na podstawie momentów wystąpienia bodźca pocięto sygnał na fragmenty od $-0,2$ s do 1 s, gdzie punktem 0 było wystąpienie błysku światła.

Do analizy wykorzystano filtry Butterwortha ze względu na to, że tylko w niewielkim stopniu zniekształcają sygnał. Odbywa się to jednak kosztem niższej skuteczności filtracji.

Rozdział 3

Metodologia

3.1. Uśrednianie potencjałów wywołanych

VEP (z ang. *Visual Evoked Potential*) jest szczególnym przypadkiem potencjałów wywołanych stanu ustalonego, gdzie stymulacja odbywa się za pomocą fali świetlnej. Stymulacją jest seria krótkotrwałych błysków światła powtarzających się w sposób ściśle periodyczny. W założeniu spontaniczna aktywność ECoG jest procesem stochastycznym (niezależnym, stacjonarnym szumem o średniej zero), a odpowiedź mózgu na każdy z kolejnych bodźców jest niezmienna. Wtedy sygnał mierzony w i -tej realizacji możemy wyrazić jako:

$$x_i(t) = s(t) + n_i(t), \quad (3.1)$$

gdzie $s(t)$ jest rzeczywistym sygnałem, a $n_i(t)$ – składową szumu. Po uśrednieniu N realizacji otrzymuje się:

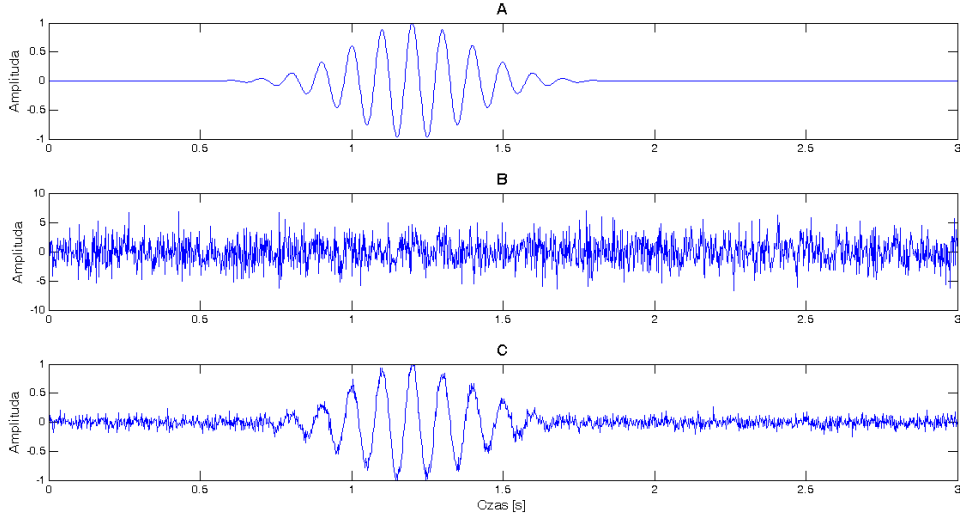
$$\bar{x}(t) = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N x_i(t) = s(t) + \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N n_i(t). \quad (3.2)$$

Dla szumu o średniej zero, wartość oczekiwana wynosi:

$$E \left[\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N n_i(t) \right] = 0, \quad (3.3)$$

z czego wynika, że dla uśrednionego sygnału $E[\bar{x}(t)] = s(t)$.

Na Rysunku 3.1 przedstawiono funkcję gabora przed dodaniem szumu, z nałożonym szumem i sygnał uśredniony. Widać, że na ostatnim wykresie udało się odzyskać pierwotny kształt.



Rysunek 3.1: Na wykresie A narysowano funkcję gabora o częstotliwości 10 Hz, odchyleniu standardowym $\sigma_g = 0.2$ i amplitudzie $A = 1$. Wykres B przedstawia tę samą funkcję co wykres A po dodaniu 30 składowych szumowych z rozkładu normalnego o średniej $m_{sz} = 0$ i odchyleniu standardowym $\sigma_{sz} = 0.4$. Wykres C to 1000 uśrednionych sygnałów z wykresu B.

3.2. Wielokanałowy model autoregresyjny

Sygnały pochodzące z rejestracji aktywności mózgu mogą być opisywane przez model AR (ang. *autoregressive model*). Założeniem tego modelu jest to, że na podstawie p pierwszych próbek można przewidzieć wartość $p + 1$ próbki:

$$x(t) = \sum_{i=1}^p a_i x(t-i) + E(t), \quad (3.4)$$

gdzie a_i jest i -tym współczynnikiem, a $E(t)$ – składową szumową.

Jeśli podczas eksperymentu rejestruje się dane równocześnie z kilku źródeł, można przypuszczać, że są ze sobą związane. Wtedy sygnał z każdego źródła w i -tej chwili czasu traktuje się jak złożenie liniowe p poprzednich próbek wszystkich źródeł:

$$\vec{x}(t) = \sum_{i=1}^p \vec{A}_i \vec{x}(t-i) + \vec{E}(t), \quad (3.5)$$

3.3. Połączenia funkcjonalne

Zaproponowany przez Kamińskiego

3.4. Statystyka

Rozdział 4

Wyniki

4.1. Uśrednianie EP

Przedstawienie uśrednionych potencjałów

4.2. Analiza widmowa

widma

4.3. Połączenia funkcjonalne

dtfy

Rozdział 5

Dyskusja

Odniesienie do biologii połączeń. Ewentualne błędy i sugestie co można poprawić. Kandel
Kandel (2013)

Bibliografia

- Coenen, A., Zayachkivska, O., 2013. Adolf Beck: A pioneer in electroencephalography in between Richard Caton and Hans Berger. *Adv Cogn Psychol* 9 (4), 216–221.
- Hager, A. M., Dringenberg, H. C., Aug 2010. Training-induced plasticity in the visual cortex of adult rats following visual discrimination learning. *Learn. Mem.* 17 (8), 394–401.
- Hannula, D. E., Simons, D. J., Cohen, N. J., Mar 2005. Imaging implicit perception: promise and pitfalls. *Nat. Rev. Neurosci.* 6 (3), 247–255.
- Kandel, E., 2013. *Principles of Neural Science*, 5th Edition. McGraw Hill Professional.
- Schomer, D. L., Lopes da Silva, F., 2010. *Niedermeyer’s Electroencephalography: Basic Principles, Clinical Applications, and Related Fields*, 6th Edition. Lippincott Williams & Wilkins.
- Schulz, R., Gerloff, C., Hummel, F. C., Jan 2013. Non-invasive brain stimulation in neurological diseases. *Neuropharmacology* 64, 579–587.
- Waleszczyk, W. J., Wang, C., Benedek, G., Burke, W., Dreher, B., 2004. Motion sensitivity in cat’s superior colliculus: contribution of different visual processing channels to response properties of collicular neurons. *Acta Neurobiol Exp (Wars)* 64 (2), 209–228.