Про дослідження імпульсації нейронів методами теорії імовірностей і математичної статистики

М. О. Куликов

Група фізіологічної кібернетики Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця Академії наук УРСР, Київ

Тепер, в зв'язку з прогресивним розвитком сучасної фізіології, а також розширенням галузей застосування методів статистичного дослідження в біології, використання методів теорії імовірностей і математичної статистики при аналізі імпульсної активності окремих нейронів посіло важливе місце в дослідженнях процесів передачі та переробки інформації в нервовій системі.

Застосування електронно-обчислювальних машин зробило можливим виявлення та аналіз не тільки якісних особливостей передачі інформації нейронами, а й кількісних характеристик їх активності, що, в свою чергу, дозволяє висувати і перевіряти різні гіпотези про принципи передачі інформації в нейронних сітках.

Мета цієї роботи полягала в короткому описі методів статистичного аналізу імпульсної активності нейронів, які застосовуються і розробляються групою фізіологічної кібернетики Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця АН УРСР у співдружності з відділом нейрофізіології.

Провадились дослідження імпульсної активності окремих нейронів зорової ділянки кори головного мозку кроликів, відведеної за допомогою мікроелектродної техніки [2]. Імпульсація нейронів записувалась на магнітну стрічку і з допомогою сконструйованого в групі фізіологічної кібернетики пристрою для введення фізіологічних характеристик в електронно-обчислювальну машину (ЕОМ), перетворювалась [4], і відстані між імпульсами в двійковому коді вводили в ЕОМ.

На протязі 1962—1964 рр. співробітники групи розробили ряд програм для ЕОМ «Київ» з метою комплексного статистичного аналізу імпульсної активності, при застосуванні яких в результаті обробки підданого аналізу матеріалу на друк видається ряд різних параметрів активності досліджуваних нервових клітин.

Як відомо, тепер найчастіше при аналізі імпульсної активності нейронів застосовуються такі методи статистичної обробки.

1. Складення та аналіз гістограм розподілу довжин інтервалів між імпульсами протягом будь-якого (звичайно, досить тривалого) відтинка часу з метою встановлення середньої тривалості інтервалу та оцінки розсіювання довжин інтервалів. При цьому, звичайно, паралельно провадиться спроба визначення форми розподілення і застосовується ряд тестів для перевірки різних статистичних гіпотез.

2. Складення та аналіз гістограм розподілень кількості імпульсів у певні (як правило, однакові і послідовні) відтинки часу. Така гістограма, звичайно, в деякому розумінні є зворотною гістограмі розподілення довжин інтервалів і дозволяє здійснити дещо інший підхід до аналізу імпульсної активності [1].

При застосуванні обох цих методів дослідник звичайно не виходить за межі методів, застосовуваних при аналізі випадкових величин, відвертаючись від уявлення імпульсної активності у формі випадкового процесу або, в усякому разі, передбачає стаціонарність цього процесу. Звідси обидва описані вище підходи до вивчення імпульсації нейрона дозволяють знайти середню частоту імпульсації та межі її варіабельності, не вивчаючи законів зміни цієї частоти в часі.

Частково заповнюють цю прогалину інші підходи до аналізу імпульсної активності, основані на методах вивчення випадкових процесів. Проте вони, на жаль, досі не дістали широкого визнання в біології і, внаслідок цього, єдиний метод аналізу процесів імпульсної активності ще не створений. До числа найбільш часто використовуваних можна віднести такі методи:

3. Складення та аналіз графіків частоти, на яких відкладають кількість імпульсів в одиницю часу або будь-яку іншу функцію (наприклад, згладжені графіки частоти, графіки «миттьової частоти» і т. ін.). Цей метод дослідження надзвичайно простий, наочний і часто дає можливість одержати дуже цінну інформацію про характер

імпульсної активності, але водночас він незручний для вивчення характеру зв'язку відстаней між окремими імпульсами.

4. Складення різного роду кореляційних і аутокореляційних функцій, які дозволяють виділити в процесі імпульсації певну періодичність або дати вказівки про наявність зв'язку між довжинами окремих інтервалів.

5. Підходи, основані на методах теорії масового обслуговування або на методах теорії регулювання. При їх застосуванні звичайно розглядаються різні гіпотези про будову нервових клітин та очікувані теоретичні розподіли порівнюються з одержуваними в експерименті. Ці шляхи, на нашу думку, найбільш перспективні, але водночас найменш розроблені, тому вони заслуговують на глибоке і старанне вивчення як біологами, так і математиками [7].

Наша група поставила перед собою завдання створити комплекс програм аналізу імпульсної активності, який давав би можливість застосувати більшість описаних методів для аналізу експериментальних записів. Поки що це завдання виконано нами лише частково — у нас є три готові та апробовані на практиці програми і складені алгоритми ще для двох. Цей комплекс з п'яти програм має, на нашу думку, давати основну статистичну інформацію про досліджуваний випадковий процес у формі, зручній для дальшої статистичної обробки.

Перша програма комплексу — складання гістограм розподілу міжімпульсних інтервалів — передбачає аналіз відрізка запису будь-якої тривалості, визначення довжин інтервалів, їх групування і видачу на друк розподілення інтервалів.

Записи, які ми аналізуємо, складаються з ряду однакових зон. Кожна зона має три ділянки — ділянку запису фонової активності, ділянку з реакцією нейрона на включення подразника і ділянку з реакцією на виключення подразника. Описані ділянки мають приблизно однакову довжину.

Отже, на протязі одного досліду ми одержуємо кілька послідовних реакцій нейрона на те саме подразнення, що дозволяє нам знаходити як гістограми кожної ділянки, так і сумарні гістограми відповідних ділянок по кількох зонах.

Точність обчислення визначається частотою генератора лічильних імпульсів і практично може бути скільки завгодно велика. Для записів з повільною імпульсацією (середня довжина інтервалу — 300 *мсек*) ми застосували частоту у 800 *гц*, для записів з більш швидкою імпульсацією (інтервали в середньому становили 15—20 *мсек*) — 1000 *гц*. Відносні похибки в цих випадках відповідно дорівнюють 0,2 і 0,5%.

Шкала групування налічує 70 інтервалів. Від 0 до 60 *мсек* (при середньому рівні імпульсації 3 *імп/сек*) групування здійснюється з інтервалом 2,0 *мсек*; від 60 до 300 *мсек* — з інтервалом 10,0 *мсек* та від 300 до 600 *мсек* — з інтервалом 20 *мсек*. Такий набір інтервалів групування дозволяє досліджувати гістограми в досить широкому інтервалі середніх частот імпульсації і водночас звернути особливу увагу на ділянку коротких інтервалів, де групується максимальна кількість спостережень.

У першому варіанті програми, розробленому нашою групою в 1962 р. [3, 6], була застосована параболічна шкала групувань з перемінним кроком групування. Однак проведені дослідження показали, що такий метод групування хоч до певної міри характеризується більшою наочністю, але в цілому значно менш зручний для наступної статистичної обробки, ніж варіант, який ми застосовуємо тепер.

Досліджуючи ділянки імпульсації, ми звичайно одержували гістограми принаймні з 200—300 спостережень, що давало можливість провадити статистичну обробку методами параметричної статистики. Виходячи з одержаних даних, ми ставили своїм завданням перевірити гіпотези стаціонарності розподілень по ділянках різних зон (із застосуванням методів дисперсійного аналізу [13]), застосовували різні критерії узгодження (Кохрена, Колмогорова—Смирнова, хи-квадрат) для уточнення виду одержаних розподілень, перевірки гіпотез про підпорядкування фонової імпульсації закону експоненціального розподілу і визначення типу відхилень від цього закону при викликаній активності. Відзначимо, що велика кількість шкал гістограми (70) дала нам можливість застосовувати критерій узгодження Колмогорова — Смирнова, без введення додаткової поправки на згрупованість даних.

Зразок одержаної гістограми наведений на рис. 1.

Одночасно з цією програмою виконується і друга програма — визначення так званої «постімпульсної імовірності», тобто визначення імовірності появи імпульсу у момент X після появи попереднього при умові, що він з'являється не раніше, ніж X [10]. Складення графіка щільності розподілу цієї функції дозволяє нам оцінювати графічно ступінь близькості нашого емпіричного розподілу до експоненціального, якого можна було очікувати при умові, що розподіл кількості імпульсів в одиницю часу підкоряється закону розподілення Пуассона. Легко переконатись, що при експоненціальному законі розподілу довжин міжімпульсних інтервалів графік щільності постімпульсної імовірності являє собою пряму лінію, паралельну осі абсцис з висотою, яка відповідає середньому рівню імпульсації нейрона. Однак, в зв'язку з тим, що емпірична гістограма лише приблизно підкоряється експоненціальному закону розподілення, а також внаслідок того, що в міру збільшення довжин між імпульсами вони спостерігаються все рідше, ступінь наближення точок до прямої значно погіршується. Внаслі-

док цього обчислення гістограми постімпульсної імовірності припиняється, коли кількість інтервалів, що лишається до кінця гістограми, стає меншою від 100. Тому гістограма постімпульсної імовірності, як правило, найбільш корисна при підсумуванні спостережень над кількома відповідними ділянками послідовних записів. Гістограма постімпульсної імовірності наведена на рис. 2.

Слід відзначити, що складення гістограм постімпульсної імовірності технічно нескладне, а результат є деяким аналогом критерію узгодження при перевірці експоненціальності розподілення.

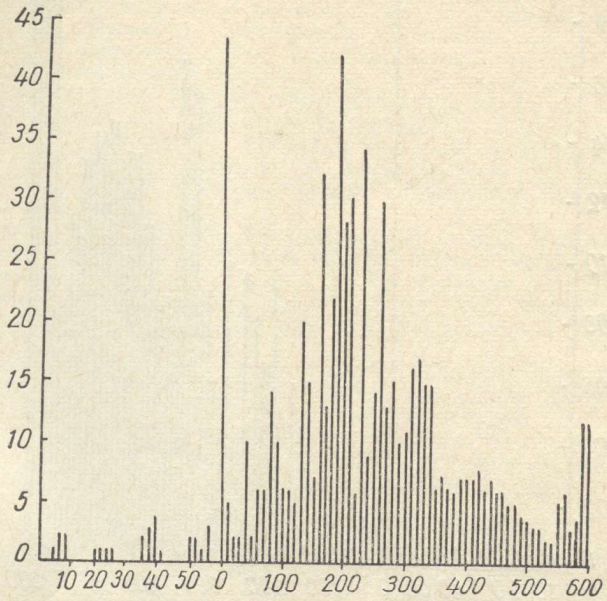

Рис. 1. Гістограма імпульсної активності нейрона зорової ділянки кори головного мозку кролика. По осі абсцис показані довжини міжімпульсних інтервалів в *мсек*; по осі ординат—кількість міжімпульсних інтервалів заданої довжини. Клітини 8*A*. Підраховано 28.V 1966 р. Запис II ділянки II.

Перевагою перевірки експоненціальності за виглядом гістограми постімпульсної імовірності у порівнянні з параметричними методами перевірки є відсутність необхідності обчислення параметрів.

Третьою програмою, складеною нами та успішно застосовуваною в наших дослідженнях, є програма складення графіка частоти. При цьому ми підраховуємо кількість імпульсів нейрона в інтервалі 1000 лічильних імпульсів і згодом перераховуємо на кількість імпульсів в секунду простою зміною масштабу. В програмі передбачена як видача на друк графіка частоти одного запису, так і сумарного нормованого графіка частоти кількох записів. Оскільки графік частоти підраховується для кожної ділянки окремо, то сумарний графік може бути складений навіть при неоднаковій тривалості ділянок запису. Поряд з цим, за бажанням оператора, програмою передбачається згладження одержаного графіка частоти шляхом обчислення ковзної середньої по п'яти сусідніх точках.

Видача на друк згладженого нормованого графіка частоти по кількох зонах дозволяє дослідити не тільки тип первинної відповіді, одержуваної на подразнення, а й характер тривалості післядії нейрона після заподіяння (або припинення) подразнення (див. рис. 3).

Як уже було зазначено, крім цих трьох програм, які ми практично застосовували протягом 1964—1965 рр., ми склали ще два алгоритми, призначені для перевірки стаціонарності розподілення потоку імпульсів у часі і виявлення прихованої періодичності в їх послідовності. Це — алгоритм авто- і кроскореляційного аналізу імпульсних послідовностей. За обома алгоритмами проведені контрольні підрахунки, які показали їх придатність і ефективність при дослідженні імпульсних послідовностей з прихованою періодичністю.

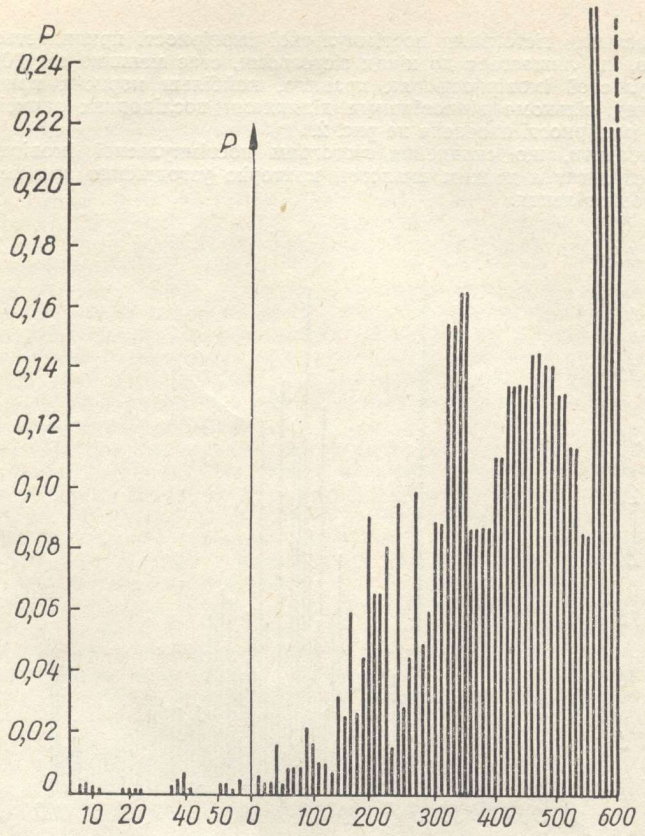

Рис. 2. Гістограма постімпульсної імовірності імпульсної активності нейрона кори головного мозку кролика.

По осі абсцис відкладені довжини міжімпульсних інтервалів в *мсек*; по осі ординат — значення постімпульсної імовірності. Клітини 8*А*. Підраховано 28.V 1966 р. Запис II ділянки II.

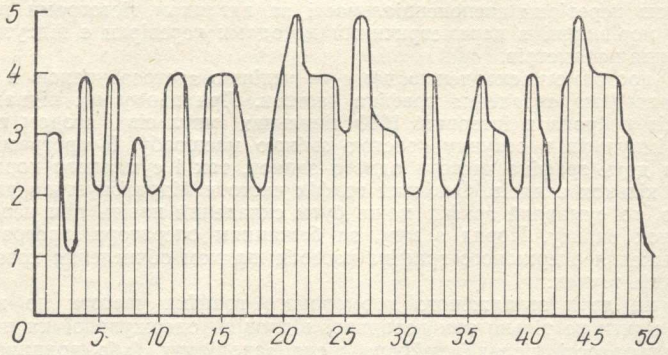

Рис. 3. Графік частоти імпульсної активності нейрона кори головного мозку кролика.

По осі абсцис відкладено час з початку реєстрації частоти; по осі ординат — середня кількість імпульсів в *сек*. Клітини 8*А*. Підраховано 28.V 1966 р. Запис II ділянки II.

Алгоритм обчис
модифікаціях — у ви
і безпосередньо шляхо
Ідея побудови ф
інших [9, 14]. Вона по
які за тривалістю незн
Потім беруть від
лок шкали. Початок ш
у відповідних розряда
інтервалі групування.
пульсом і процес пов
одержаний графік, оде
повідає середній інтен
послідовними максимум
його вираженості. Змін
кості зсувів дає нам м
різних ритмів імпульсно
на добре вивчити одноч
її прихованої періодично
Незалежно від цьо
може бути одержаний як
i та $i+1$ імпульсом, i та
вання при цьому диктує
автокореляційної функції
джуваному відтинку посл
Слід відзначити, що
одержання такої самої к
при обмеженні кількості
ції спостерігається точни
при малих τ, а при вико
циклічної активності ми
в будь-якій точці осі τ.
Отже, обидва ці ме
межі різними шляхами і
значити, що побудова гра
ру реєстрації імпульсації,
нюваної методом сумації
всю нагромаджену інформ
Алгоритм визначення
дослідженні автокореляцій
грам, які визначають відс
льованої послідовності, по
ним за найближчим до нь
ку описувана методика заз
алгоритму «циклічної акти
туючого графіка дещо більш
Нарешті, коротко спи
які досі не дістали в Радя
Для більш детального
пульсними інтервалами час
вчається як кореляція між
30 імпульсів на відносно ст
в часі. Іноді [13] аналіз ста
персійного аналізу. В основ
ються розрахунком лінійних
лізу можна перевірити тіль
них відтинків записів і між
розподілень, то такий мето
сування.
Водночас ясно, що ана
ванням часових параметрів
ношень між досліджуваним
застосовуваного методу, ми
нуємо (і тепер це перевіряєт
цесу імпульсації треба прове
Крускалла—Уелліса [12]. Це
них розподілень і в результа
спостережуваних відмінносте
спостерігаються.

Алгоритм обчислення автокореляційної функції складений нами в двох різних модифікаціях — у вигляді алгоритму визначення так званої «циклічної активності» і безпосередньо шляхом підсумування гістограм.

Ідея побудови функції «циклічної активності» викладена в працях Герштейна та інших [9, 14]. Вона полягає в тому, що вісь часу розбивається на рівні відтинки часу, які за тривалістю незначно перевищують величину абсолютного рефрактерного періоду. Потім беруть відрізок запису імпульсної активності тривалістю в 100—200 поділок шкали. Початок шкали часу сполучають з початковим імпульсом у записі. Потім у відповідних розрядах шкали проставляють кількість імпульсів, що лежать в даному інтервалі групування. Після цього початок шкали часу сполучають з наступним імпульсом і процес повторюють. Багаторазово повторюючи цю операцію і нормуючи одержаний графік, одержуємо «криву циклічної активності», середня лінія якої відповідає середній інтенсивності імпульсації на розглядуваній ділянці, а відстань між послідовними максимумами і вигляд хвиль показують переважаючий ритм і ступінь його вираженості. Зміна кількості розрядів групування та їх ширини, а також кількості зсувів дає нам можливість вивчати з будь-якою бажаною точністю наявність різних ритмів імпульсної активності. За допомогою графіків циклічної активності можна добре вивчити одночасні зміни як середньої інтенсивності імпульсації, так і зміни її прихованої періодичності.

Незалежно від цього графік автокореляційної функції імпульсної послідовності може бути одержаний як сума гістограм, які відбивають розподіл інтервалів часу між i та $i+1$ імпульсом, i та $i+2$ імпульсом, i та $i+3$ імпульсом тощо. Вибір кроку групування при цьому диктується максимальною інтенсивністю роботи нейрона. Значення автокореляційної функції у початковій точці визначається кількістю імпульсів на досліджуваному відтинку послідовності.

Слід відзначити, що обидва ці алгоритми в кінцевому підсумку приводять до одержання такої самої кривої. Проте при проведенні аналізу необхідно зважити, що при обмеженні кількості підсумованих гістограм при побудові автокореляційної функції спостерігається точний збіг одержуваного графіка з автокореляційною функцією при малих τ, а при використанні обмеженої кількості зсувів під час побудови кривої циклічної активності ми наближаємось до справжньої функції автокореляції знизу в будь-якій точці осі τ.

Отже, обидва ці методи в кінцевому підсумку збігаються, але прагнуть до цієї межі різними шляхами і в цьому розумінні не еквівалентні один одному. Слід ще зазначити, що побудова графіка циклічної активності може відбуватися безперервно, в міру реєстрації імпульсації, тим часом як для побудови автокореляційної функції, здійснюваної методом сумації гістограм, необхідно мати в своєму розпорядженні одночасно всю нагромаджену інформацію.

Алгоритм визначення кроскореляційної функції складається майже так, як і при дослідженні автокореляційної функції [9]. Її графік можна собі уявити як суму гістограм, які визначають відстань між найближчими імпульсами з однієї та з іншої корельованої послідовності, потім відстань між імпульсом з однієї послідовності і наступним за найближчим до нього імпульсом з іншої послідовності тощо. І в цьому випадку описувана методика зазнає модифікації, подібної до застосовуваної для одержання алгоритму «циклічної активності», але тоді визначення простої схеми побудови результуючого графіка дещо більш утруднене.

Нарешті, коротко спинимось на кількох методиках аналізу імпульсної активності, які досі не дістали в Радянському Союзі досить широкого застосування.

Для більш детального дослідження взаємовідношень між послідовними міжімпульсними інтервалами часто застосовується кореляційний аналіз [11]. При цьому вивчається як кореляція між послідовними інтервалами на відтинках довжиною в 20—30 імпульсів на відносно стаціонарних ділянках запису, так і зміна коефіцієнта варіації в часі. Іноді [13] аналіз стаціонарності проводиться за допомогою однофакторного дисперсійного аналізу. В основному при проведенні кореляційного аналізу автори обмежуються розрахунком лінійних кореляцій [10]. Оскільки за допомогою дисперсійного аналізу можна перевірити тільки неістотність відмінностей дисперсій всередині порівнюваних відтинків записів і між ними, та й то лише при припущенні нормальності вихідних розподілень, то такий метод дослідження, на нашу думку, має обмежене поле застосування.

Водночас ясно, що аналіз процесу імпульсації клітини має відбуватися з урахуванням часових параметрів і не повинен обмежуватись виявленням лінійних взаємовідношень між досліджуваними інтервалами. Тому, не заперечуючи важливого значення застосовуваного методу, ми вважаємо за доцільне дещо видозмінити його. Ми пропонуємо (і тепер це перевіряється) таку схему дослідження: перевірку стаціонарного процесу імпульсації треба проводити за допомогою тесту рангового дисперсійного аналізу Крускалла—Уелліса [12]. Це дозволяє звільнитись від вимоги нормальності порівнюваних розподілень і в результаті дає можливість зробити висновок про ступінь істотності спостережуваних відмінностей між розподіленнями, не відзначаючи, які саме відмінності спостерігаються.

Далі, обчислення коефіцієнта кореляції, очевидно, не повинно обмежуватись підрахуванням прямолінійної кореляції, оскільки зв'язки між відстанями в імпульсній послідовності, генерованій нейроном, можуть мати не тільки лінійний, а й нелінійний характер, і не підрахуванням кореляційного відношення, яке малоефективне при невеликих групах порівнюваних спостережень, а за допомогою порядкового коефіцієнта Кенделла або Спірмана [5]. Перевага застосування цих коефіцієнтів полягає в тому, що вони виявляють будь-який зв'язок, який полягає в одночасній зміні двох величин незалежно від форми цього зв'язку. Обчислення коефіцієнта Спірмана більш легке, проте коефіцієнт Кенделла дозволяє перейти до визначення частинних коефіцієнтів кореляції, що може бути дуже корисним при дослідженні імпульсації різних ділянок мозку.

На нашу думку, при обчисленні коефіцієнтів кореляції не можна обмежуватись тільки визначенням кореляційної залежності між сусідніми інтервалами, а треба враховувати як корелятивні зв'язки між більш далекими інтервалами, так і між довжинами інтервалу і сумою довжини кількох інтервалів, що передують йому.

В цьому випадку ми можемо описати процес імпульсації нейрона за допомогою марковського ланцюга з певними імовірностями переходу з одного стану до іншого. В принципі, станів у нас буває безліч, і заздалегідь вказати імовірні межі послідії неможливо. Однак з допомогою сучасних ЕОМ таке завдання може бути технічно розв'язане. Вивчаючи одержану матрицю імовірностей переходу, ми маємо можливість відтворити характер вихідного процесу імпульсації і встановити закономірності його перебігу.

Зрозуміло, описані методи далеко не вичерпують усіх можливих схем підходу до вивчення імпульсної активності нейронів, проте комплексне вивчення законів імпульсації, здійснюване цими найпростішими методами, на нашу думку, дозволяє одержати в першому наближенні досить різноманітну інформацію про процеси кодування інформації в нейронах.

Висновки

В статті описано ряд методик дослідження імпульсації нейронів за допомогою методів математичної статистики. Наведено опис шести алгоритмів і трьох програм, за якими в групі кібернетики Інституту фізіології в 1963 р. проводили дослідження імпульсної активності шляхом використання ЕОМ і пристрою для введення фізіологічних характеристик в ЕОМ. Викладено ряд міркувань про можливість застосування методів кореляційного і дисперсійного аналізу для дослідження імпульсної активності нейронів.

Література

1. Браунли К. А.— Статистические исследования в производстве, ИИЛ, 1949.
2. Костюк П. Г.— Физиол. журн. СССР, 1960, 46, 9.
3. Преображенский Н. Н., Яровицкий Н. В.— Биофизика, 1963, VIII, 3.
4. Шкабара К. О., Рубашов Ю. С.— Фізіол. журн. АН УРСР, 1964, X, 3.
5. Юл Дж. и Кенделл М.— Теория статистики, Госстатиздат, М., 1960.
6. Яровицький Н. В.— Фізіол. журн. АН УРСР, 1964, X, 3.
7. Cox D. R., Smith W. L.— Biometrica, 1954, 41, 1—2, 91.
8. Ewarts E. W.— J. Neurophysiol., 1964, 27, 2.
9. Gerstein G. L. and Kiang N. Y.— Biophysical Journal, 1960, 1.
10. Poggio G. F. and Mountcastle V. B.— J. Neurophysiol., 1963, 26, 6.
11. Poggio G. F. and Viernstein L. J.— J. Neurophysiol., 1963, 27, 4.
12. Siegel S.— Nonparametric Statistics for the Behavioral Sciences McGraw-Hill Book Company, 1956.
13. Werner G. and Mountcastle V. B.— J. Neurophysiol., 1963, 26, 6.
14. Zadeh L. A.— Proc. I.R.E., 1957, 45, 1413.

Надійшла до редакції
28.I 1966 р.