利用机器学习检测大鼠皮层脑电图中睡眠发作的简易方法

Konstantin Sergeev[a]、Anastasiya Runnova[b,c,a]、Maxim Zhuravlev[a,c,b]、Evgenia Sitnikova[d]、Elizaveta Rutskova[d]、Kirill Smirnov[d]、Andrei Slepnev[a]、Nadezhda Semenova[a]

[a]俄罗斯萨拉托夫国立大学，萨拉托夫，*Astrakhanskaya* 街 *83* 号，邮编 *410012*[b]俄罗斯萨拉托夫国立医科大学，萨拉托夫，*B. Kazachaya* 街 *112* 号，邮编 *410012*[c]俄罗斯国家治疗与预防医学研究中心，莫斯科，*Petroverigsky* 巷 *10(3)* 号，邮编 *101990*[d] 俄罗斯科学院高级神经活动与神经生理学研究所，莫斯科，*Butlerova* 街 *5A* 号，邮编 *117485*

arXiv:2302.00933v1 [cs.NE] 2 Feb 2023

摘要

本文提出一种新方法，利用自由活动大鼠的皮层脑电图数据，自动识别其行为性睡眠（BS）和清醒状态（WS）。我们从左额叶、右额叶和右枕叶皮层区域记录了三个通道的皮层脑电信号。我们采用了一种简单的人工神经网络（ANN），将两个或三个通道的皮层脑电信号的均值和标准差作为ANN的输入。我们利用同一组数据中基于小波的BS/WS识别结果训练ANN，并评估分类器的正确性。我们测试了不同皮层脑电通道组合对BS/WS的检测效果。

我们的结果表明，人工神经网络分类的准确率不受皮层脑电图通道的影响。对于任何皮层脑电图通道，在一只大鼠上训练的神经网络应用于另一只大鼠时，准确率至少达到 80%。值得注意的是，我们采用了非常简单的网络拓扑结构，却实现了相对较高的分类准确率。我们的分类器基于输入信号的简单线性组合，并为其赋予若干权重；将这些权重替换为所有已训练人工神经网络的平均权重，也不会降低分类准确率。总之，我们提出了一种无需额外训练神经网络的新型睡眠识别方法。只需了解本文给出的系数和方程即可。该方法运行速度很快，计算过程简单，因此可用于实时实验。在需要进行警觉性控制或监测睡眠-觉醒模式的啮齿动物临床前研究中，该方法可能具有很高的应用需求。

关键词：睡眠检测，皮层脑电图，机器学习，人工神经网络，*PACS*：07.05.Mh，87.19.La*MSC*：62M45，92B20

引言

由于神经科学和医学转化技术的发展，自动识别实验动物的各种生理状态具有重要意义 [1, 2]。对遗传背景均一的动物开展药物作用多参数研究，推动了癫痫和各种神经退行性疾病等严重神经系统疾病治疗领域的突破 [3, 4, 5]。长期监测生理和行为参数通常是此类研究不可或缺的一部分。例如，近期对 WAG/Rij大鼠（失神癫痫动物模型）的长期记录进行分析的研究，阐明了发作活动随年龄、性别变化的不同方面，以及药物治疗的可能性和影响 [6, 7, 8, 9]。

多项睡眠研究表明，睡眠结构是影响中枢神经系统状态 [10], 认知功能 [11], 及其他身体系统功能 [12, 13]的重要因素。尤其是，间断性睡眠、睡眠碎片化和短暂觉醒往往会对健康产生负面影响。关于睡眠期间觉醒的性质的研究已在参考文献 [14], 中综述，而 P. Hal´asz 等人 [15, 16, 17]则对觉醒与癫痫之间的关系进行了深入研究。

睡眠脑研究通常需要对脑电图（EEG）、肌电图（EMG）以及眼电活动（研究人类睡眠时）进行复杂分析，这些信号共同构成所谓的多导睡眠图（PSG） [18, 19,20]。基于多导睡眠图的睡眠评分是确定多数物种睡眠-觉醒周期状态的黄金标准。与此同时，人工处理长达两三天的脑电图/多导睡眠图记录，有时还需处理额外的视频记录，这会显著增加神经生理学研究的难度和成本。因此，亟需可靠、精确且准确地测量睡眠参数。

目前已开发出大量方法，用于检测特定的正常睡眠脑电振荡和病理性脑电模式，例如困倦时容易出现的棘波-慢波放电，以及睡眠纺锤波（例如， [21, 22, 23]）。虽然已有一些用于实验动物自动睡眠分期的方法，但自动睡眠分期问题尚未得到解决。基于脑电图的睡眠检测和睡眠分期方法主要依据时频域、振幅、非线性及其他

电子邮箱地址： semenovni@sgu.ru (Nadezhda Semenova)

特征 [24, 25, 26, 27, 28]。特别是，在我们此前的论文中，我们展示了连续小波变换（CWT）用于检测大鼠行为性睡眠与清醒的生理状态的潜力 [4, 30]。这些论文中提出的方法与专家评分相比，准确率较高。然而，连续小波变换以及其他对多导睡眠图信号进行时频处理的方法，都需要大量计算资源，尤其是在记录持续时间较长的情况下。因此，近期基于机器学习（ML）的多导睡眠图数据分析方法已得到广泛应用 [31, 32, 33, 34]。

本文提出一种无需复杂计算或复杂神经网络类型即可实现实时睡眠识别的方法。与 [35] 中提取了数十项特征的方法相比，我们在此仅使用皮层脑电图（ECoG）信号的两个特征，即均值和标准差，而网络仅由一个计算神经元构成。使用这种简单的网络不仅简化了计算，也清楚地展示了皮层脑电图信号的均值和标准差与动物状态转换之间的关系。最后，我们得到一个简单的数学表达式，用于描述实验大鼠的睡眠/清醒状态。

1. 材料与方法

1.1. 动物与皮层脑电图记录

大鼠实验在俄罗斯科学院高级神经活动与神经生理学研究所（俄罗斯莫斯科）开展，遵循欧盟指令2010/63/EU关于动物实验的规定，并经该机构动物伦理委员会批准。大鼠饲养于标准条件下，处于自然明暗周期中，可自由摄取大鼠饲料和自来水。实验使用了11只雄性 WAG/Rij 大鼠。

所有大鼠均植入用于硬膜外皮层脑电图记录的螺钉电极（螺杆长度 = 2.0 mm，头部直径= 2.0 mm，螺杆直径 = 0.8 mm），位于左右对称的额叶皮层（AP +2mm，L ±2mm，FrR 和 左额区）以及枕叶（AP −6 mm，L 4 mm，右枕区）上方。所有坐标均以相对于前囟的位置给出。参考螺钉电极置于右侧小脑上方。此外，我们将额叶信号记为“皮层脑电图$_1$”和“皮层脑电图$_2$”，将枕叶信号记为“皮层脑电图$_3$”，见图 1(a)。

在使用鼻罩诱导的七氟烷麻醉下进行立体定位手术（500 mL 的 100% O2，七氟烷浓度为 5% ± 0.4%）。电极被永久固定于用甲基丙烯酸甲酯单体固定于颅骨上。手术过程的照片见图1(b)。手术后立即对大鼠进行安乃近（FSSCI Microgen，俄罗斯，25 mg/kg）肌内注射以缓解疼痛，随后将其单独饲养在笼中，以防损坏电极连接器。最后，在进行脑电图记录前，大鼠至少恢复十天。

手术后，大鼠至少恢复十天。记录大鼠在有机玻璃笼（25 x 60 x 60 cm）中自由活动时的皮层脑电图，明暗周期为 12:12 h（上午 8 点开灯）。皮层脑电信号输入

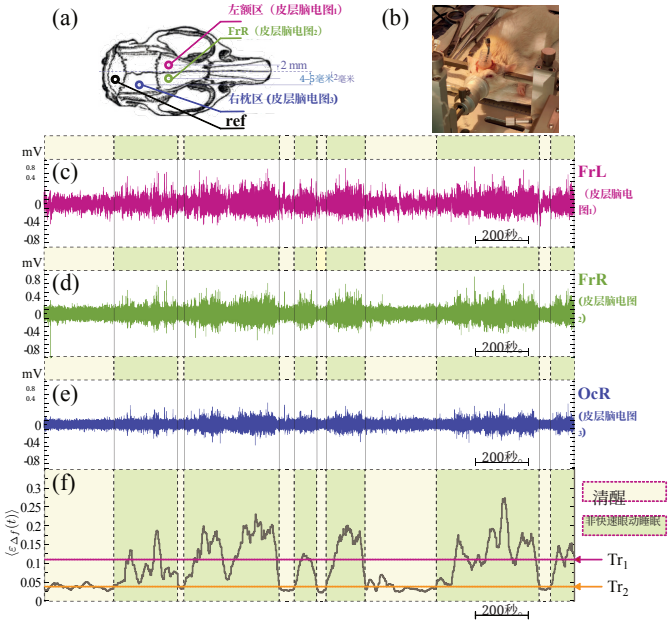


图1：（a）—电极位置示意图；（b）—电极植入手术照片；（c）、（d）、（e）—分别记录自左侧和右侧额叶及枕区导联的皮层脑电图$_{1,2,3}$（t）信号片段；（f）—根据给定信号计算得到的特征 **Δf** 片段。清醒/脑电静息状态的标注以绿色和黄色表示。

多通道放大器（PowerLab 4/35、LabChart 8.0 软件，ADInstruments，澳大利亚悉尼），信号通过旋转接头传输，经过 [0.5; 200] Hz 带通滤波，以每通道每秒 400 个采样点进行数字化，并存储在硬盘中。完整的皮层脑电图记录时段约持续 24 h（平均 22.2 h，最短 20.0 h，最长 26.6 h）。在完整的皮层脑电图记录开始前，使用 Genius eFace 1325R 摄像机和 LabChart 视频采集模块记录了 1 h 的视频脑电图。

基于小波的脑电图分析在暗期进行。这意味着睡眠控制机制的紊乱表现得十分明显。分析涵盖明暗周期中的两个 3 小时阶段：暗期开始时的 21:00–23:59（“暗期开始”）以及暗期结束时的 3:00–5:59（“暗期结束”）。

对所有 9 月龄受试对象进行了 1 小时的视频脑电图记录，并通过目视进行检查。

皮层脑电信号 $\{ECoG_1(t), ECoG_2(t), ECoG_3(t)\}$ 的持续时间为 T，采样频率为 $(1/N) = 400$，即持续时间为 1 秒的记录包含 N 个数值。这些脑电图记录示例见图 1(c–e)。

1.2. 基于小波方法的训练标注

使用此前介绍的基于小波的算法检测行为性睡眠（BS）和清醒状态（WS），见*Run- nova* 等人（2021年） [4, 30]。图 1（f）展示了采用这种小波方法并设置不同阈值后得到的 BS/WS 标注。补充材料（第 SM.1 节）对这一技术作了更详细的讨论。所述方法最初是为检测深度非快速眼动睡眠时段而开发的。

使用这种方法区分快速眼动睡眠时段与清醒状态时段的问题尚未讨论。

1.3. 机器学习方法

所提出的行为性睡眠（BS）和清醒状态（WS）识别方法基于机器学习方法，即人工神经网络（ANN）。通常不会将原始信号数据用作人工神经网络的输入。相反，数据科学家会从分析后的信号中提取不同的“特征”[35, 36], ，例如各种统计特征、熵、分形、时频特征、时空特征及其他特征。恰当选择特征组合，在很大程度上决定了人工神经网络应用的成效和最终准确率。对于基于脑电图信号的睡眠识别，这些特征可以是平均值、变化量以及与均值的偏差 [37, 38, 39, 40]。在此前使用人工神经网络研究皮层脑电图时，我们采用了信噪比，其中包括皮层脑电信号的均值和标准差 [41, 42]。由此可见，均值 μ(ECoG) 和标准差 σ(ECoG) 非常适合本文的主要任务。补充材料（第 SM.2 节）进一步阐述了这一选择的依据。

本文使用开源深度学习应用程序接口 Keras [43] 构建并训练人工神经网络。训练集使用标准 Python 工具（TensorFlow、NumPy、pandas 等）进行准备和归一化。

1.3.1. 数据预处理

记录的皮层脑电图数据以毫伏为单位，取值范围为 −200 至 200 毫伏。在计算均值和标准差之前，我们采用以下归一化技术，以克服皮层脑电振幅的个体间变异问题。首先，通过 $Y(t) = \mathrm{ECoG}_i(t) - \min(\mathrm{ECoG}_i)$ 将数值调整为仅包含正值。接下来，将其调整至相同范围 [0；1) 按照以下方式对 $Y(t)$ 进行归一化

$$\mathrm{ECoG}_i^*(t) = \frac{Y(t)}{2 \cdot \mathrm{mean}(Y)}. \tag{1}$$

在固定时间间隔内计算平均特征 μ(皮层脑电图) 和 σ(皮层脑电图)。该间隔的持续时间是一个重要参数，取决于采样频率和信号特性。通过经验确定，最佳平均窗口持续时间为 $\delta = 10$ 秒。由于采样频率 f_d 为每秒 400 个采样值，平均窗口包含 $N = \delta f_d = 4000$ 个采样值。然后，可根据皮层脑电图 $_i^*$ 计算均值集合，方法如下：

$$\mu_i(t_j) = \frac{1}{\delta f_d} \sum_{k=1}^{\delta f_d} \mathrm{ECoG}_i^*\left(t_j - \frac{k}{f_d}\right), \tag{2}$$

其中 $i = 1, 2, 3$ 表示皮层脑电图通道，$\mu_i(ti)$ 是其在从 ($t_j - \delta$) 到 ti 的时间间隔内计算的均值。该时间间隔的选择将在补充材料（第 SM.5 节）中进一步讨论。

计算标准差时也采用了相同的方法：

$$\sigma_i(t_j) = \frac{1}{\delta f_d - 1} \sum_{k=1}^{\delta f_d} \left|\mathrm{ECoG}_i^*\left(t_j - \frac{k}{f_d}\right) - \mu_i(t_j)\right|^2. \tag{3}$$

为了增加测试和训练样本的数量，并使人工神经网络响应更加平滑，我们在滑动窗口中计算了均值和标准差，其中窗口移动量 $\tau = 1$ 秒小于窗口大小 δ。随后，在公式 (2,3) 中$ti = j \cdot \tau + \delta$。因此，原始的一小时皮层脑电图$_i(t)$实现被转换为两个新的实现 $\mu_i(ti)$ 和 $\sigma_i(ti)$，各包含 3590 个点。它们的示例见图2(a)左侧。

归一化过程 (1) 对数据应用了两次：第一次应用于初始脑皮层电图数据，第二次应用于 $\mu_i(ti)$ 和 $\sigma_i(ti)$。第二次归一化将数值范围调整至区间 (0,1)，这是正确应用人工神经网络所必需的（参见补充材料第 SM.4 节）。

1.3.2. 人工神经网络结构

机器学习方法的一种常见用途是识别重要特征及其相互关系。图2(a)展示了人工神经网络如何将两个通道的均值和标准差作为输入的示意图。从图2(a)可以看出，该网络只有四个输入神经元，后接一个人工神经元。经过训练后，所提出的简化网络可以用简单的输入信号线性组合取代神经网络。这有望提升分类器性能，并使其能够实时运行。我们考虑了皮层脑电通道的若干种组合。初步研究表明，单通道脑皮层电图数据不足以进行分类。因此，我们随后使用了两个或三个皮层脑电通道。

图2(a)所示的人工神经网络通常称为单层感知器 [44]。它有四个输入，接收由通道1和通道2计算得出的均值和标准差 μ_1, σ_1 和 μ_2, σ_2。使用全部三个通道时，人工神经网络还可接收另外两个输入信号 μ_3, σ_3 {皮层脑电图$_1(t)$、皮层脑电图$_2(t)$、皮层脑电图$_3(t)$}。

这四个输入之后的下一个绿色圆圈表示带有 Sigmoid激活函数 $f(x) = 1/(1+e^{-x})$ 的非线性人工神经元，该函数常用于人工神经网络 [44]。此激活函数的输出为范围 (0;1) 内的实数。用数学语言来说，如果输入值向量为 $\vec{x}_{\mathrm{in}} = (\mu_1, \sigma_1, \mu_2, \sigma_2)$，那么网络的输出为：

$$y_{\mathrm{out}} = f(\vec{x}_{\mathrm{in}} \cdot \mathbf{W} + b), \tag{4}$$

其中，$\mathbf{W}$ 是连接输入层和输出层的权重矩阵。对于 2 个通道，其大小为（4×1）；对于 3 个通道，其大小为（6×1）。偏置 b 可以沿激活函数移动输出值。为了训练网络进行 BS/WS识别，我们使用基于小波方法的标注。在网络训练过程中，会调整数值 $\mathbf{W}$和b，使网络响应 y_{out} 尽可能接近训练期间已知的原始标注。当输入值是在清醒状态（WS）下获得时，网络输出为 0；而 1 对应于

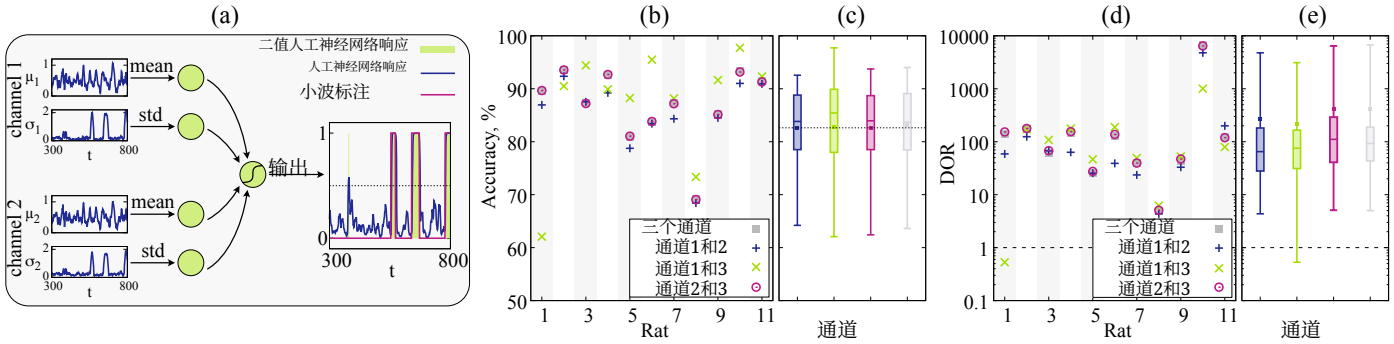


图2：第一幅图（a）为所研究人工神经网络的示意图，左侧图展示了根据通道1和2的皮层脑电图记录，使用方程（2、3）计算得到的均值 $\mu_i(ti)$ 和标准差 $\sigma_i(ti)$ 的示例。图（a）右侧展示了相应的人工神经网络响应，该网络使用动物#1的通道1、2进行训练，并应用于动物#11的数据。粉色线表示基于小波的标注，蓝色和绿色分别表示人工神经网络响应及其以0.5为阈值进行二值化后的结果。图（b）和（d）分别展示了使用动物#1的数据训练、并应用于其余动物的人工神经网络的准确率和检测优势比特征。按照不同的通道组合，以这种方式训练了四个人工神经网络：1&2（蓝色）、1&3（绿色）、2&3（粉色）以及全部三个通道（灰色）。图（c）和（e）展示了所有准确率和所有人工神经网络检测优势比值的平均统计数据；这些人工神经网络使用动物#1、2、4、7、8的数据进行训练，并应用于其余10只动物。结果以箱线图呈现，配色方案与图（b、d）相同。虚线表示通道 $ECoG_1(t)$ 和 $ECoG_2(t)$ 的平均准确率。参数：$\delta = 10$ 秒，$\tau = 1$ 秒。

行为性睡眠（BS）。因此，第1.2节中所述的非常复杂的基于小波的 WS/BS识别方法，可以与基于相互关联特征的简单代数方程人工获得的分类器进行比较：

$$y_{\text{out}} = f(\mu_1 W_{\mu 1} + \sigma_1 W_{\sigma 1} + \mu_2 W_{\mu 2} + \sigma_2 W_{\sigma 2} + b), \qquad (5)$$

其中，$\{W_{\mu_1}、W_{\sigma_1}、W_{\mu_2}、W_{\sigma_2}\}$ 是图2(a)所示人工神经网络权重矩阵**W** 的组成部分。这些系数以下称为权重系数。

1.3.3. 人工神经网络训练

训练人工神经网络时，我们使用了免费的 API Keras 和编程语言 Python。本文中使用的所有训练后神经网络均采用相同的方式进行训练，即使用 Adam优化算法和二元交叉熵损失函数。此类神经网络训练需要使用基于小波方法 [4] （见第1.2节）初步标注的数据。有关这些数据的“真实标注”，将在补充材料SM.2中进一步讨论。

每个神经网络均使用从持续时间为1小时的记录中提取的连续皮层脑电图时段的均值和标准差进行训练，所用记录覆盖1000至2000秒。这些时段经过筛选，使行为睡眠和清醒的时段长度相等。每次训练所用的数据均来自11只动物中的一只。随后，使用训练好的人工神经网络分析其余动物的数据。

此外，我们将重点讨论使用全部三个皮层脑电通道及不同的双通道组合所获得的结果。检测准确率以百分比表示，计算方法为正确判断数与输入数据总数之比。所有大鼠的训练准确率均至少为80%。部分训练数据集的这一数值略有提高。

2. 结果

2.1. 基于额叶和枕叶皮层脑电图的行为睡眠/清醒识别

图2(a)右侧展示了将训练后的人工神经网络应用于皮层脑电图的示例。粉色曲线是基于小波方法得到的标注。人工神经网络响应由两条曲线表示：1——未经任何处理的原始响应（蓝色）；2——阈值为0.5的二值形式（0,1）（绿色）。本文始终采用这一固定阈值。

为了分析并比较使用不同皮层脑电通道组合训练的人工神经网络的性能，我们将采用两个指标：准确率和检测优势比（DOR） [45]。准确率的计算方法是：真阳性（*TP*）和真阴性（*TN*）的数量之和，除以总数（其中还包括人工神经网络输出的假阳性（*FP*）和假阴性（*FN*））。DOR取决于相同的指标，但计算方式不同：

$$A = \frac{TP + TN}{TP + TN + FP + FN}; \qquad \text{DOR} = \frac{TP \cdot TN}{FP \cdot FN}. \qquad (6)$$

DOR的取值范围从零到无穷大。如果其小于1，则说明网络的判断方向错误，反转网络的输出即可提升其性能 [45]。DOR等于1表示无论输入数据如何，网络都会给出相同的响应。如果DOR大于1，则说明网络训练良好，能够给出有用的结果。在这种情况下，DOR值越高，网络性能越好。

首先，我们考虑了仅使用一只动物记录的数据进行训练的神经网络。使用了皮层脑电图记录中$t \in [1000; 3000]$ 秒的数据部分进行训练。基于动物#1的两个额叶通道训练的人工神经网络，最终训练准确率为$A_{12}^{\text{tr.1}} = 85.4\%$。其他通道组合的训练准确率分别为$A_{13}^{\text{tr.1}} = 50\%$、$A_{23}^{\text{tr.1}} = 87.5\%$和$A_{123}^{\text{tr.1}} = 87.9\%$。给定相应的通道组合，这些神经网络可用于对其余动物进行BS/WS识别。图2(b)展示了全部四个人工神经网络的准确率

这些人工神经网络使用动物#1的数据进行训练，并应用于其他数据。颜色表示不同的通道组合：1 – 左侧和右侧额叶通道（蓝色），2 – 左侧额叶和枕叶（绿色），3 – 右侧额叶和枕叶（粉色），4 – 全部三个通道（灰色）。

如图2(b)所示，动物#8的准确率最低，约为70%；其余动物的数据准确率均至少达到80%。

对于其他以睡眠时长占一小时记录比例最高的动物（动物##2、4、7和8）的数据训练的人工神经网络，也得到了类似结果。结果的同质性表明，所提出方法具有良好的可重复性。

图2(c)展示了全部五个人工神经网络（以动物##1、2、4、7和8的数据训练）应用于其他10只动物时的准确率统计分析。不同通道的组合采用与图2(b)相同的颜色方案。额叶通道对应的人工神经网络平均准确率为82.5%，如图2(c)中的虚线所示。枕叶通道分别与左侧和右侧额叶通道组合时，平均准确率分别为83.1%和82.4%。全部三个通道的平均准确率为82.9%。

图2(d,e)以相同方式绘制，但展示的是检测优势比特征。所得检测优势比值明显大于 1，表明网络性能良好。此外，图2(e)表明，检测优势比的中位数和均值分别超过 65 和 200。

因此，所有四种人工神经网络的准确率和网络内部统计特征都相似。因此，尤其值得探究它们的不同特征和共同特征，下一小节将对此进行讨论。

2.2. 均值和标准差乘数如何影响行为睡眠效/清醒识别

在训练过程中，人工神经网络的权重不断变化，使网络响应与训练数据相符。本文所研究的人工神经网络仅包含一个具有四个或六个输入的非线性神经元。因此，很容易理解哪些输入信号很重要，以及它们如何组合。根据公式（5），人工神经网络的输出是各输入与相应乘数$W_{\mu i}$和$W_{\sigma i}$的组合，其中i = 1,2,3。

所获得权重的统计数据如图3所示。这些数据是根据针对每种通道组合，使用动物##1、2、4、7、8的数据训练的五个人工神经网络计算得出的。所考察通道的配色方案与图2(b–e)相同。

权重系数$W_{\mu i}$ 和$W_{\sigma i}$的统计分析得出了意料之外的结果。尽管权重最初是随机设定的，且神经网络是针对不同动物训练的，但特定$W_{\mu i}$和$W_{\sigma i}$的最终权重统计结果却相似，尤其是$W_{\mu i}$。权重系数$W_{\sigma i}$ 的离散程度更大。尽管如此，对于特定的i，它们的数值也相当接近。

上述结果表明，来自大脑皮层额叶和枕叶部分的皮层脑电图信号具有普遍性质 μ_i 和σ_i ，即：

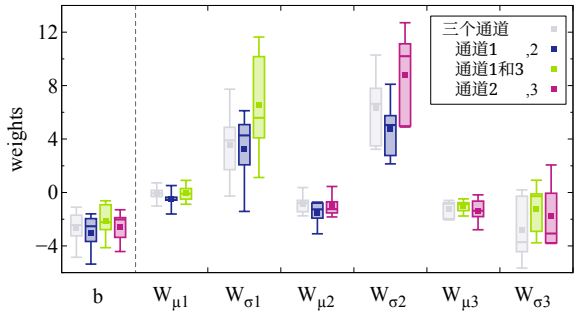


图3：对比使用不同通道组合训练的人工神经网络的偏置b 和权重$W_{\mu i}$,$W_{\sigma i}$： 1和2（蓝色）、1和3（绿色）、2和3（粉色）以及全部三个通道（灰色）。箱线图根据使用动物#1、2、4、7、8的数据集训练的人工神经网络的统计结果绘制。

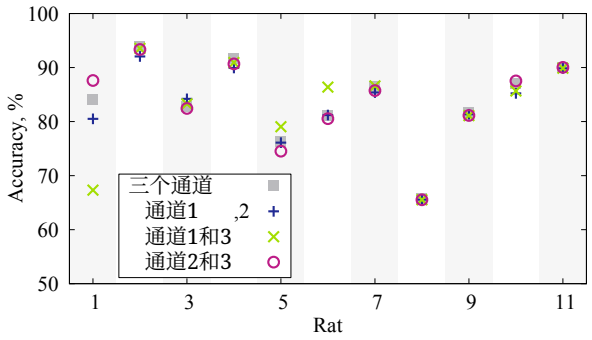


图4：将平均权重系数应用于全部11只动物时人工神经网络的准确率。

- 负责额叶和枕叶部分信号均值 μ 的突触乘数 $W_{\mu i}$ 均为负值，且绝对值相对较小；
- 负责表示来自额叶皮层信号标准差的突触乘数 $W_{\sigma 1}$ 和 $W_{\sigma 2}$ 为正值，且数值相对较大；
- 负责表示来自枕叶皮层信号标准差的乘数$W_{\sigma 3}$ 为负值。无论考虑哪些通道，偏置b 也有同样的情况。

为验证这些假设，我们构建了人工神经网络，其权重系数取此前讨论过的、分别对应通道1和2、通道1和3、通道2和3以及全部三个通道的人工神经网络权重系数的平均值。

这些平均人工神经网络的权重见表1。在全部11只动物中，它们均展现出较高的BS/WS分类准确率（图4）。因此，使用公式（5）以及表1所列的平均权重系数，无需训练神经网络即可轻松完成BS/WS分类。

3. 讨论

解决行为睡眠/清醒识别问题是否必须使用人工神经网络？

最初采用复杂的深度网络分析三个皮层脑电通道的 μ 和 σ ，准确率约为 80–90

通道	b	$W_{\mu 1}$	$W_{\sigma 1}$	$W_{\mu 2}$	$W_{\sigma 2}$	$W_{\mu 3}$	$W_{\sigma 3}$	平均准确率
左侧和右侧额叶（1,2）	-3.02	-0.51	3.22	-1.56	4.76	–	–	82.85
左侧额叶和枕叶（1,3）	-2.13	-0.06	6.52	–	–	-1.05	-1.23	82.66
右侧额叶和枕叶（2,3）	-2.59	–	–	-0.97	8.78	-1.36	-1.73	83.55
全部三个（1,2,3）	-2.67	-0.10	3.59	-0.84	6.29	-1.24	-2.78	83.70

表1 ：使用这些权重的人工神经网络进行BS/WS识别所得的平均权重系数 $W_{\mu i}$、$W_{\sigma i}$、偏置 b 及平均准确率 hts.

随后我们逐步简化网络结构。令人惊讶的是，我们发现只需一个采用 sigmoid 激活函数的神经元，就能以相同的准确率完成这项任务。由于网络极其简单，其学习算法只需找到权重 $W_{\mu i}$、$W_{\sigma i}$ 和偏置 b，使公式（5）得出的答案尽可能接近正确答案。

此外，在第2.2节中，我们构建了一个新的人工神经网络，其连接权重取此前训练的所有人工神经网络的权重 $W_{\mu i}$ 、 $W_{\sigma i}$ 和 b 的平均值。这个通过人工方式构建的人工神经网络，其准确率与其他训练过的人工神经网络相当。因此，现在无需训练网络，只需使用带有计算所得平均系数的简单代数方程（5）即可。除了人工神经网络之外，还有各种无监督学习方法，例如聚类（回归、k 均值、科霍宁映射等）。然而，这些方法超出了本文的讨论范围，需要另行研究。

结论

我们开发了一种原创的自动分类算法，用于识别大鼠皮层脑电图信号中的睡眠发作。所提出的方法基于神经网络，包括预先计算简单的统计特征，并进一步根据这些特征的线性组合进行分类。

我们的方法至少需要两个皮层脑电通道。对于电极应放置在大脑皮层的哪个部位，并无确切要求。我们的计算表明，采用左额叶、右额叶和枕叶信号的不同组合，所得分类器准确率相近。所得神经网络的平均准确率为 80–90%，而检测优势比特征则远大于 1。

此外，我们提出了一种非常简单的神经网络，用于识别 BS/WS 发作。该网络规模很小，能够揭示均值和标准差的线性组合及其相应系数。这些系数是对多个动物各自训练所得的若干神经网络的权重取平均后得到的。将这些平均权重系数（表1）代入公式（5），无需训练网络即可识别睡眠。

所提出的方法几乎可以实时分析基础睡眠的出现情况。例如，它对于开发用于睡眠剥夺的实验室设备可能非常有用。

数据可用性

支持本研究结论的数据可向通讯作者合理申请获取。

致谢

用于识别睡眠的人工神经网络是在俄罗斯科学基金会项目（编号：21-75-10088）的框架下开发和改进的。将其应用于数据并与其他方法进行比较，部分由俄罗斯联邦政府项目（编号：075-15-2022-1094）提供支持。实验数据是在2021年至2023年俄罗斯联邦教育与科学部对高级神经活动研究所下达的国家任务框架内获得的。

参考资料

[1] M. A. Grandner, F.-X. Fernandez, 《睡眠转化神经科学：情境框架》, 《科学》374 (6567) (2021年) 568–573. [2] S. W. Baran, N. Bratcher, J. Dennis, S. Gaburro, E. M. Karlsson, S. Maguire, P. Makidon, L. P. J. J. Noldus, Y. Potier, G. Rosati, M. Ruiter, L. Schaevitz, P. Sweeney, M. R. LaFollette, 临床前药物发现与开发中, 转化数字生物标志物在家笼监测技术中的新兴作用, 《行为神经科学前沿》15 (2022年)。 doi:10.3389/fnbeh.2021.758274。[3] H. Yang, G. Rajah, A. Guo, Y. Wang, Q. Wang, 卒中后癫痫发作和癫痫的发病机制, 《神经学研究》40 (6) (2018年) 426–432。[4] A. N. Khambhati, A. Shafi, V. R. Rao, E. F. Chang, 长期脑网络重组可预测局灶性癫痫的反应性神经刺激结局, 《科学转化医学》13 (608) (2021年) eabf6588。[5] E. M. Fisher, D. M. Bannerman, 神经退行性疾病小鼠模型：明确你的问题，了解你的实验小鼠, 《科学转化医学》11 (493) (2019年) eaaq1818。[6] S. Karadenizli, D. S,ahin, N. Ates., 瑞替加滨对WAG/Rij大鼠失神发作的年龄依赖性影响：一项实验研究, 《临床与实验药理学和生理学》48 (9) (2021年) 1251–1260。[7] W. Lazarini-Lopes, C. Campos-Rodriguez, D. Palmer, P. N'Gouemo, N. Garcia-Cairasco, P. A. Forcelli, 雄性和雌性WAG/Rij大鼠的失神癫痫：癫痫发作表现的纵向脑电图分析, 《癫痫研究》176 (2021年) 106693。[8] H. Aygun, 艾塞那肽可增加WAG/Rij大鼠的失神样发作及焦虑抑郁样行为, 《癫痫与行为》123 (2021年) 108246。[9] J. K. Knowles, H. Xu, C. Soane, A. Batra, T. Saucedo, E. Frost, L. T. Tam, D. Fraga, L. Ni, K. Villar, 等, 适应不良性髓鞘形成促进全面性癫痫进展, 《自然·神经科学》25 (5) (2022年) 596–606。[10] A. M. Fink, U. G. Bronas, M. W. Calik, 睡眠与清醒期间的自主神经调节：对界定神经系统疾病病理生理学的启示, 《临床自主神经研究》28 (6) (2018年) 509–518。[11] V. E. McSorley, Y. S. Bin, D. S. Lauderdale, 睡眠特征与老年人认知功能及其衰退之间的关联, 《美国流行病学杂志》188 (6) (2019年) 1066–1075。[12] G. Seravalle, G. Mancia, G. Grassi, 交感神经系统、睡眠与高血压, 《高血压最新报告》20 (9) (2018年) 1–6。[13] V. A. Cuddapah, S. L. Zhang, A. Sehgal, 昼夜节律和睡眠对血脑屏障的调节, 《神经科学趋势》42 (7) (2019年) 500–510。

[14] P. Hal´asz, M. Terzano, L. Parrino, R. B´odizs，睡眠中觉醒的本质，《睡眠研究杂志》13 (1) (2004年) 1–23。[15] L. Parrino, P. Halasz, C. A. Tassinari, M. G. Terzano，睡眠中的CAP、癫痫和运动事件：觉醒的统合作用，《睡眠医学评论》10 (4) (2006年) 267–285。[16] P. Hal´asz, A. Kelemen, A. Sz˝ucs，非快速眼动睡眠微觉醒在失神癫痫和夜间额叶癫痫中的作用，《癫痫研究》107 (1-2) (2013年) 9–19。[17] P. Hal´asz, A. Sz˝ucs，睡眠与癫痫通过可塑性相联系，《神经病学前沿》11 (2020年) 911。[18] T. Sugi, F. Kawana, M. Nakamura，睡眠呼吸暂停综合征的自动脑电觉醒检测，《生物医学信号处理与控制》4 (4) (2009年) 329–337。[19] F. Chapotot, G. Becq，结合稳健特征提取、人工神经网络分类和灵活决策规则的自动睡眠-觉醒分期，《自适应控制与信号处理国际期刊》24 (5) (2010年) 409–423。[20] E. Van Luijtelaar, A. Coenen，用于大鼠自动睡眠-觉醒分期识别的脑电图平均技术，《生理学与行为》33 (5) (1984年) 837–841。[21] E. Sitnikova, A. E. Hramov, V. Grubov, A. A. Koronovsky，失神癫痫WAG/Rij大鼠睡眠纺锤波的时频特征与动态，《脑研究》1543 (2014年) 290–299。[22] E. Sitnikova, A. E. Hramov, A. A. Koronovsky, G. van Luijtelaar，脑电图中的睡眠纺锤波与棘慢波放电：通过傅里叶变换和连续小波分析揭示其一般特征、相似性与差异，《神经科学方法杂志》180 (2) (2009年) 304–316。[23] E. Sitnikova, A. E. Hramov, V. Grubov, A. A. Koronovsky，失神癫痫大鼠的脑电节律性活动与睡眠，《脑研究通报》120 (2016年) 106–116。[24] M. Studler, L. R. Gianotti, K. Koch, J. Hausfeld, L. Tarokh, A. Maric, D. Knoch，右侧前额叶皮层局部慢波活动揭示个体风险偏好，《神经影像》

253 2022 119086 doi:( ).. https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2022.119086

[25] V. Bajaj, R. B. Pachori，基于脑电信号时频图像的睡眠阶段自动分类，《生物医学中的计算方法与程序》112 (3) (2013年) 320–328。[26] U. R. Acharya, S. Bhat, O. Faust, H. Adeli, E. C. P. Chua, W. J. E. Lim, J. E. W. Koh，用于自动脑电睡眠阶段检测的非线性动力学指标，《欧洲神经病学》74 (5-6) (2015年) 268–287。

doi:10.1159/000441975.[27] S. Mahvash Mohammadi, S. Kouchaki, M. Ghavami, S. Sanei，通过奇异谱分析改进时频域睡眠脑电图分类，《神经科学方法杂志》273 (2016年) 96–106。

doi:https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2016.08.008。[28] S. Bastianini, C. Berteotti, A. Gabrielli, F. Del Vecchio, R. Amici, C. Alexandre, T. E. Scammell, M. Gazea, M. Kimura, V. Lo Martire, A. Silvani, G. Zoccoli，Scoprism：一种用于小鼠自动睡眠分期的新算法，《神经科学方法杂志》235 (2014年) 277–284。

doi:10.1016/j.jneumeth.2014.07.018。[29] A. Runnova, M. Zhuravlev, A. Kiselev, R. Ukolov, K. Smirnov, A. Kar-avaev, E. Sitnikova，基于小波的自动行为性睡眠评估：利用多通道皮层脑电图对大鼠进行监测，《睡眠与呼吸》卷25 (2021年) 2251–2258。[30] M. Zhuravlev, A. Runnova, K. Smirnov, E. Sitnikova，具有失神癫痫遗传易感性的WAG/Rij大鼠中的棘慢波发作、非快速眼动睡眠和微觉醒：发育方面，《生命》12 (4) (2022年) 576。[31] Y. You, X. Zhong, G. Liu, Z. Yang，自动睡眠阶段分类：一种基于时域、频域和分数阶傅里叶变换域特征的轻量高效深度神经网络模型，《医学中的人工智能》127 (2022年)。 doi:10.1016/j.artmed.2022.102279。[32] L. Noorlag, N. E. van Klink, K. Kobayashi, J. Gotman, K. P. Braun, M. Zi-jl mans，头皮脑电图中的高频振荡：对方法学选择和临床发现的系统综述，《临床神经生理学》137 (2022年) 46–58。

doi:10.1016/j.clinph.2021.12.017。[33] I. Hussain, M. A. Hossain, R. Jany, M. A. Bari, M. Uddin, A. R. M. Kamal, Y. Ku, J.-S. Kim，用于睡眠阶段预测的脑电生物标志物定量评估，《传感器》

22 8 2022 doi:10.3390/ ( ) ( )。s22083079

[34] H. Wang, C. Lu, Q. Zhang, Z. Hu, X. Yuan, P. Zhang, W. Liu，基于多尺度双重注意力的新型睡眠分期网络，《生物医学信号处理与控制》

74 2022 doi:10.1016/j.bspc.( )。.[35] 2022.103486

S. K. Satapathy, D. Loganathan，基于时间序列数据的自动睡眠分期多模态多分类机器学习模型，《SN计算机科学》第3卷（276）（2022年）。[36] A. Majkowski, M. Kołodziej, R. J. Rak, A. Rysz，在：2018年IEEE国际医学测量与应用研讨会（MeMeA）中，使用皮层脑电信号能量、熵和分形维数进行尖峰检测，IEEE，2018年，第1–6页。[37] A. R. Hassan, M. I. H. Bhuiyan，利用集成经验模态分解和随机欠采样提升法自动识别脑电信号中的睡眠状态，《生物医学中的计算方法与程序》140（2017年）201–210。[38] Y. Hsu, Y. Yang, J. Wang, C. Hsu，利用脑电信号能量特征的自动睡眠阶段循环神经分类器。《神经计算》，《神经计算》104（2013年）105–114。[39] M. Ronzhina, O. Janousek, J. Kolarova, M. Novakova, P. Honzik, I. Provaznik，使用人工神经网络进行睡眠分期，《睡眠医学评论》16（2012年）251–263。[40] G. Zhu, Y. Li, P. Wen，基于单通道脑电信号差分可见图的睡眠阶段分析与分类，《IEEE生物医学与健康信息学杂志》18（6）（2014年）1813–1821。[41] N. Semenova, K. Sergeev, A. Slepnev, A. Runnova, M. Zhuravlev, I. Blokhina, A. Dubrovsky, M. Klimova, A. Terskov, O. Semyachkina-Glushkovskaya, J. Kurths，血脑屏障通透性变化：基于小波和机器学习方法的皮层脑电信号非线性分析，《欧洲物理学杂志Plus》136（2021年）736。[42] O. Semyachkina-Glushkovskaya, A. Karavaev, M. Prokhorov, A. Runnova, E. Borovkova, I. Yu.M., A. Hramkov, D. Kulminskiy, N. Semenova, K. Sergeev, A. Slepnev, S. E. Yu., M. Zhuravlev, I. Fedosov, A. Shirokov, I. Blokhina, A. Dubrovski, A. Terskov, A. Khorovodov, V. Ageev, D. Elovenko, A. Evsukova, V. Adushkina, V. Telnova, D. Postnov, T. Penzel, J. Kurths，睡眠期间脑淋巴引流系统激活及血脑屏障开放的脑电图生物标志物，《计算与结构生物技术杂志》第21卷（2023年）758–768。doi:https://doi.org/10.1016/j.csbj.2022.12.019。[43] F. Chollet等，Keras [在线]（2015年）。[44] S. Haykin，《神经网络：全面基础》，普伦蒂斯·霍尔，1999年。[45] A. S. Glas, J. G. Lijmer, M. H. Prins, G. J. Bonsel, P. M. Bossuyt，诊断优势比：检验性能的单一指标，《临床流行病学杂志》56（11）（2003年）1129–1135。

补充材料

1. 行为睡眠/清醒检测的小波方法

对每个皮层脑电信号 $\mathrm{ECoG}_i(t)$，均以这种复数形式计算连续小波变换（CWT）$W_i(f,t)$

$$W_i(f,t_0) = \sqrt{f}\cdot\int_0^T \mathrm{ECoG}_i(t)\cdot\Psi^*_{f,t_0}\left(\frac{t-t_0}{f}\right)\cdot dt, \qquad (7)$$

其中，t_0 表示小波在时间轴上的位置，“*”表示复共轭，$\Psi(f,t)$为基小波函数。我们使用尺度参数为 2π的标准莫雷小波：

$$\Psi_{f,t_0}(x) = \frac{1}{\sqrt[4]{\pi}}\cdot e^{-1/4}\cdot e^{\imath\cdot 2\pi\cdot x}e^{-\frac{x^2}{2}}, \qquad (8)$$

其中，$\imath$为虚数单位。莫雷小波广泛用于分析生物对象的信号，可在连续小波变换（CWT）（7） [1, 2]中保持频率分辨率与时间分辨率之间的最佳比值。每个一维皮层脑电图信号$\mathrm{ECoG}_i(t)$均可估算出如下二维小波曲面：

$$W_i(f,t_0) = |W_i(f,t_0)|\cdot e^{\imath\cdot\Psi^*_{f,t_0}\left(\frac{t-t_0}{f}\right)}. \qquad (9)$$

该曲面$W_i(f,t_0)$刻画了初始信号$\mathrm{ECoG}_i(t)$在任意时刻t_0、每个频率f上的振荡活动。接下来，我们定义某一频率范围 $\Delta f = [f_{\min};\ f_{\max}]$ 内的积分能量分布 $\left\langle E^{\Delta f}{}_i(t_0)\right\rangle$ 如下：

$$\left\langle E_i^{\Delta f}(t_0)\right\rangle = \int_{f_{\min}}^{f_{\max}} |W_i(f,t_0)|^2\, df. \qquad (10)$$

为检测睡眠和清醒状态，分析了频带 $\mathbf{\Delta f} = \{[2.5;\ 4.5],[5;\ 10],[10.5;\ 12.5],[15;\ 18]\}$ Hz 内积分能量 $\langle E^{\Delta f}{}_i(t)\rangle$ (10) 随时间的变化。在第一阶段，针对每只动物的脑电图记录，分别确定阈值 $\mathrm{Tr}_{1,2,3}$。在第二阶段，以 1/2 s 为时间窗，将频带 $\mathbf{\Delta f}$ 内振荡过程的当前能量特征与阈值 $\mathrm{Tr}_{1,2,3}$ 进行比较，涉及 $\{\mathrm{ECoG}_1(t)$、$\mathrm{ECoG}_2(t)$、$\mathrm{ECoG}_3(t)$。采用不同阈值 $\mathrm{Tr}_{1,2}$的双阈值交叉法确定非快速眼动睡眠状态的起止时间。图 1(f) 展示了该方法的应用。阈值 Tr_3 用于检测具有癫痫活动的大鼠的棘慢波放电。

小波分析的结果与专家评估（包括对视频记录和肌电描记的进一步分析）一致性相当高，灵敏度达到 [92; 99] %。采用这种方法并行化计算时，自动分析一只动物一小时的记录约需 10–15 分钟。

2. 皮层脑电图计算出的μ 和 σ 与行为性睡眠有何关联?

人工评分仍是评估大鼠睡眠-觉醒周期的黄金标准。多导睡眠监测通常包括两个皮层脑电通道和一个肌电图通道（颈部肌肉活动）。第一个皮层脑电通道显示整体皮层活动，而第二个通道负责记录海马活动。海马θ节律是快速眼动睡眠的标志之一（电极植入顶叶或前枕叶皮层上方）。若某一多导睡眠监测时段内，皮层脑电通道呈低振幅活动，且肌电活动超过特定阈值（根据每只动物的情况设定），则判定为清醒。皮层脑电通道中的高振幅活动、δ频率占主导（0.1 – 4 Hz）、睡眠纺锤波周期性出现（睡眠期脑电图中以 12 – 16 Hz频率出现的特定模式），以及低振幅肌肉活动，共同表明处于非快速眼动睡眠。快速眼动睡眠期间，肌电信号振幅最低，两个皮层脑电通道均呈现低振幅活动，而“海马”通道中则有明显的θ节律（4 – 8 Hz）。

行为性睡眠包括非快速眼动睡眠和快速眼动睡眠。在非快速眼动睡眠期间，丘脑皮层网络的δ活动使皮层神经元放电同步。这种同步会导致不同皮层脑电通道中的信号振幅同步升高。随后可以看到这些通道计算所得的均值和标准差同时增大。在快速眼动睡眠或清醒开始后，则会发生相反的过程，计算所得的皮层脑电通道均值和标准差同时降低。此外，与清醒相比，“海马”皮层脑电通道中的信号振幅在快速眼动睡眠期间通常更加稳定（标准差较低，而清醒时较高）。这也可能有助于区分行为性睡眠与清醒状态，并可能与使用一对（皮层脑电图$_2$,皮层脑电图$_3$）略有优势相吻合。还值得注意的是，在我们进行分析的黑暗期 12 小时内，大鼠很少出现快速眼动睡眠（例如，参见 *Simasko* 和 *Mukherjee* [3]）。因此，如果人工神经网络将快速眼动睡眠错误地判定为清醒，我们的评分方法的准确率也不会大幅降低。

3. 真实标注数据

值得注意的是，脑电皮层电图记录中的清醒和行为睡眠片段最初是使用一种基于连续小波变换（CWT， [4]）的算法划分的。因此，将该算法的准确率与其他自维持方法进行比较并不完全恰当。本文提出的算法主要应被视为一种计算简单的技术，可替代需要大量计算资源的连续小波变换。

如 [4]所示，与人工检测相比，自动进行Q 的基于小波的行为性睡眠评估质量处于 84 – 98%范围内，中位数为91%。其中一项任务是利用通过基于小波的方法获得的皮层脑电信号专家标注来训练和测试我们的人工神经网络算法，并将其与训练期间未纳入的其他动物的数据进行比较。

4. 数据归一化问题

如第1.3.1节所述，皮层脑电图实现首先根据公式（1）进行归一化。这有助于稳定皮层脑电信号移动时间窗内计算的局部均值偏差。接下来，将$\mu_i(t_j)$（以及 $\sigma_i(t_j)$）值进行另一种归一化，这是在将其输入人工神经网络之前，将其数值压缩到 [0; 1] 范围内所必需的。

首次皮层脑电图归一化（1）是影响我们算法通用性的“瓶颈”。我们对实验动物开展的研究表明，在其中一只动物的数据上训练的人工神经网络，也能在其他动物的数据上达到可接受的准确率（这些动物的数据未用于训练过程，见图2）。然而，我们仍无法断言，该算法在其他动物的记录上也能达到类似的准确率。某些动物的个体特征、电极安装误差，以及使用不同制造商生产的电极，都可能显著改变信号的统计特征。归一化（1）可能无法补偿这些变化，因此算法误差可能会显著增加。

采用其他方法对皮层脑电信号进行归一化，可以解决这一问题。迄今为止，我们已开展多项实验，所采用的归一化方法并非将每个通道的信号除以其平均值，而是根据不同皮层脑电通道的信号之间的比值进行归一化（原则上，这种方法可以消除或显著减弱信号扩散的影响）。然而，遗憾的是，采用这种除法会使准确率降至60%。寻找一种最佳且通用的数据归一化方法，是未来进一步研究和讨论的课题。

5. 窗口大小和偏移量

采用 $\delta = 10$ 秒的平均窗口时长，主要基于以下原因。大鼠的行为睡眠时长通常为几十秒或几百秒。由于 δ 的选择决定了分类器的时间分辨率，因此窗口时长不应超过约 10 秒。另一方面，过短的 δ 无法很好地计算统计特征。时长约为 1 秒的时间窗包含的点数不多（在每秒 $f_d = 400$ 个采样点的情况下为 400 个），且均值可能受慢波振荡相位的影响。因此，综合考虑上述窗口大小范围的限制，我们通过经验选择了 10 秒的时长，以使分类器的准确率达到最高。

另一个需要考虑的事项是平均窗口的起点。基于小波的方法给出的标注与行为睡眠的出现时间一一对应$t = t_{BS\,start}$。然而，为了得到均值和标准差，需要在特定窗口内计算这些特征。因此，了解平均窗口的起点与初始标注时间$t_{BS\,start}$之间的相关性尤其重要。图5，a)对此作了更详细的展示。如果行为睡眠片段在某个时刻$t_{BS\,start} < t_j$开始，且$t_j - t_{BS\,start} < \delta$，那么，时长为 $\delta -$ 的时间窗部分（$t_{BS\,start} - t_j$）已经落在一个

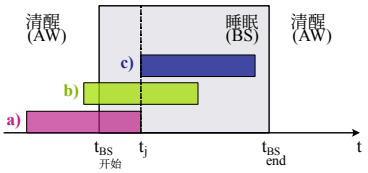


图5：时间窗口偏移的变体。a）从$t_j - \delta$到t_j；b）从$t_j - \delta/2$到$t_j + \delta/2$；c）从t_j到$t_j + \delta$。此处的 AW 和 BS 标记由 CWT 获得。

WS部分。在图5，c)所示的情况下，也会出现类似情形，即行为睡眠片段在时间窗结束之前就已结束。因此，图5，b)中的情况看起来更合理，因为时间窗超出行为睡眠片段的长度不会超过 $\delta/2$。然而，人工神经网络的训练结果表明，当从（$t_j - \delta$）到t_j的时间间隔对应于标注中的时刻$t = t_j$ 时，准确率最高，如图5，a)所示。推测这可以解释为，我们基于皮层脑电图均值和标准差的方法对平均窗口的起点非常敏感，甚至可能能够检测到BS前兆。

参考资料

[1] A. N. Pavlov, A. E. Hramov, A. A. Koronovskii, Y. E. Sitnikova, V. A. Makarov, A. A. Ovchinnikov, 《神经动力学中的小波分析》, Physics-Uspekhi 55 (9) (2012年) 845–875。[2] E. Sitnikova, A. E. Hramov, V. Grubov, A. A. Koronovsky, 《失神癫痫 WAG/Rij 大鼠睡眠纺锤波的时频特征与动力学》, 《脑研究》1543 (2014年) 290–299。[3] S. M. Si masko, S. Mukherjee, 《对大鼠睡眠模式的新颖分析：区分觉醒周期与长时间清醒事件》, Behavioural brain research 196 (2) (2009) 228–236。[4] A. Runnova, M. Zhuravlev, A. Kiselev, R. Ukolov, K. Smirnov, A. Kar- avaev, E. Sitnikova, 《利用多通道皮层脑电图对大鼠行为性睡眠进行基于小波的自动评估》, Sleep and Breath- ing volume 25 (2021年) 2251–2258。