

FSPSTM™ software per la classificazione automatica online delle scariche neuronali

A. Oliynyk, C. Bonifazzi – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI FERRARA

LA SFIDA

In ambito sperimentale e clinico la comprensione del modo in cui il sistema nervoso, nella sua complessità, svolge compiti importanti quali le funzioni percettive, motorie e cognitive, richiede che gli scienziati abbiano a disposizione un metodo affidabile per misurare l'attività elettrica delle cellule neuronali. Una sfida importante nell'ambito delle "neuroscienze computazionali" è rappresentata dallo sviluppo di un sistema integrato, che sia in grado di misurare l'attività elettrica del singolo neurone, cioè la scarica dei potenziali d'azione rilevati durante gli esperimenti di registrazione extracellulare, e nel medesimo tempo, permetta di analizzare online, con grande accuratezza e precisione, i segnali generati dal cervello.

LA SOLUZIONE

Abbiamo sviluppato un sistema di registrazione ed analisi, denominato Fuzzy Spike Sorting (FSPSTM; www.spikesorting.com), che utilizza i metodi dell'analisi statistica multivariata e di "fuzzy data clustering", allo scopo di classificare i segnali elettrici indotti dalle scariche neuronali in uno spazio multidimensionale "mappato" dalle caratteristiche di frequenza e forma dei potenziali d'azione generati dalle cellule nervose. Il progetto è stato realizzato utilizzando elementi hardware/software prodotti da National Instruments, e utilizzando gli strumenti sviluppati in ambiente NI LabVIEW è stato possibile monitorare online l'attività dei singoli neuroni con grande efficienza e, grazie alle elevate prestazioni computazionali, di ottenere una classificazione dei neuroni più specifica e precisa, rispetto allo standard riportato in letteratura.

Prodotti utilizzati

LabVIEW

FSPSTM è un sistema basato su LabVIEW ed è stato progettato per eseguire in modo automatico l'analisi dell'attività dei neuroni, quando questa viene registrata a livello extracellulare. Dopo una breve fase iniziale di training sui segnali che il sistema sta progressivamente acquisendo, FSPSTM individua automaticamente i diversi neuroni sulla base delle differenze, seppur minime, della loro attività elettrica e li separa classificandoli in spazio a più dimensioni, dove le direzioni nello spazio rappresentano una caratteristica della scarica neuronale di uno o più neuroni. La separazione nello spazio delle "variabili latenti" si ottiene grazie all'analisi secondo le Componenti Principali (CP) e i parametri della classificazione sono individuati e successivamente confermati dagli algoritmi implementati in FSPSTM. Per le sue caratteristiche, FSPSTM permette un'analisi veloce e completa dell'attività delle cellule neuronali in situazioni dove l'analisi online è essenziale, come l'acquisizione di dati da soggetti umani o gli studi di interfaccia uomo-macchina.

richiedono l'intervento dell'operatore, sono molto veloci ma non altrettanto accurati; infatti, questi algoritmi hanno una ridotta capacità di classificazione e, di conseguenza, sono di limitato utilizzo nell'ambito delle neuroscienze. Viceversa, grazie agli strumenti presenti in LabVIEW, FSPSTM integra il processo di acquisizione dei dati, le funzioni di monitoraggio online e l'analisi statistica su un'unica piattaforma software, risolvendo così il cruciale problema del compromesso tra automazione, velocità e accuratezza di classificazione dell'attività dei neuroni.

Metodi

Acquisizione dei dati

Grazie all'utilizzo dell'interfaccia di acquisizione NI DAQmx, FSPSTM permette di acquisire i dati sia in modo continuo, che a seguito di un evento soglia opportunamente scelto. L'utente ha quindi la massima flessibilità nel pianificare le condizioni sperimentali con elevate prestazioni anche in condizioni in cui l'attività neuronale è registrata

"I risultati ottenuti hanno dimostrato che LabVIEW presenta molti vantaggi rispetto ad altri strumenti di programmazione per lo sviluppo di applicazioni legate alla classificazione dell'attività delle cellule nervose, per le neuroscienze e l'ambito clinico."

Introduzione e obiettivo

Le registrazioni elettrofisiologiche dell'attività di singoli neuroni rappresentano uno strumento fondamentale per lo studio delle funzioni cerebrali. Poiché l'elettrodo di registrazione registra l'attività elettrica di più di un neurone, è necessario avere a disposizione una metodica per identificare e separare i potenziali d'azione generati dal singolo neurone, dal gruppo di potenziali registrati a livello extracellulare. La maggior parte delle procedure di calcolo oggi disponibili per eseguire quest'operazione di "smistamento" è in grado di realizzare una buona classificazione ma molto dispendiosa in termini di tempo, e sono di natura "interattiva", richiedendo l'introduzione di informazioni soggettive da parte dell'utilizzatore. I metodi di classificazione online disponibili non

in diverse aree cerebrali con un sistema di elettrodi multipli.

Rilevamento del picco ed estrazione della forma d'onda
L'estrazione del singolo potenziale d'azione all'interno del segnale campionato è stata eseguita con LabVIEW Peak Detector VI, grazie ad una procedura di analisi che sfrutta la capacità di questo strumento di rilevare automaticamente un livello soglia per individuazione del potenziale d'azione. L'algoritmo di selezione interpola una serie di punti presi in sequenza ed individua il picco del potenziale d'azione; in questo modo, gli errori causati dal campionamento asincrono di forme d'onda in rapida evoluzione sono ridotti e la forma del potenziale è ricostruita fedelmente. I potenziali d'azione ricavati da questa prima fase dell'analisi sono

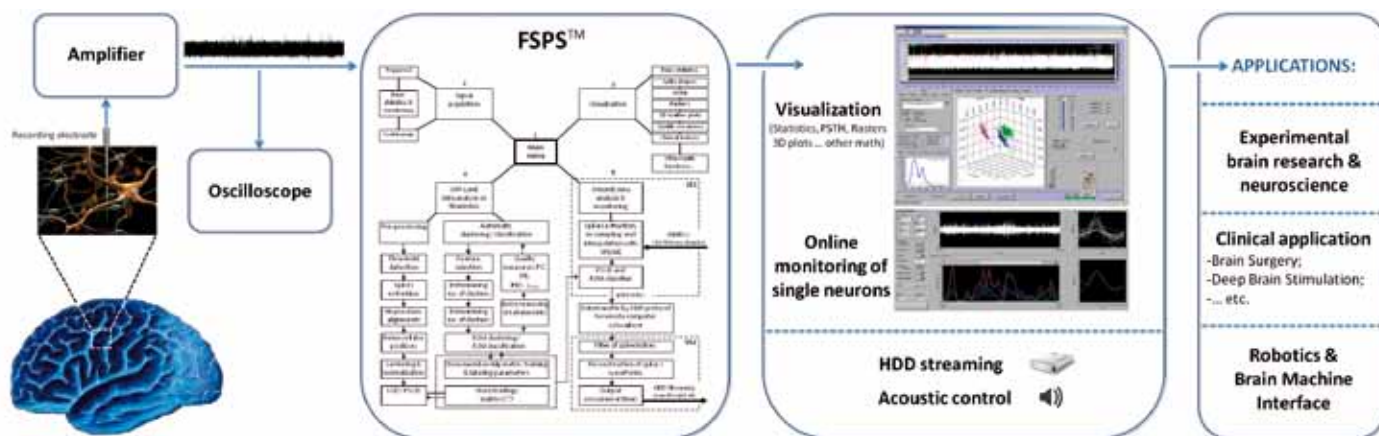


Figura 1. Schema del metodo utilizzato da FSPSTM software.

Figura 1: Schema del metodo utilizzato da FSPSTM software

estratti dal segnale registrato e successivamente interpolati con le cubic-spline per ottenere una forma d'onda molto dettagliata.

Pre-elaborazione

I potenziali d'azione ottenuti nella precedente fase di estrazione, sono stati sottoposti ad una iniziale procedura di pre-elaborazione, grazie alla quale è possibile esprimere la variazione nel tempo delle forme d'onda secondo una serie di CP di importanza decrescente. Questa trasformazione è stata ottenuta con l'algoritmo di partial Single Value Decomposition (partial-SVD), una tecnica computazionale molto efficiente che sfrutta le funzioni di LabVIEW SVD VI, grazie al quale è possibile fare riferimento alle CP calcolate per la classificazione dinamica di nuove forme d'onda, mediante una serie di operazioni semplici operazioni matriciali. La partial-SVD ha l'ulteriore vantaggio di ridurre il rumore grazie alla eliminazione delle CP meno significative.

Determinazione automatica del numero di cluster e CP

Nel software FSPSTM abbiamo implementato il metodo di segmentazione del data-set basato sull'analisi dell'istogramma. Questo metodo è ampiamente utilizzato nei sistemi di riconoscimento in tempo reale dell'immagine e consente la determinazione automatica del numero di cluster e senza supervisione dell'utente. Inoltre, LabVIEW determina il numero ottimale di CP da usare nella fase di classificazione, come compromesso fra il numero di dimensioni nello spazio multivariato delle CP e la perdita di informazione.

Fuzzy C-mean (FCM) clustering e classificazione

Le informazioni ottenute durante la partial-SVD sono state successivamente utilizzate per classificare le forme d'onda mediante Fuzzy C-mean (FCM). La natura "unsupervised" di questa tecnica di classificazione e la sua capacità di rilevare cluster di diverse forme e dimensioni, la rendono particolarmente utile per lavorare online, non essendo influenzata dalla presenza di eventuali non-stazionarietà nelle registrazioni extracellulari dell'attività nervosa, le quali potrebbero introdurre errori nella individuazione dei cluster in spazio di CP.

Misure di qualità dei cluster

Poiché gli algoritmi utilizzati nell'individuazione dei cluster non sono noti a priori, è di fondamentale importanza definire un criterio di bontà della classificazione per misurare la qualità della partizione

risultante dall'analisi. In FSPSTM abbiamo implementato alcuni criteri di merito associati alla FCM e abbiamo introdotto per la prima volta criteri di valutazione basati su parametri oggettivi. In questo modo, tali criteri inducono, FSPSTM ad analizzare più volte il data-set con la partial-SVD ed aggiornare i prototipi della FCM se la classificazione risulta essere deteriorata.

Statistica

Grazie ai VI implementati in LabVIEW, FSPSTM permette di analizzare e visualizzare (anche in modalità 3D) il potenziale d'azione estratti dal segnale elettrico con rappresentazioni grafiche di tipo statistico, quali gli istogrammi Peri-Stimulus Time (PSTHs), i diagrammi raster e una serie di indici che descrivono i tempi che intercorrono fra potenziali d'azione successivi, come gli inter-spike intervals (ISI). In questa maniera, è anche possibile rilevare gli indici di attività tonica e fasica dei neuroni, un aspetto di fondamentale importanza per lo studio dell'attività neuronale in ambito clinico.

Risultati e conclusioni

Le analisi effettuate su segnali simulati e su registrazioni reali, indicano che FSPSTM ha prestazioni superiori rispetto alle tecniche di analisi attualmente utilizzate e disponibili sul mercato. Nonostante alcune difficoltà concettuali dovute all'uso di tecniche, quali la partial-SVD e la FCM, l'implementazione degli algoritmi che eseguono ciascuna delle fasi sopracitate ha reso possibile la realizzazione di questo software esclusivamente all'interno dell'ambiente LabVIEW, rendendo possibile eseguire una classificazione online accurata e precisa della scarica dei singoli neuroni. I risultati ottenuti hanno dimostrato che LabVIEW presenta molti vantaggi rispetto ad altri strumenti di programmazione per lo sviluppo di applicazioni legate alla classificazione dell'attività delle cellule nervose, per le neuroscienze e l'ambito clinico. Grazie alle proprietà di LabVIEW, è stato possibile ideare e realizzare un sistema "stand-alone" automatico per la classificazione di dati neurali che si è rivelato veloce, potente e di facile utilizzo in ambiente Windows. Grazie a queste proprietà, FSPSTM si può dimostrare particolarmente utile per l'analisi dell'attività neuronale da una matrice di elettrodi, dove la supervisione umana è praticamente impossibile o non conveniente. Infatti, FSPSTM può essere uno strumento importante per migliorare la comprensione dei codici di linguaggio impiegati dai pool neurali e per applicazioni online, come la decodifica della scarica di gruppi di neuroni nell'interfaccia uomo-macchina.