

ČESKÉ VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ

Fakulta elektrotechnická

Katedra teorie obvodů

Studijní program: Lékařská elektronika a bioinformatika

Obor: Zpracování signálů



Algoritmy pro analýzu elektrické aktivity
druhu *Gnathonemus petersii* pod vlivem
psychoaktivních látek

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Vypracovala: Bc. Ivana Chrtková

Vedoucí práce: Ing. Vlastimil Koudelka, Ph.D.

Konzultant: prof. Ing. Roman Čmejla, CSc.

Květen 2023

I. OSOBNÍ A STUDIJNÍ ÚDAJE

Příjmení: **Chrtková** Jméno: **Ivana** Osobní číslo: **487595**
Fakulta/ústav: **Fakulta elektrotechnická**
Zadávající katedra/ústav: **Katedra teorie obvodů**
Studijní program: **Lékařská elektronika a bioinformatika**
Specializace: **Zpracování signálů**

II. ÚDAJE K DIPLOMOVÉ PRÁCI

Název diplomové práce:

Algoritmy pro analýzu elektrické aktivity druhu *Gnathonemus petersii* pod vlivem psychoaktivních látek

Název diplomové práce anglicky:

Algorithms for Analysis of Electric Activity of *Gnathonemus Petersii* Species during Psychoactive Substances Intoxication

Pokyny pro vypracování:

1. Proveďte rešerši metodiky záznamu elektrických signálů druhu *Gnathonemus petersii* a nastudujte v současnosti užívané metody pro vyhodnocení těchto signálů.
2. Navrhněte a implementujte metodu analýzy signálu, která umožní kvantifikaci chování jedince z hlediska jeho elektrické aktivity. Porovnejte signály různých jedinců a proveďte explorativní analýzu inter-individuálních rozdílů.
3. Na základě explorativní analýzy vyberte a implementujte vhodnou metodu pro identifikaci jedince uvnitř akvária se dvěma rybami. Vytvořte testovací dataset a metodu identifikace jedinců statisticky validujte.
4. Implementované algoritmy aplikujte v experimentech in vivo a statisticky vyhodnoťte vliv vybraných farmak na elektrickou aktivitu druhu *Gnathonemus petersii*.

Seznam doporučené literatury:

- [1] Kunze, Peter & Wezstein, Hans-Ulrich. (1988). Apomorphine and haloperidol influence electric behaviour of a mormyrid fish. *Zeitschrift für Naturforschung. C, Journal of biosciences.* 43. 105-7. 10.1515/znc-1988-1-220.
- [2] Wong, Ryan & Hopkins, Carl. (2007). Electrical and behavioral courtship displays in the mormyrid fish *Brienomyrus brachyistius*. *The Journal of experimental biology.* 210. 2244-52. 10.1242/jeb.003509.
- [3] Emde, Gerhard & Amey-Özel, Monique & Engelmann, Jacob & Fetz, Steffen & Folde, Caroline & Hollmann, Michael & Metzen, Michael & Pusch, Roland. (2008). Active electrolocation in *Gnathonemus petersii*: Behaviour, sensory performance, and receptor systems. *Journal of physiology, Paris.* 102. 279-90. 10.1016/j.jphysparis.2008.10.017.
- [4] Baker, Christa & Kohashi, Tsunehiko & Lyons-Warren, Ariel & Ma, Xiaofeng & Carlson, Bruce. (2013). Multiplexed temporal coding of electric communication signals in Mormyrid fishes. *The Journal of experimental biology.* 216. 2365-79. 10.1242/jeb.082289.
- [5] Worm, Martin & Landgraf, Tim & Emde, Gerhard. (2021). Electric signal synchronization as a behavioural strategy to generate social attention in small groups of mormyrid weakly electric fish and a mobile fish robot. *Biological Cybernetics.* 115. 10.1007/s00422-021-00892-8.

Jméno a pracoviště vedoucí(ho) diplomové práce:

Ing. Vlastimil Koudelka, Ph.D. Národní ústav duševního zdraví, Klecany

Jméno a pracoviště druhé(ho) vedoucí(ho) nebo konzultanta(ky) diplomové práce:

prof. Ing. Roman Čmejla, CSc. katedra teorie obvodů FEL

Datum zadání diplomové práce: **30.01.2023** Termín odevzdání diplomové práce: **26.05.2023**

Platnost zadání diplomové práce: **22.09.2024**

III. PŘEVZETÍ ZADÁNÍ

Diplomantka bere na vědomí, že je povinna vypracovat diplomovou práci samostatně, bez cizí pomoci, s výjimkou poskytnutých konzultací. Seznam použité literatury, jiných pramenů a jmen konzultantů je třeba uvést v diplomové práci.

Datum převzetí zadání

Podpis studentky

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem předloženou práci vypracovala samostatně a že jsem uvedla veškeré použité informační zdroje v souladu s Metodickým pokynem o dodržování etických principů při přípravě vysokoškolských závěrečných prací.

V Praze dne

.....
Bc. Ivana Chrtková

Poděkování

Ráda bych poděkovala Ing. Vlastimilu Koudelkovi, PhD. a prof. Ing. Romanu Čmejlovi, CSc. za cenné rady a vedení této diplomové práce. Mé poděkování patří rovněž Mgr. Veronice Langové, prof. MUDr. Jiřímu Horáčkovi, PhD., FCMA a celému týmu z Národního ústavu duševního zdraví za zprostředkování výzkumu.

Bc. Ivana Chrtková

Abstrakt

Gnathonemus petersii, českým názvem rypoun Petersův, dokáže generovat elektrické pulzy (*electric organ discharge*, EOD), které mu slouží ke komunikaci a k orientaci v prostoru. V současné době je zkoumán jako vhodný druh pro nový animální model schizofrenie. Oproti ostatním modelům přináší rypoun Petersův možnost analýzy jeho elektrické aktivity, a tím obohacuje model o hodnocení elektrokomunikace.

Pro výzkum elektrokomunikace je nutné nalézt efektivní způsob separace signálů od více jedinců. V této práci bylo porovnáváno několik variant algoritmů založených na učení s učitelem i bez učitele. Bylo zjištěno, že při reprezentaci EOD pomocí spojitě vlnkové transformace je zachycena vysoká míra interindividuální variability. Časově-frekvenční reprezentace EOD pak umožnila nalézt účinnou metodu (99.4% přesnost klasifikace) identifikace dvou jedinců v jednom akváriu, která je založena na učení bez učitele a nevyžaduje tak tvorbu trénovací množiny. Tato výhoda představuje usnadnění postupu provádění experimentu, ale hlavně zmírnění stresové zátěže pro zkoumané jedince.

Součástí této práce bylo také vyhodnocení vlivu psychoaktivní substance (ketamin) a antipsychotika (haloperidol) na parametry EOD rypouna Petersova. Po intoxikaci ketaminem byl nalezen signifikantní vliv této substance na změnu parametrů časově-frekvenční reprezentace EOD, což se projevuje zpomalením/protažením pulzu. Dosažené výsledky ukazují, že efekt ketaminu na elektrickou aktivitu rypouna lze tedy pozorovat už na úrovni jednotlivých EOD. Tento poznatek navazuje na recentní studii, v níž se prokázal vliv ketaminu na elektrickou aktivitu rypouna Petersova, kvantifikovanou na základě počtu EOD. Vyvolané symptomy se však nepodařilo normalizovat haloperidolem a pro prokázání prediktivní validity modelu je proto potřeba zvolit jiný postup analýzy nebo vyzkoušet více dávek a typů antipsychotika.

Klíčová slova: rypoun Petersův, EOD, schizofrenie, strojové učení, číslicové zpracování signálů

Abstract

Gnathonemus petersii (*G. petersii*) generates electrical pulses (*electric organ discharge*, EOD) which are used for communication and spatial orientation. Currently, it is being investigated as a suitable species for a novel animal model of schizophrenia. Unlike other models, *G. petersii* offers the opportunity to analyze its electric activity, thereby enriching the model with the evaluation of electrocommunication.

For electrocommunication research, it is necessary to find an efficient way to separate signals from multiple individuals. In this thesis, several types of supervised and unsupervised learning algorithms were compared. The results demonstrated that time-frequency representation of the EOD using continuous wavelet transform captures a high degree of interindividual variability. The time-frequency representation of the EOD then enabled to discover the effective method (99.4% accuracy) for identifying two individuals in the same aquarium, based on unsupervised learning and thus not requiring the creation of a training set. This advantage represents a simplification of the experimental procedure and, most importantly, a reduction of the stress imposed on the individuals under study.

The aim of this thesis was also evaluation of the influence of the psychoactive substance (ketamine) and the antipsychotic (haloperidol) on the parameters of the EOD. After intoxication with ketamine, a significant effect of this substance on the time-frequency representation parameters of the EOD was found, manifesting as deceleration/prolongation of the EOD. The results indicate that the effect of ketamine on the electric activity can be already observed at the single EOD level. This observation follows a recent study that demonstrated the effect of ketamine on the electric activity of *G. petersii*, quantified by measuring the number of EODs. However, the induced symptoms could not be normalized by haloperidol, suggesting the need for alternative analysis approaches or the exploration of multiple doses and types of antipsychotics to confirm the predictive validity of the model.

Keywords: *Gnathonemus petersii*, EOD, schizophrenia, machine learning, digital signal processing

Obsah

Seznam použitých zkratk	xi
Seznam obrázků	xii
1 Úvod	1
1.1 Motivace nového animálního modelu	2
1.1.1 Modely schizofrenie	2
1.1.2 Aktuální výzkum	3
1.2 Charakteristika druhu <i>Gnathonemus petersii</i>	4
1.2.1 Parametry EOD	4
1.2.2 Elektrolokace	5
1.2.3 Elektrokomunikace	6
1.3 Problematika separace signálů	7
2 Metodika	9
2.1 Měření	9
2.2 Předzpracování signálu	11
2.3 Reprezentace EOD	11
2.3.1 Časová a frekvenční oblast	11
2.3.2 Časově-frekvenční oblast	12
2.3.3 Parametrizace EOD	13
2.4 Redukce dimenze	13
2.4.1 PCA	13
2.4.2 t-SNE	15
2.5 Klasifikace	16
2.5.1 Korelační analýza	16
2.5.2 Support Vector Machine	17
2.5.3 K-Means	19
2.5.4 DBSCAN	21
2.6 Validace	22
2.6.1 Validací metriky	22
2.6.2 Integrace elektrického signálu do videozáznamu formou sonifikace	22
2.7 Statistika	23
3 Výsledky	25
3.1 Analýza kontrolních měření	25
3.2 Porovnání klasifikačních metod pro separaci signálů	25
3.2.1 Učení s učitelem	26
3.2.2 Učení bez učitele	28
3.2.3 Porovnání algoritmů učení s učitelem a bez učitele	31
3.3 Vyhodnocení vlivu psychofarmak	32
4 Diskuze	37

5 Závěr	41
Bibliografie	43
Přílohy	47
A Sonifikace elektrického signálu	47

Seznam použitých zkratek

ACC	Přesnost klasifikace (<i>Accuracy</i>)
CWT	Continuous Wavelet Transform
DBSCAN	Density-Based Spatial Clustering of Applications with Noise
EOD	Electric Organ Discharge
FFT	Fast Fourier Transform
IPI	Interpulzní intervaly (<i>Interpulse Intervals</i>)
MCC	Matthewsův korelační koeficient (<i>Matthews's Correlation Coefficient</i>)
PCA	Principal Component Analysis
SVM	Support Vector Machine
t-SNE	t-Distributed Stochastic Neighbor Embedding

Seznam obrázků

1.1	Efekt ketaminu na lokomoční a elektrickou aktivitu rypona Petersova	3
1.2	Typický EOD a jeho modifikace vlivem okolních objektů	5
1.3	Barvami kódovaná 3D reprezentace elektrického obrazu	6
2.1	Měřicí aparatura	9
2.2	Ukázka signálu a jeho detailu	11
2.3	Znázornění reprezentací EOD	12
2.4	Znázornění parametrizace scalogramu	14
2.5	Optimální rozhodovací hranice pomocí algoritmu SVM	17
2.6	Příklad estimace parametru ε pro algoritmus DBSCAN	21
3.1	Algoritmus t-SNE aplikovaný na 3 různé reprezentace EOD	26
3.2	Grafy typu boxplot ilustrující rozdělení hodnot jednotlivých metrik u algoritmů učení s učitelem	27
3.3	Grafy typu boxplot ilustrující rozdělení hodnot jednotlivých metrik u algoritmů učení bez učitele	29
3.4	Porovnání algoritmů PCA & DBSCAN a t-SNE & DBSCAN	30
3.5	Porovnání algoritmů t-SNE & K-Means a t-SNE & DBSCAN	31
3.6	Grafy typu boxplot ilustrující rozdělení hodnot jednotlivých metrik u algoritmu SVM a algoritmu t-SNE & DBSCAN	31
3.7	Porovnání klasifikace EOD pomocí algoritmu SVM a algoritmu t-SNE & DBSCAN	32
3.8	Graf typu boxplot a graf paralelních souřadnic pro parametr F_{MAX}	33
3.9	Graf typu boxplot a graf paralelních souřadnic pro parametr HFS	34
3.10	Graf typu boxplot a graf paralelních souřadnic pro parametr LFS	34
3.11	Graf typu boxplot a graf paralelních souřadnic pro parametr T_1S	34
3.12	Graf typu boxplot a graf paralelních souřadnic pro parametr T_2S	35
3.13	Graf typu boxplot a graf paralelních souřadnic pro parametr HFS/LFS	35
3.14	Vynesení závislosti parametru HFS/LFS na parametru T_S	36
3.15	Efekt ketaminu na tvar EOD	36

1 Úvod

Gnathonemus petersii (česky rypoun Petersův) patří do skupiny tzv. slabě elektrických ryb, které dokáží produkovat elektrické pulzy (*electric organ discharge*, EOD) sloužící k elektrolokaci a elektrokomunikaci. Tyto EOD rypoun generuje pomocí elektrického orgánu umístěného v jejich ocase. Díky své vysoké inteligenci, rozmanité škále vzorců sociálního chování a sofistikované formě komunikace se rypoun Petersův stává vhodným kandidátem pro nový animální model schizofrenie a výzkum efektivních způsobů její léčby. Pro vyhodnocení prediktivní validity modelu je zapotřebí hlubší prozkoumání vzorců chování v závislosti na jeho elektrické aktivitě a vyhodnocení změn této aktivity po navození symptomů onemocnění. [1]

Tradiční animální modely neumožňují modelování verbální komponenty symptomů, a proto by analýza komunikace rypounů prostřednictvím elektrických pulzů mohla být pro další vývoj významným přínosem. [1, 2] V rámci výzkumu elektrokomunikace je však nezbytné nalézt efektivní způsob separace signálů získaných ze simultánního nahrávání elektrické aktivity více jedinců. S rozvojem metod strojového učení přibývá automatizovaných technik, které tento problém řeší s vysokou přesností. Tyto přístupy jsou však většinou časově náročné nebo jsou uplatnitelné pouze za specifických podmínek. Prvním cílem této diplomové práce bude proto nalézt vhodný způsob reprezentace EOD, který bude zachycovat vysokou míru variability mezi tvary pulzů jedinců a dopomůže tak k identifikaci signálů vzniklých při skupinových experimentech.

Dosavadní výzkum ukazuje, že intoxikace určitými psychofarmaky ovlivňuje chování rypouna Petersova i jeho elektrickou aktivitu. [1, 3] Elektrická aktivita však byla doposud vyhodnocována z makroskopického pohledu na signál, neboť byla pozornost zaměřena pouze na celkovou distribuci EOD v signálu a její odchylky při podání daných substancí. Druhým cílem této diplomové je proto navázat na aktuální výzkum a vyhodnotit mikroskopické modifikace tvarů v rámci jednotlivých EOD jedinců pod vlivem psychofarmak. Konkrétně bude zkoumán vliv psychoaktivní substance (ketamin), která by měla navodit příznaky podobné projevům schizofrenie a vliv antipsychotika (haloperidol), které by mělo symptomy normalizovat. Dosažené výsledky přispějí k prokázání validity nového animálního modelu a zároveň rozšíří poznatky o elektrické aktivitě rypouna Petersova.

1.1 Motivace nového animálního modelu

Schizofrenie je vážné psychické onemocnění, které postihuje až 1 % světové populace. [4] Je charakterizované řadou pozitivních, negativních a kognitivních příznaků, které dosud nejsou zcela prozkoumány. Vývoj animálních modelů schizofrenie pro výzkum efektivních léčiv, která tyto symptomy normalizují, je proto klíčový. Pozitivní příznaky zahrnují halucinace, bludy a neorganizovanou řeč, zatímco mezi negativní příznaky patří emoční oploštělost, sociální stažení či abulie (nedostatek vůle). Do kognitivních příznaků pak například řadíme špatnou koncentraci a poruchy paměti. [1, 5]

1.1.1 Modely schizofrenie

Tradiční modely schizofrenie jsou založeny na dysfunkci dopaminergního systému. Tato dopaminergní teorie byla formulována na základě pozorování, že typická antipsychotika jsou schopna zmírnit zejména pozitivní projevy schizofrenie blokadou dopaminergních receptorů. [6] Ačkoliv dopamin hraje klíčovou roli v našem chápání tohoto onemocnění, objevuje se stále více nedostatků tohoto modelu. Ukazuje se, že blokáda dopaminu není účinnou léčbou negativních a kognitivních symptomů a u významného podílu pacientů se neprojevuje ani zlepšením těch pozitivních. [5] Jedny z alternativních modelů jsou založeny na pozorování, že antagonisté glutamátergických receptorů jako je například ketamin nebo fencyklidin vyvolávají psychotické příznaky a neurokognitivní poruchy, které jsou podobné symptomům schizofrenie. Některé tyto příznaky mohou být úspěšně normalizovány agonisty glutamátergických receptorů. [1, 4]

Přesné neurobiologické mechanismy způsobující symptomy schizofrenie nejsou tedy zcela známy. Tyto nedostatky informací omezují vývoj účinných léčiv symptomů, čemuž by mohl dopomoci vznik nového animálního modelu s vysokou prediktivní validitou. Dosavadní animální modely založené zejména na hlodavcích (myši a potkani) a rybách (dánio pruhované) neumožňují simulaci verbálních projevů schizofrenie jako je například neorganizovaná řeč, a tak je jejich použití limitováno na navození příznaků neverbálních. Z pozitivních symptomů je to například hyperlokomoce, trhané pohyby a stereotypie, z negativních pak snížená sociální interakce a redukce explorativního chování. Rypoun Petersův by se proto mohl stát vhodným modelovým organismem vzhledem k jeho rozvinuté formě komunikace prostřednictvím EOD. [1, 2]

Myšlenka použití rypouna Petersova jako modelového organismu pro výzkum schizofrenie pramení z experimentu Kunzeho a Wezsteina z roku 1987 [3], kteří zkoumali zapojení dopaminergního systému při neurální kontrole elektrického orgánu. [1, 3] Jelikož se elektrický orgán vyvinul ze specializovaných svalových buněk, bylo přirozené zkoumat právě vliv dopaminergního systému, který hraje klíčovou roli při regulaci motorické aktivity u savců. Pro prokázání této závislosti, autoři analyzovali vliv apomorfinu (agonista dopaminu) a haloperidolu (antagonista dopaminu) na elektrickou aktivitu a lokomoci rypounů. Elektrickou aktivitu charakterizovali pomocí interpulzních intervalů (*interpulse intervals*, IPI), respektive pomocí distribuce těchto intervalů po dobu nahrávání. Výsledky ukázaly, že distribuce IPI je signifikantně posunuta směrem ke kratším intervalům po podání apomorfinu a směrem k delším intervalům po podání haloperidolu. Důležitým poznatkem je také zjištění, že

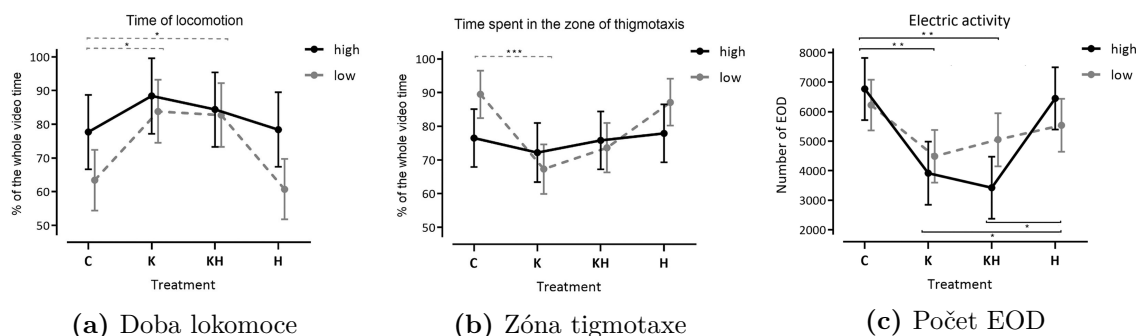
popsaný efekt apomorfinu byl antagonizován podáním haloperidolu. Obě substance měly rovněž vliv na mírné zvýšení lokomoční aktivity. [1, 3]

1.1.2 Aktuální výzkum

V současné době je rypoun Petersův zkoumán jako modelový organismus pro glutamátergní teorii schizofrenie. Langová a kol. [1] zkoumali v nedávné studii vliv ketaminu a haloperidolu na chování a elektrickou aktivitu 24 rypounů. Behaviorální charakteristiky byly vyjádřeny pomocí lokomoce a tigmotaxe (držení se u stěn). Lokomoce byla měřena jako procento času, po který ryba byla aktivní (doba lokomoce) a jako celková uražená vzdálenost. U tigmotaxe byly charakteristiky stejné, avšak byly měřeny pouze v zóně, která se nacházela v definované vzdálenosti od stěn (konkrétně v rozmezí 1.5 délky napnutých prsních ploutví daného jednotlivce). Elektrická aktivita byla kvantifikována na základě počtu vyslaných EOD. [1]

Experimentováno bylo s nízkou (20 mg/l) a vysokou (40 mg/l) dávkou ketaminu a jednou dávkou haloperidolu (0.041 mg/l). Ryby byly rozděleny do dvou oddělených sérií v závislosti na množství podaného ketaminu. Zkoumán byl jak vliv látek podaných samostatně, tak i efekt po podání obou látek zároveň. [1]

Ukázalo se, že intoxikace nízkou dávkou ketaminu má za následek zvýšenou lokomoci u většiny jedinců. Tento projev však nebyl normalizován podáním haloperidolu (obrázek 1.1a). Podání nízké dávky ketaminu se také projevvalo redukcí času stráveného v zóně tigmotaxe (obrázek 1.1b). Při podání vysoké dávky ketaminu nebyl v behaviorálních charakteristikách zaznamenán signifikantní rozdíl. Vysoká dávka ketaminu však zapříčinila významné snížení počtu vyslaných EOD během záznamu, přičemž efekt rovněž nebyl normalizován podáním haloperidolu (obrázek 1.1c). [1]



Obrázek 1.1: Efekt ketaminu na lokomoční a elektrickou aktivitu rypouna Petersova – Grafy znázorňují rozdíly mezi skupinami v rámci měření s nízkou (šedá, 20 mg/l) a vysokou (černá, 40 mg/l) dávkou ketaminu. Porovnání proběhlo mezi kontrolní skupinou (C) a skupinami intoxikovanými ketaminem (K), haloperidolem (H) a kombinací ketaminu a haloperidolu (KH). (a) Doba lokomoce – procento času, po který ryba byla aktivní, (b) Zóna tigmotaxe – procento času, po který byla ryba aktivní v zóně tigmotaxe, (c) Počet EOD. Hvězdičky označují signifikantní p -hodnoty: $p < .05$ (*), $p < .01$ (**), $p < .001$ (***) . Převzato z [1]

Pozorovaná hyperlokomoce navozená nízkou dávkou ketaminu indikuje úspěšné navození pozitivních symptomů schizofrenie, jako je tomu u dosavadních animálních modelů založených na hlodavcích [7] a daniích pruhovaných [8]. Hyperlokomoce a snížená tigmotaxe vyvolané nízkou dávkou ketaminu indikují, že intoxikovaná ryba vykonávala více náhodných a chaotických pohybů spojených s poruchou prostorové

orientace. Oproti tradičním modelům přinesl rypoun Petersův možnost analýzy elektrické aktivity, která je rovněž ovlivněná ketaminem, tentokrát však pouze vysokou dávkou této látky. [1]

Z experimentu plyne, že efekt ketaminu je závislý na podaném množství, přičemž nízká dávka ketaminu se zdá být účinnější pro navození pozitivních symptomů schizofrenie. Symptomy však nebyly normalizovány haloperidolem a proto zatím nebyla prokázána prediktivní validita modelu. Jako hlavní limitaci uvádějí autoři použití pouze jedné dávky antipsychotika, jelikož se zvolená dávka ukázala být neefektivní v léčbě vyvolaných projevů. [1]

1.2 Charakteristika druhu *Gnathonemus petersii*

Přirozeným prostředím rypouna Petersova jsou kalné řeky v Africe, ve kterých vyhledává potravu převážně v noci. Tyto ztížené podmínky vizuální orientace byly příčinou rozvinutí schopnosti lokace a komunikace prostřednictvím elektrických pulzů (EOD), které generuje pomocí elektrického orgánu ve svém ocase. Elektrický orgán je tvořen elektrocyty, což jsou specializované buňky, jejichž synchronní excitace má za následek produkci EOD a vytvoření 3D elektrického pole kolem rypouna. [9, 10, 11]

Pro následnou detekci elektrického pole a jeho změn využívají rypouni tři typy elektroreceptivních orgánů: mormyromasty pro aktivní elektrolokaci, ampulární orgány pro pasivní elektrolokaci a knollenorgány pro elektrokomunikaci. Vysokou koncentraci elektroreceptorů můžeme u rypouna Petersova nalézt na jeho prodloužené pohyblivé bradě (*Schnauzenorgan*), která hraje významnou roli při vyhledávání potravy a prozkoumávání okolí. [11, 12]

1.2.1 Parametry EOD

Charakteristiky EOD slabě elektrických ryb jsou druhově specifické, přičemž u některých druhů lze nalézt variabilitu vlastností pulzu v závislosti na pohlaví jedinců či jejich hierarchickém postavení. Rypoun Petersův patří do skupiny generující EOD pulzního charakteru s přibližnou dobou trvání 200 – 400 μ s. Frekvence vysílání se pohybuje mezi 1 – 100 Hz a velmi závisí na behaviorálním kontextu. [11, 13, 14] Pulz se popisuje jako bifázický a je složen z menšího kladného a většího záporného segmentu (obrázek 1.2a). [15] Sexuální dimorfismus se u rypouna Petersova projevuje pouze během období dešťů, kdy nastává doba páření. Samci v tomto časovém úseku vykazovali zpravidla delší EOD než samice. [16]

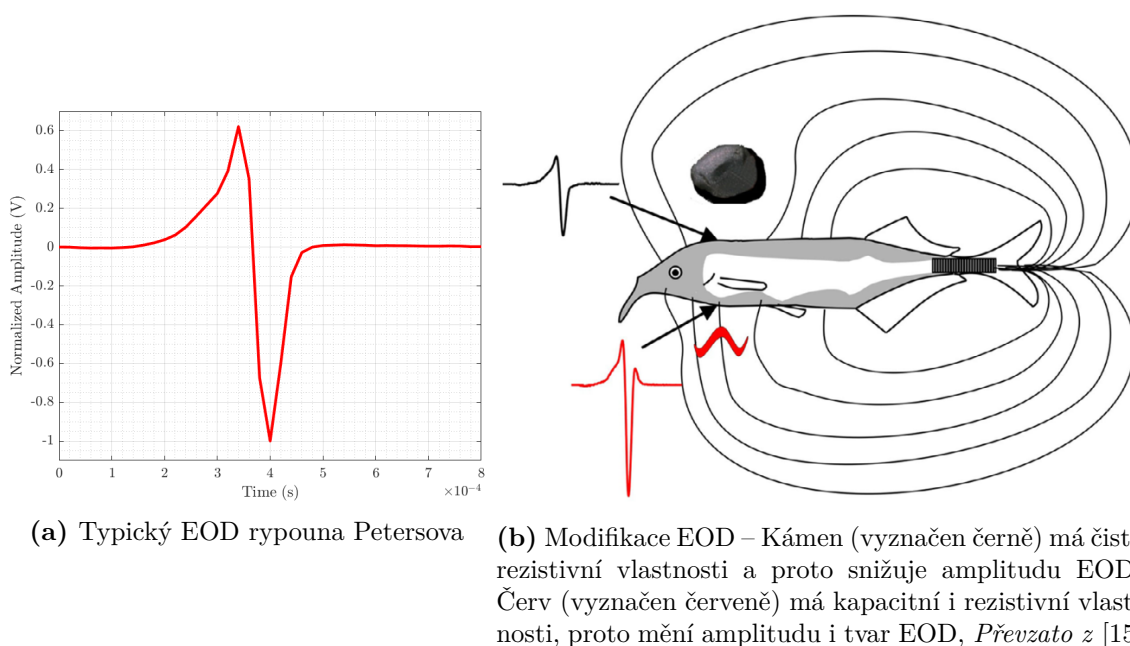
Vysílané pulzy je možné jednoduše nahrávat pomocí elektrod umístěných v akváriu. Polarita a amplituda signálu je pak závislá na orientaci a poloze jedince vůči elektrodám.

Na základě odlišných charakteristik EOD lze rozpoznávat jednotlivé druhy slabě elektrických ryb pomocí metod zpracování signálů a strojového učení. Signifikantní rozdíly umožňující úspěšnou klasifikaci lze také nalézt v rámci jednoho druhu. Za příznaky popisující jednotlivé EOD je možné volit charakteristiky z následujících oblastí [17, 18]:

1. Časová oblast – například doba trvání nebo amplituda jednotlivých fází
2. Spektrální oblast – například maximum výkonové spektrální hustoty nebo poměr amplitud harmonických frekvencí

3. Časově-frekvenční oblast – například příznaky vzniklé krátkodobou Fourierovou transformací nebo vlnkovou transformací

Ve studii zabývající se klasifikací pěti druhů slabě elektrických ryb z rodu *Gymnotus* autoři porovnávali přesnost klasifikace příznaků získaných ze tří výše uvedených oblastí. Ukazuje se, že reprezentace EOD v časově-frekvenční oblasti (konkrétně s příznaky získanými pomocí diskretní vlnkové transformace) vedla na nejvyšší přesnost klasifikace druhů. [19] Nutno podotknout, že veškeré signály z výše uvedených studií vznikaly při nahrávání samostatných jedinců v akváriu a nebylo tedy potřeba signály separovat.

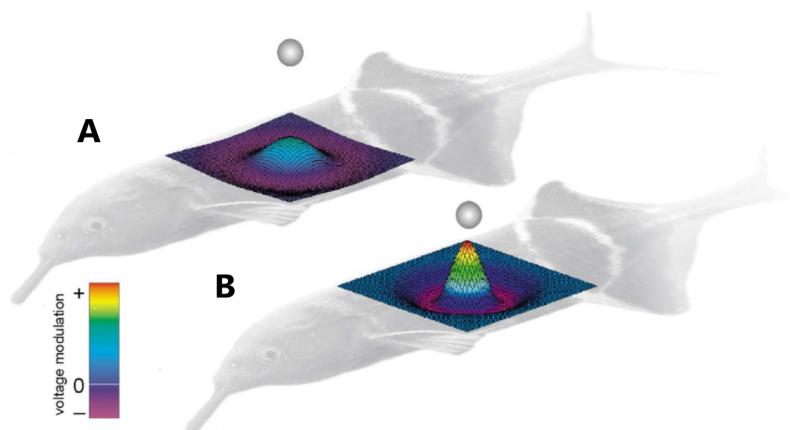


Obrázek 1.2: Typický EOD a jeho modifikace vlivem okolních objektů

1.2.2 Elektrolokace

Rypounem vytvořené elektrické pole je modulováno přítomností objektů, které se svou impedancí odlišují od okolní vody. Tyto distorze generovaného pole vedou na změny toku transepidermálního elektrického proudu, čímž vzniká tzv. elektrický obraz objektu na odpovídající oblasti povrchu kůže rypouna. Typický elektrický obraz má prostorový profil typu *center-surround* (Mexican hat) a závisí na mnoha parametrech jako je například materiál, velikost, tvar a vzdálenost objektu. Vodivý objekt vyprodukuje obraz s velkým středovým regionem, ve kterém lokální amplituda EOD narůstá, obklopený oblastí, ve které EOD amplituda klesá. Obraz nevodivého předmětu má charakteristiku opačnou – ve středu amplituda EOD roste, zatímco v okolních oblastech lehce narůstá. Pomocí změny amplitudy EOD dokáže tedy rypoun analyzovat rezistivní vlastnosti objektů. 3D reprezentace elektrického obrazu sférického objektu je znázorněna na obrázku 1.3. [20, 21]

Popsaný proces detekce objektů pomocí sledování změn vlastních vyslaných EOD se nazývá aktivní elektrolokace. Během aktivní elektrolokace jsou EOD vyslané rypounem detekovány pomocí elektroreceptivních orgánů, které nazýváme mormyromasty. Každý mormyromast obsahuje dva typy receptivních buněk – buňky typu



Obrázek 1.3: Barvami kódovaná 3D reprezentace elektrického obrazu sférického objektu. Na dolním obrázku (B) je objekt blíže kůži rypona, než na obrázku horním (A). Změna amplitudy signálu je barevně kódována podle vyobrazené stupnice. *Převzato z [20].*

A (*A-cells*) a buňky typu B (*B-cells*). Oba typy buněk reagují na změny amplitudy EOD, ale pouze receptory typu B reagují na zkreslení tvaru vlny. Porovnáním vstupů obou typů receptorů v jednom mormyromastu tak může rypon detekovat mimo objektů s rezistivními vlastnostmi i objekty s kapacitními vlastnostmi, které vyvolávají jak změny amplitudy, tak modifikace tvaru EOD (obrázek 1.2b). [12, 22]

Kromě mormyromastů využívají ryponi k elektrolokaci i ampulární orgány, které jsou citlivé na nízko-frekvenční signály. Tyto orgány se uplatňují při pasivní elektrolokaci, kdy jedinec detekuje elektrické pole okolního prostředí, které je generováno například živoucími organismy ve vodě. [10]

1.2.3 Elektrokomunikace

Při elektrokomunikaci ryponů hrají kromě tvaru EOD významnou roli i tzv. sekvence interpulzních intervalů (IPI), což jsou temporální vzorce, v rámci kterých jsou jednotlivé EOD vysílány. Struktury sekvencí IPI se mění v závislosti na behaviorálním kontextu, a proto by správná interpretace struktury vysílaných sekvencí mohla přispět například k lepšímu porozumění kódování informací o stimulech v lidském mozku pomocí neuronů. [23]

Významnost temporálního uspořádání EOD byla prokázána experimentem, ve kterém autoři vysílali jedinci předem nahraný signál sekvence IPI. Rypon se častěji přibližoval k elektrodě, která vysílala naturální sekvence IPI než k elektrodě vysílající randomizované sekvence totožných IPI. Na základě této reakce lze usuzovat, že podstatné množství informace nese i přesné uspořádání jednotlivých IPI a ne jen jejich celková distribuce v signálu. [23, 24] Rovněž byl pozorován rozdíl mezi projevy agrese vůči elektrodě vysílající sekvence IPI získané od útočícího jedince a sekvence IPI nahrané za klidových podmínek. [23, 25]

Při interakci více jedinců může docházet k interferenci jejich EOD vlivem podobné frekvence vysílání. Tento jev nazýváme *jamming* a výrazně narušuje schopnost jedince používat vlastní EOD pro aktivní elektrolokaci. Jedinci pak často snižují risk současného pálení pomocí tzv. *echo-response*, která snižuje pravděpodobnost kolizí pulzů. Při tomto vzorci komunikace reaguje jedinec na EOD druhého jedince s určitou latencí (přibližně 12 ms) ve chvílích, kdy druhý jedinec pravděpodobně vysílat nebude. [13, 26, 27]

1.3 Problematika separace signálů

Analýza signálů získaných od více než jednoho jedince je stále náročnou úlohou, neboť jsou nahané EOD závislé na poloze a orientaci jedince vzhledem k elektrodám. Rozvojem metod strojového učení však v poslední době přibývá algoritmů, které mají potenciál tento problém řešit s vysokou úspěšností. V minulosti byla identifikace jednotlivých EOD od více jedinců založena převážně na neautomatizovaných metodách, které vedly na manuální separaci EOD pomocí závislosti amplitudy a polaritý signálu na poloze jedince v akváriu. Tyto metody jsou však velmi časově náročné, a proto se stávají neefektivními pro analýzu vysokého počtu záznamů. [28]

Jedna z používaných automatizovaných metod je založena na korelační analýze. V tomto přístupu je z nahrávek dvojic extrahován jeden EOD od každého jedince, který následně slouží jako vzor pro křížovou korelaci s ostatními EOD v signálu. Pulz je pak přiřazen jedinci, jehož vzor dosahoval větší maximální hodnoty korelace se zkoumaným EOD. Tato metoda je však přesná pouze pokud mají jedinci EOD s jasně odlišnou délkou trvání. [29]

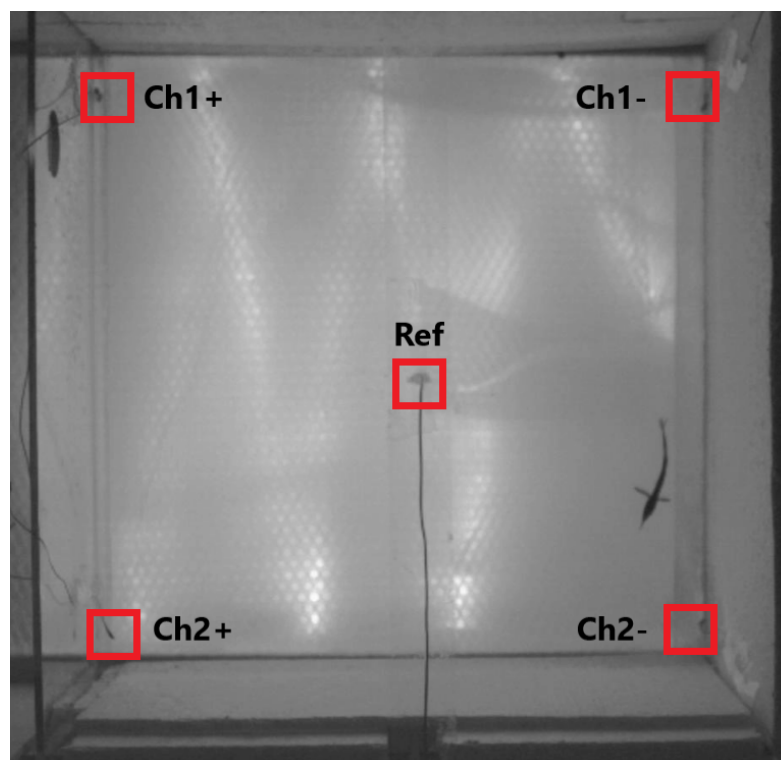
Mnohem lepších výsledků dosahuje metoda založená na klasifikaci EOD pomocí algoritmu SVM (Support Vector Machine), publikovaná Matiasem a kol. [28]. V prvním kroku autoři metody nejprve vytvořili trénovací dataset z pulzů jedinců nahrávaných samostatně, přičemž EOD reprezentovali vektorem vzniklým pomocí koeficientů Fourierovy a vlnkové transformace (konkrétně *dual-tree complex wavelet packet transform*). Pro extrakci příznaků byly spočteny histogramy získaných vektorů a pro následnou klasifikaci bylo zvoleno 20 komponent signálu, které odpovídaly nejméně se překrývajícím částem histogramů. Pro ověření přesnosti algoritmu provedli autoři experimenty, kdy byly kolem každé ryby připevněny přídavné elektrody, které zaznamenávali jejich elektrickou aktivitu spolu s pevně uchycenými elektrodami v akváriu. Pro udržení elektrod v blízkosti jedinců byly dráty elektrod propleteny do nylonové sítě, která byla připevněna kolem ryb. Při těchto testech byl pohyb ryb poměrně omezený, a tak bylo nutné jedince manuálně přemísťovat po akváriu, aby byl simulován jejich volný pohyb. Dle získaných výsledků algoritmus korektně přiřadil EOD k odpovídajícím jedincům pouze s dvěma chybnými klasifikacemi na milión EOD. Při experimentu bylo měření prováděno na jedincích z rodu *Gymnotus*. [28]

2 Metodika

Tato kapitola se bude zabývat způsobem získávání dat a postupy jejich zpracování a vyhodnocení. Analýza signálů proběhla v prostředí MATLAB (verze R2022a) [30] a statistické výpočty v programovacím jazyce R (verze 4.1.1) [31].

2.1 Měření

Měřicí aparatura byla sestavena Ing. Janem Hubeným z Národního ústavu duševního zdraví. EOD byly nahrávány pomocí Ag elektrod, původně určených pro měření EEG. Elektrody byly umístěny v experimentálním akváriu 2 cm pod povrchem vody – čtyři aktivní v rozích experimentálního akvária a referenční v jeho středu (obrázek 2.1). Pro zapojení elektrod byla využita bipolární montáž, tudíž byly k dispozici 2 měřící kanály. Nasnímané signály byly následně zesíleny pomocí instrumentálního zesilovače se zesílením 100 a zpracovány 16-bitovým A/D převodníkem se vzorkovací frekvencí 50 kHz pro každý kanál (USB-6003 National Instruments DAQ system data acquisition unit). Systém byl pro zaznamenání videa synchronizován s infra-červenou kamerou. [1]



Obrázek 2.1: Měřicí aparatura – Červeně je v obrázku vyznačeno 5 použitých elektrod: referenční (Ref), dvě pro první kanál (Ch1+, Ch1-) a dvě pro druhý kanál (Ch2+, Ch2-).

Veškeré záznamy byly pořízeny na Přírodovědecké fakultě UK Mgr. Veronikou Langovou. Měření byla prováděna na subadultních jedincích z rodu *Gnathonemus petersii* a probíhala za tmy. Experimentální akvárium mělo objem 126 l a po dobu měření obsahovalo 30 l vody. Vodivost vody byla $258 \pm 17 \mu\text{S}$ a její teplota $24.6 \pm 0.6 \text{ }^\circ\text{C}$. Pro snížení stresové zátěže a napodobení přirozeného prostředí ryponů byla hladina experimentálního akvária osvětlena červeným světlem (10 lx). Z každé elektronahrávky, byla vynechána první minuta záznamu a pro analýzu byl následně použit navazující 6-ti minutový segment. Záznamy vznikaly od roku 2020 do roku 2023. Pro analýzu signálů byla použita data vzniklá ze tří nezávislých experimentů:

1. Kontrolní měření

Pro analýzu základních charakteristik signálů a interindividuálních rozdílů EOD jedinců bylo použito 24 kontrolních nahrávek jedinců (bez intoxikace).

2. Měření dvojic

Pro separaci signálů dvou jedinců v jednu akváriu bylo nejprve nahráno 5 jedinců samostatně a následně proběhlo měření se všemi možnými kombinacemi dvojic daných jedinců, čímž vzniklo dalších 10 nahrávek. Veškerá měření z tohoto experimentu proběhla na neintoxikovaných jedincích.

3. Měření pod vlivem psychofarmak

Experimentu s psychofarmaky se zúčastnilo 16 jedinců. Jednalo se o design latinských čtverců [32], přičemž mezi měřeními byl vždy minimálně 1 volný den. Každý jedinec byl tedy postupně intoxikován všemi zkoumanými substancemi a prošel i kontrolním měřením. Jako psychofarmaka byly použity ketamin a haloperidol, přičemž haloperidol byl použit v nízké (L, *low dose*) a vysoké (H, *high dose*) dávce. Celkově všichni jedinci prošli následujícími měřeními:

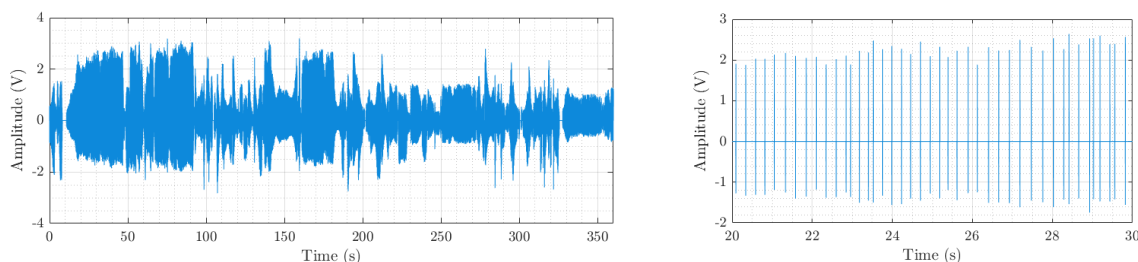
- (a) Kontrolní měření (bez intoxikace) – skupina C
- (b) Nízká dávka haloperidolu (0.041 mg/l) – skupina H (L)
- (c) Vysoká dávka haloperidolu (0.164 mg/l) – skupina H (H)
- (d) Ketamin (40 mg/l) – skupina K
- (e) Ketamin a nízká dávka haloperidolu – skupina K-H (L)
- (f) Ketamin a vysoká dávka haloperidolu – skupina K-H (H)

Před experimentem byli jedinci přemístěni do pomocných akvárií (126 l), ve kterých zůstávali individuálně po celou dobu experimentu. Intoxikace probíhala umístěním jedince do menšího akvária (2 l), které obsahovalo danou substanci nebo jen čistou vodu (v případě kontrolního měření). V tomto akváriu jedinec zůstal 15 minut a následně byl přemístěn do experimentálního akvária, ve kterém probíhalo měření. [1]

2.2 Předzpracování signálu

U každého z kanálů byla nejprve estimována plovoucí stejnosměrná složka pomocí mediánové filtrace, a ta poté odečtena od signálu. Následná identifikace EOD v signálu proběhla na základě nalezení druhého vrcholu EOD (vrchol s negativní polaritou na obrázku 1.2a), čemuž předcházelo umocnění hodnot signálu na druhou. Detekovány byly EOD, které dosahovaly hodnoty alespoň 50 mV (před umocněním) a byly od sebe minimálně 1 ms vzdálené – hodnoty byly určeny experimentálně. Z kontrolních nahrávek byla dále odhadnuta doba trvání jednoho EOD jako pokles amplitudy pozitivní, resp. negativní špičky EOD na 1 % její hodnoty. Maximální doba trvání EOD přes všechny jedince nabývala hodnoty 440 μ s, což koresponduje s literaturou. [11] Výsledek byl brán s určitou rezervou a v následujícím zpracování bylo počítáno s dobou trvání 820 μ s (400 μ s nalevo a 400 μ s napravo od negativní špičky), což odpovídá 41 vzorkům signálu. Zanesení větší rezervy již nebylo možné z důvodu nízkých intervalů mezi EOD u nahrávek dvou jedinců.

Za účelem sloučení informací z obou nahraných kanálů byl nejprve vytvořen nulový vektor o velikosti odpovídající délce záznamu. Následně byly detekovány EOD z obou měřících kanálů a ty poté umístěny na odpovídající pozice nulového vektoru. Pokud byl EOD detekován v obou kanálech zároveň, do výsledného signálu byl vybrán ten, který dosahoval vyšší absolutní hodnoty negativní špičky EOD. Ukázka takto upraveného signálu je znázorněna na obrázku 2.2.



Obrázek 2.2: Ukázka signálu (vlevo) a jeho detailu (vpravo) – průběh vznikl sloučením EOD z obou kanálů

2.3 Re prezentace EOD

Jednotlivé EOD byly reprezentovány pomocí vyjádření v časově-frekvenční oblasti. Od tohoto vyjádření bylo totiž očekáváno, že povede na nejdetajnější zachycení informací o tvaru a bude tak odrážet nejvyšší stupeň variability mezi jedinci. [19] Tento způsob reprezentace EOD byl získán pomocí spojitě vlnkové transformace. Navržená metoda byla porovnána s originální reprezentací EOD v časové oblasti a reprezentací ve spektrální oblasti pomocí Fourierovy transformace.

2.3.1 Časová a frekvenční oblast

Nejjednodušší vyjádření EOD je přes jeho originální naměřené hodnoty přímo v časové oblasti. Pro odstranění závislosti amplitudy a polarity signálu na poloze jedince v akváriu, byly EOD normalizovány hodnotou jejich negativní špičky a popřípadě obrácena polarita signálu (obrázek 2.3a).

Pro vyjádření EOD ve spektrální oblasti byla využita rychlá Fourierova transformace (*Fast Fourier Transform*, FFT), která umožňuje nalézt zastoupení jednotlivých frekvenčních složek v signálu. Za účelem zlepšení frekvenčního rozlišení byl signál doplněn nulami na 256 bodů. Pro reprezentaci EOD byla použita pouze absolutní hodnota získaných koeficientů. Spektra byla normalizována maximální nalezenou hodnotou pro daný EOD. (obrázek 2.3b).

2.3.2 Časově-frekvenční oblast

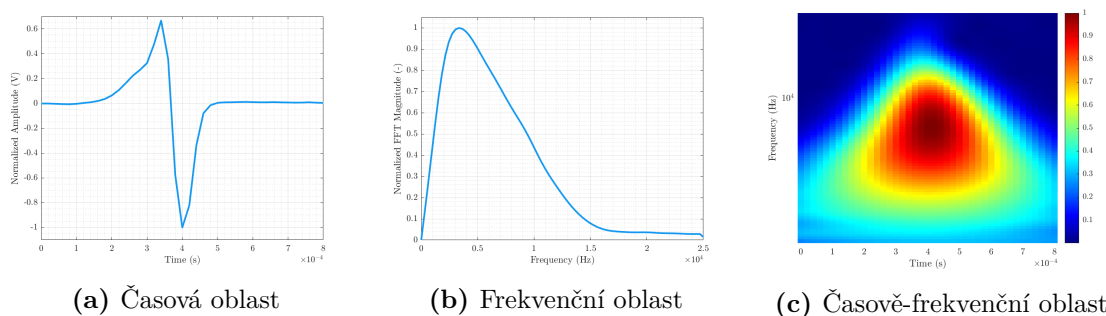
Spojité vlnkové transformace (*Continuous Wavelet Transform*, CWT) lokalizuje výskyt jednotlivých frekvenčních složek v časové oblasti. Na rozdíl od krátkodobé Fourierovy transformace (*Short Time Fourier Transform*) pracuje s variabilní délkou okna, a poskytuje tak lepší rozlišení v časové i frekvenční oblasti. Signál je při tomto typu transformace rozkládán pomocí sady bázových funkcí, které nazýváme vlnky. Vlnky $\psi_{u,s}(t)$ vznikají škálováním základní funkce (parametr s) neboli mateřské vlnky $\psi(t)$ a jejím posunem v čase (parametr u).

$$\psi_{u,s}(t) = \frac{1}{\sqrt{s}}\psi\left(\frac{t-u}{s}\right) \quad (2.1)$$

Koeficienty vlnkové transformace $c(u, s)$ následně získáme konvolucí zkoumaného signálu $x(t)$ se sadou vlnek odvozených z vlnky mateřské. [33, 34]

$$c(u, s) = \int_{-\infty}^{\infty} x(t)\psi_{u,s}^*(t) dt \quad (2.2)$$

Pro popis jednotlivých EOD byly využity absolutní hodnoty koeficientů vlnkové transformace, tzv. scalogramy. Za mateřskou vlnku byla zvolena vlnka Morseova (parametry: $\gamma = 3$, $P^2 = 60$). Pro zlepšení rozlišení byl signál před výpočtem po obou stranách doplněn nulami a po výpočtu byl scalogram opět oříznut na délku signálu. Veškeré scalogramy byly normalizovány maximální hodnotou (obrázek 2.3c). Vzniklá matice byla pro následující zpracování sloučena do jednoho vektoru po řádcích.



Obrázek 2.3: Znázornění reprezentací EOD v časové oblasti (a), ve frekvenční oblasti pomocí rychlé Fourierovy transformace (b) a v časově-frekvenční oblasti pomocí spojitě vlnkové transformace (c). Veškeré reprezentace jsou normalizovány maximální nalezenou (absolutní) hodnotou.

Vlnková transformace byla počítána na 37 a 87 škálách, v závislosti na typu úlohy. Pro nalezení variability mezi jedinci a následnou separací signálů bylo využito

nižšího frekvenčního rozlišení, kvůli snížení výpočetního výkonu. Naopak u statistického vyhodnocení parametrů, kdy se zkoumaly modifikace parametrů v rámci jednoho jedince a byla tak vyžadována vyšší přesnost detekce charakteristik EOD, bylo frekvenční rozlišení zvoleno větší. Od této reprezentace bylo očekáváno nejlepší zachycení tvaru EOD a jeho odchylek. Cenou za to, však byla větší paměťová náročnost, neboť bylo potřeba pracovat s vektory z vysokodimenzionálního prostoru.

2.3.3 Parametrizace EOD

Pro statistickou analýzu bylo z každého scalogramu extrahováno několik příznaků. Nejprve byla nalezena pozice, na které byla naměřena maximální hodnota ve scalogramu a od této pozice byla nalezena místa, kde maximální hodnota energie klesne na 50 % (tento pokles nazveme rozptyl energie). Detekce takových bodů probíhala ve 4 směrech znázorněných na obrázku 2.4. Z nalezených pozic bylo použito následujících 6 příznaků charakterizující scalogram EOD.

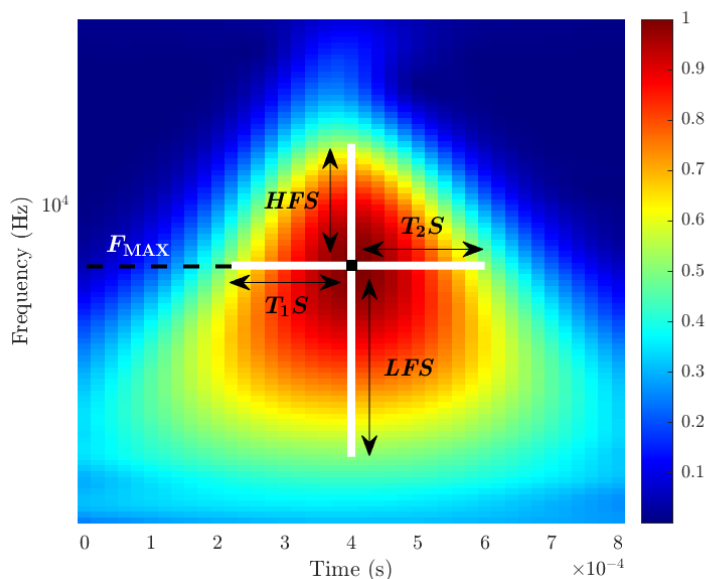
1. F_{MAX} (Hz) – frekvence odpovídající pozici s maximální energií
2. LFS (Hz) – rozptyl energie do nižších frekvencí od F_{MAX} , (*Low Frequency Spread*)
3. HFS (Hz) – rozptyl energie do vyšších frekvencí od F_{MAX} , (*High Frequency Spread*)
4. T_1S (s) – rozptyl energie v časové oblasti směrem nalevo od času výskytu maximální hodnoty energie, (*Time Spread 1*)
5. T_2S (s) – rozptyl energie v časové oblasti směrem napravo od času výskytu maximální hodnoty energie, (*Time Spread 2*)
6. HFS/LFS (-) – poměr parametru HFS a LFS

2.4 Redukce dimenze

Při nárůstu počtu dimenzí mají prostory tendenci řádnout a rozdíly mezi vzdálenostmi datových bodů se stávají zanedbatelnými, čímž ztrácejí svůj význam. Tento jev se nazývá prokletí dimenzionality (*curse of dimensionality*) a odráží skutečnost, že malý nárůst dimenzionality vyžaduje velký nárůst objemu dat pro zachování stejné výkonnosti klasifikátoru. Z tohoto důvodu se snažíme data transformovat do nízkodimenzionálních prostorů pomocí metod redukce dimenze, které nám umožňují odstranit redundantní příznaky. [35, 36] V této práci budou využity dvě takovéto metody – PCA a t-SNE.

2.4.1 PCA

Analýza hlavních komponent neboli *Principal Component Analysis* (dále jen PCA) je metoda redukce dimenze, jejíž cílem je nalézt lineární projekci N vycentrovaných datových bodů na podprostor nižší dimenze, která zachovává největší možné množství informace měřené ve smyslu variance. [37, 38]



Obrázek 2.4: Znárodnění parametrizace scalogramu – Černý bod odpovídá pozici s maximální energií. Hodnotě tohoto bodu na frekvenční ose odpovídá parametr F_{MAX} . Od tohoto bodu jsou ve 4 směrech hledána místa, na kterých klesne maximální energie na 50 % své hodnoty. Tyto 4 pozice odpovídají parametrům LFS , HFS , T_1S , T_2S .

Mějme množinu D -dimenzionálních pozorování $\{\mathbf{x}_1, \dots, \mathbf{x}_N\}$. Cílem úlohy bude nalézt projekci na prostor dimenze $M < D$, která maximalizuje varianci promítaných dat. Pro jednoduchost si představme, že hledáme projekci na jednodimenzionální podprostor ($M = 1$) definovaný D -dimenzionálním jednotkovým vektorem \mathbf{u}_1 . Každý datový bod \mathbf{x}_n je pak promítán na skalární hodnotu $\mathbf{u}_1^T \mathbf{x}_n$. Pokud předpokládáme vycentrovaná data, lze varianci promítaných dat vyjádřit následujícím výrazem

$$\frac{1}{N} \sum_{n=1}^N (\mathbf{u}_1^T \mathbf{x}_n)^2 = \frac{1}{N} \sum_{n=1}^N (\mathbf{u}_1^T \mathbf{x}_n)(\mathbf{x}_n^T \mathbf{u}_1) = \mathbf{u}_1^T \Sigma \mathbf{u}_1, \quad (2.3)$$

ve kterém Σ značí kovarianční matici dat

$$\Sigma = \frac{1}{N} \sum_{n=1}^N \mathbf{x}_n \mathbf{x}_n^T. \quad (2.4)$$

Jelikož předpokládáme, že \mathbf{u}_1 je jednotkový vektor, neboli že $\mathbf{u}_1^T \mathbf{u}_1 = 1$, je možné maximalizovat varianci pomocí Lagrangeových multiplikátorů.

$$L(\mathbf{u}_1, \lambda_1) = \mathbf{u}_1^T \Sigma \mathbf{u}_1 + \lambda_1 (1 - \mathbf{u}_1^T \mathbf{u}_1) \quad (2.5)$$

Položením derivace podle \mathbf{u}_1 rovno nule zjistíme, že pro hledaný extrém platí

$$\Sigma \mathbf{u}_1 = \lambda_1 \mathbf{u}_1, \quad (2.6)$$

což znamená, že \mathbf{u}_1 musí být vlastním vektorem kovarianční matice Σ . Pokud rovnici vynásobíme zleva výrazem \mathbf{u}_1^T a využijeme podmínky $\mathbf{u}_1^T \mathbf{u}_1 = 1$ zjistíme, že variance je dána následující hodnotou

$$\mathbf{u}_1^T \Sigma \mathbf{u}_1 = \lambda_1. \quad (2.7)$$

Variance bude tedy maximální, pokud vektor \mathbf{u}_1 bude roven vlastnímu vektoru, příslušející největšímu vlastnímu číslu. Tento vlastní vektor se nazývá první hlavní komponenta. Pokud budeme uvažovat obecně M -dimenzionální prostor, lze matematickou indukcí dokázat, že optimální projekce zachovávající největší množství variance promítaných dat je definována M vlastními vektory $\mathbf{u}_1, \dots, \mathbf{u}_M$ kovarianční matice Σ příslušející M největším vlastním číslům $\lambda_1, \dots, \lambda_M$. [39, 40]

V této práci byla metoda PCA využita pro extrakci příznaků z originálního vysokodimenzionálního prostoru. Konkrétně byly po každé aplikaci této metody použity pouze první dvě komponenty, jelikož ve všech případech vyjadřovaly více než 75 % variance původních dat. Dalším důvodem využití pouze prvních dvou komponent je možnost vizualizace vzniklých příznaků.

2.4.2 t-SNE

Lineární metody redukce dimenze (např. PCA) se zaměřují na udržení odlišných datových bodů v nízkodimenzionálním zobrazení co nejdále od sebe. Pro vysokodimenzionální data, která leží na nízkodimenzionálním nelineárním manifoldu je však většinou důležitější udržovat velmi podobné datové body v nízkodimenzionálním zobrazení co nejbliže, což typicky není s lineárním mapováním možné. [41]

Technika t-SNE (*t-Distributed Stochastic Neighbor Embedding*) je nelineární metodou redukce dimenze, která slouží zejména k vizualizaci vysokodimenzionálních dat. Cílem této metody je nalézt nízkodimenzionální reprezentaci, která nejlépe zachovává vzdálenosti mezi původními body v originálním prostoru. Algoritmus je tedy schopen zachytit lokální strukturu dat a také odhalit strukturu globální, jako je přítomnost shluků. [41]

Mějme množinu D -dimenzionálních pozorování $\{\mathbf{x}_1, \dots, \mathbf{x}_N\}$ a jim odpovídající nízkodimenzionální reprezentaci $\{\mathbf{y}_1, \dots, \mathbf{y}_N\}$. V prvním kroku algoritmu jsou Euklidovské vzdálenosti mezi body v originálním prostoru převedeny na podmíněně pravděpodobnosti reprezentující podobnosti. Podobnost mezi bodem x_j a bodem x_i je definována jako podmíněná pravděpodobnost $p_{j|i}$, že by si bod x_i vybral bod x_j za svého souseda, pokud by byly sousedé vybírání v poměru k jejich hustotě pravděpodobnosti odhadnuté pomocí Gaussova rozdělení se středem v bodě x_i . Podobnost mezi bodem x_i a x_j lze tedy definovat rovnicí

$$p_{j|i} = \frac{\exp(-\|\mathbf{x}_i - \mathbf{x}_j\|^2/2\sigma_i^2)}{\sum_{k \neq i} \exp(-\|\mathbf{x}_i - \mathbf{x}_k\|^2/2\sigma_i^2)}, \quad (2.8)$$

kde σ_i vyjadřuje varianci Gaussova rozdělení. Pro blízké si body je $p_{j|i}$ relativně vysoká, zatímco u daleko rozmístěných bodů bude téměř infinitezimální (pro rozumné hodnoty σ_i). Pro zachování symetrie ve vysokodimenzionálním prostoru budou podobnosti modelovány pomocí sdružené pravděpodobnosti, která je dána následující rovnicí

$$p_{ij} = \frac{p_{j|i} + p_{i|j}}{2N} \quad (2.9)$$

Podobným způsobem lze definovat podobnosti i v nízkodimenzionálním prostoru, avšak tentokrát bude namísto Gaussovského rozdělení použito Studentovo t- rozdělení s jedním stupněm volnosti.

$$q_{ij} = \frac{(1 + \|\mathbf{y}_i - \mathbf{y}_j\|^2)^{-1}}{\sum_{k \neq l} (1 + \|\mathbf{y}_k - \mathbf{y}_l\|^2)^{-1}} \quad (2.10)$$

Toto rozdělení má tzv. těžké konce (*heavy tails*) a umožňuje tak lépe modelovat vzdálenosti nepřilíš dalekých bodů, kterým by Gaussovo rozdělení přiřadilo v nízko-dimenzionálním prostoru malou pravděpodobnost. Pomocí této modifikace t-SNE lépe předchází problému shlukování (*crowding problem*). [41, 42]

Mapování $\{\mathbf{y}_1, \dots, \mathbf{y}_N\}$ algoritmus hledá pomocí minimalizace Kullbackovy–Leiblerovy divergence (KL) mezi sdruženou hustotou pravděpodobnosti P ve vstupním prostoru a sdruženou hustotou pravděpodobnosti Q ve výstupním prostoru (rovnice 2.11). Minimalizaci provádí pomocí gradientní metody.

$$C = KL(P||Q) = \sum_i \sum_j p_{ij} \log \frac{p_{ij}}{q_{ij}} \quad (2.11)$$

Pro urychlení výpočetního času byla použita volně dostupná implementace založená na polynomiální interpolaci a použití FFT (*FFT-accelerated Interpolation-based t-SNE*) [43] namísto Burnesova-Hutova algoritmu, který pro urychlení výpočtu využívá vestavěná funkce v prostředí MATLAB.

Při použití metody t-SNE v této práci, byly brány v potaz pouze první dva příznaky mapování. Je nutné podotknout, že výkonnost algoritmu t-SNE velmi závisí na nastavení parametrů. Je proto nezbytné vyzkoušet více konfigurací a vybrat vizuálně nejlepší mapování. V následujících částech práce byly při použití algoritmu optimalizovány dva parametry. Prvním parametrem je tzv. perplexita na jejíž bázi se získává směrodatná odchylka Gaussova rozdělení ve vysokodimenzionálním prostoru σ a určuje tak odhad efektivního počtů sousedů každého bodu. Druhý parametr pak nastavuje konstantu, kterou lze násobit pravděpodobnosti p_{ij} , což může mít za následek lepší separabilitu shluků (parametr *exagerace*). [41, 42]

2.5 Klasifikace

Pro separaci signálů dvou jedinců v jednom akváriu bylo využito čtyř typů klasifikátorů – dva založené na učení s učitelem (korelační analýza, SVM) a dva na učení bez učitele (K-Means, DBSCAN). U algoritmů vyžadující trénovací data byly použity nahrávky samostatných jedinců v akváriu získané z druhého experimentu, přičemž pro trénování byl vždy použit stejný počet EOD v obou třídách.

2.5.1 Korelační analýza

U prvního typu algoritmu byly z nahrávek jednotlivců vytvořeny vzory, vzniklé průměrováním scalogramů ze všech EOD každého jedince. Každý scalogram z nahrávek dvojic byl následně přiřazen k jedinci u kterého byla naměřena vyšší hodnota korelačního koeficientu mezi vzorovým a zkoumaným scalogramem. Pro výpočet byl využit Pearsonův korelační koeficient definovaný následujícím vztahem

$$R = \frac{\sum_m \sum_n (A_{mn} - \mu_A)(B_{mn} - \mu_B)}{\sqrt{\left(\sum_m \sum_n (A_{mn} - \mu_A)^2\right) \left(\sum_m \sum_n (B_{mn} - \mu_B)^2\right)}}, \quad (2.12)$$

ve kterém μ_A , resp. μ_B značí průměrnou hodnotu v matici A, resp. v matici B. [44]

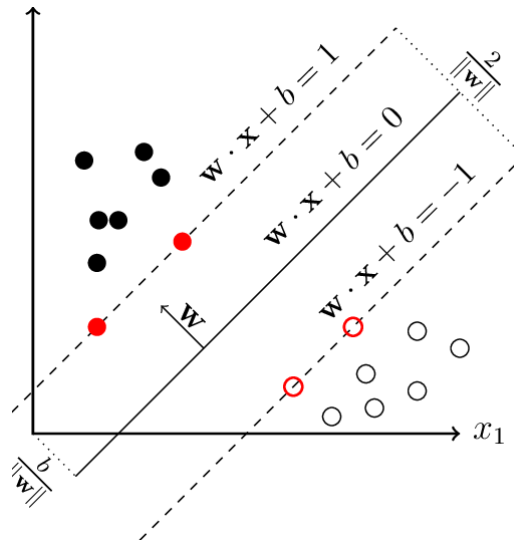
2.5.2 Support Vector Machine

Lineárně separabilní data nabízejí nespočetné množství rozhodovacích hranic, které separují třídy, avšak intuitivně lze říci, že některé z nich jsou lepší než ty ostatní. Optimální rozhodovací hranici, která vede k nejrobustnějšímu řešení, lze nalézt pomocí algoritmu *Support Vector Machine* (SVM) neboli metody podpůrných vektorů. [37, 39]

Mějme trénovací množinu N vstupních vektorů $\{\mathbf{x}_1, \mathbf{x}_2, \dots, \mathbf{x}_N\}$ a jejich korespondující třídy $\{t_1, \dots, t_N\}$, kde $t \in \{-1, 1\}$. Lineární diskriminační funkce pro binární klasifikační úlohu může být definována pomocí následující rovnice.

$$y(\mathbf{x}_n) = \mathbf{w}^T \mathbf{x}_n + b \quad (2.13)$$

Nové datové body \mathbf{x} pak klasifikujeme podle výstupu funkce $\text{sign}(y(\mathbf{x}))$. Předpokládejme, že je trénovací dataset lineárně separabilní v prostoru příznaků. To jinými slovy znamená, že existuje alespoň jedna kombinace parametrů \mathbf{w} a b taková, že $t_n y(\mathbf{x}_n) > 0$ pro všechny body z trénovací množiny. Algoritmus SVM řeší tuto klasifikační úlohu hledáním optimální nadroviny, která maximalizuje šířku pásma mezi rozhodovací hranicí a nejbližšími trénovacími body (obrázek 2.5). Tuto šířku pásma nazýváme *margin*. [39]



Obrázek 2.5: Optimální rozhodovací hranice oddělující dvě třídy (černé a bílé body) pomocí algoritmu SVM. Rozhodovací nadrovina je definována rovnicí $\mathbf{w}^T \mathbf{x} + b = 0$. *Margin* je definovaný nadrovinami $\mathbf{w}^T \mathbf{x} + b = 1$ a $\mathbf{w}^T \mathbf{x} + b = -1$. Podpůrné vektory jsou označeny červenou barvou. Převzato z [45].

Kolmá vzdálenost jakéhokoliv bodu \mathbf{x}_n od rozhodovací nadroviny je dána následujícím výrazem

$$\frac{t_n y(\mathbf{x}_n)}{\|\mathbf{w}\|} = \frac{t_n (\mathbf{w}^T \mathbf{x}_n) + b}{\|\mathbf{w}\|}. \quad (2.14)$$

Margin je pak definován jako kolmá vzdálenost k nejbližšímu bodu \mathbf{x}_n z datasetu. Cílem je nalézt parametry \mathbf{w}^* a b^* , které tuto vzdálenost maximalizují. Jelikož škálování parametrů $\rightarrow \kappa \mathbf{w}$ a $b \rightarrow \kappa b$ nemá vliv na vzdálenost jakéhokoliv bodu \mathbf{x}_n od rozhodovací nadroviny, lze nastavit $t_n (\mathbf{w}^T \mathbf{x}_n + b) = 1$ pro bod, který leží od povrchu nejbližší.

Všechny body pak vyhovují podmínce (2.15).

$$t_n(\mathbf{w}^T \mathbf{x}_n + b) \geq 1, \quad n = 1, \dots, N \quad (2.15)$$

Celková šířka hraničního pásma je tedy rovna hodnotě $2/\|\mathbf{w}\|$ (viz obrázek 2.5). Maximalizace výrazu $1/\|\mathbf{w}\|$ je ekvivalentní minimalizaci výrazu $\|\mathbf{w}\|^2$, což vede na úlohu kvadratické optimalizace s omezeními. [39]

$$\mathbf{w}^*, b^* = \arg \min_{\mathbf{w}, b} \frac{1}{2} \|\mathbf{w}\|^2 \quad (2.16)$$

$$\text{za podmínky } t_n(\mathbf{w}^T \mathbf{x}_n + b) \geq 1, \quad n = 1, \dots, N$$

Problém lze vyřešit zavedením Lagrangeových multiplikátorů $\boldsymbol{\alpha} = (\alpha_1, \dots, \alpha_N)^T$, přičemž $\alpha_n \geq 0$, kde $n = 1, \dots, N$.

$$L(\mathbf{w}, b, \boldsymbol{\alpha}) = \frac{1}{2} \|\mathbf{w}\|^2 - \sum_{n=1}^N \alpha_n \{t_n(\mathbf{w}^T \mathbf{x}_n + b) - 1\} \quad (2.17)$$

Nulování parciálních derivací výrazu $L(\mathbf{w}, b, \boldsymbol{\alpha})$ podle \mathbf{w} a b , vede na nalezení dvou podmínek.

$$\mathbf{w} = \sum_{n=1}^N \alpha_n t_n \mathbf{x}_n, \quad 0 = \sum_{n=1}^N \alpha_n t_n \quad (2.18)$$

Dosazení těchto podmínek do rovnice 2.17 za účelem eliminace proměnných \mathbf{w} a b vede na duální formulaci úlohy.

$$\boldsymbol{\alpha}^* = \arg \max_{\boldsymbol{\alpha}^*} \sum_{n=1}^N \alpha_n - \frac{1}{2} \sum_{n=1}^N \sum_{m=1}^N \alpha_n \alpha_m t_n t_m \mathbf{x}_n^T \mathbf{x}_m \quad (2.19)$$

$$\text{za podmínky } \alpha_n \geq 0, \quad n = 1, \dots, N$$

$$\sum_{n=1}^N \alpha_n t_n = 0$$

Optimalizace úlohy s omezeními této formy podléhá Karushovým-Kuhnovým-Tuckerovým podmínkám, které lze v tomto případě vyjádřit následovně.

$$\alpha_n \geq 0 \quad (2.20)$$

$$t_n y(\mathbf{x}_n) - 1 \geq 0 \quad (2.21)$$

$$\alpha_n \{t_n y(\mathbf{x}_n) - 1\} = 0 \quad (2.22)$$

Každý datový bod, pro který platí $\alpha_n = 0$ se v sumě z rovnice (2.19) neuplatní a nemá tak vliv na nalezení rozhodovací hranice. Zbývající datové body nazýváme podpůrné vektory (*support vectors*). Z podmínek (2.21) a (2.22) plyne, že pro podpůrné vektory musí platit $t_n y(\mathbf{x}_n) = 1$, což znamená, že tyto body leží na nadrovinách, které jsou ve vzdálenosti $1/\|\mathbf{w}\|$ od rozhodovací hranice. Tato vlastnost značí, že optimální rozhodovací hranice, která maximalizuje *margin* je dána pouze podpůrnými vektory. [39]

Pokud data nejsou lineárně separabilní, nebude splněna podmínka (2.15) a separace trénovacích dat povede ke špatné generalizaci na testovací množině. Podmínka může být zmírněna zavedením přídatné proměnné $\xi_n \geq 0$ (tzv. *slack variable*) pro každý datový bod, přičemž pro správně klasifikované body platí $\xi_n = 0$. Podmínku (2.15) lze přepsat do následujícího tvaru.

$$t_n y_n(\mathbf{x}_n) \geq 1 - \xi_n, \quad n = 1, \dots, N \quad (2.23)$$

Body, u kterých proměnná nenabývá nulové hodnoty, leží buď v oblasti definované *marginem* ($0 < \xi \leq 1$) a nebo na špatné straně rozhodovací nadroviny ($\xi > 1$). Zahnutí přídatných proměnných vede k nové formulaci optimalizační úlohy.

$$\mathbf{w}^*, b^*, \xi_n^* = \arg \min_{\mathbf{w}, b, \xi_n} \frac{1}{2} \|\mathbf{w}\|^2 + C \sum_{n=1}^N \xi_n \quad (2.24)$$

$$\begin{aligned} \text{za podmínky } t_n(\mathbf{w}^T \mathbf{x}_n + b) &\geq 1 - \xi_n, & n = 1, \dots, N \\ \xi_n &\geq 0, & n = 1, \dots, N \end{aligned}$$

Regularizační parametr C představuje kompromis mezi velikostí *marginu* a penaltou pro špatně klasifikované body – neboli kompromis mezi chybou na trénovací množině a komplexitou modelu. [39]

Algoritmus SVM lze využít i u klasifikačních úloh, jejichž řešením je nelineární rozhodovací hranice. Hlavní myšlenkou je mapování dat do prostoru vyšší dimenze pomocí nelineární transformace, ve které se třídy stávají lineárně separabilními. Z rovnice (2.19) plyne, že optimalizační úloha je definována pouze skalárními součiny datových bodů z trénovací množiny. Není tedy potřeba znát mapování $\phi(\mathbf{x})$, ale pouze jádrovou funkci $\kappa(\mathbf{x}, \mathbf{x}') = \phi(\mathbf{x})^T \phi(\mathbf{x}')$. Volba vhodné jádrové funkce může výrazně přispět k výkonnosti klasifikátoru, avšak v některých případech může být obtížné z důvodu časové náročnosti správně zvolit parametry funkce. Práce ve vyšších dimenzích navíc zvyšuje nároky na velikost trénovací množiny. [39]

V této diplomové práci byl použit algoritmus SVM pouze s lineární jádrovou funkcí (základní formulace). Důvodem je to, že jako trénovací data byla nejprve použita data z vysokodimenzionálního prostoru, u kterého by bylo využití sofistikovanější jádrové funkce a nastavení jejích parametrů časově nákladné. Jako trénovací množina byla následně použita i redukováná data pomocí metody PCA. V trénovací fázi bylo pro ladění parametru C testováno 10 logaritmicky rozmístěných hodnot v rozmezí $[10^{-3}, 10^3]$ a jako nejlepší parametr zvolen ten, díky kterému bylo dosaženo největší přesnosti klasifikace na trénovací množině (viz podkapitola 2.6) získané pomocí 5-násobné křížové validace (*5-fold cross validation*).

2.5.3 K-Means

Algoritmus K-Means je jeden z nejjednodušších a nejběžnějších algoritmů shlukování. Pomocí iteračního procesu rozřazuje N datových bodů do předem definovaného počtu K shluků. Nalezené shluky jsou reprezentovány svými prototypy neboli centroidy $\boldsymbol{\mu}_k$. Cílem algoritmu je nalézt takové přiřazení datových bodů ke shlukům, aby suma čtverců vzdáleností mezi datovými body a jim nejbližšími centroidy byla minimální. [39, 46]

Pro každý datový bod \mathbf{x}_n , kde $n = 1, \dots, N$ je možné definovat korespondující sadu binárních proměnných $r_{nk} \in \{0, 1\}$, kde $k = 1, \dots, K$, které popisují příslušnost bodu \mathbf{x}_n ke shlukům. Pokud je bod \mathbf{x}_n přiřazen ke shluku k , pak $r_{nk} = 1$, v opačném případě $r_{nk} = 0$. Nyní lze definovat účelovou funkci, která je dána následující rovnicí.

$$J = \sum_{n=1}^N \sum_{k=1}^K r_{nk} \|\mathbf{x}_n - \boldsymbol{\mu}_k\|^2 \quad (2.25)$$

Rovnice představuje sumu čtverců vzdáleností mezi datovými body a jejich odpovídajícími centroidy $\boldsymbol{\mu}_k$ (*sum of squares error*). Cílem je nalézt takové hodnoty r_{nk} a $\boldsymbol{\mu}_k$, které minimalizují účelovou funkci J . V základní verzi algoritmu pracuje K-Means s Euklidovskou vzdáleností. Lze však použít i jinou metriku, která bude pro daný prostor vhodnější. [39]

Minimalizaci lze provádět pomocí iterativního procesu, ve kterém se každou iteraci střídají dva kroky. Před začátkem algoritmu je nutné zvolit hodnoty počátečních centroidů $\boldsymbol{\mu}_k$. V první fázi probíhá minimalizace J s ohledem na r_{nk} , zatímco hodnoty $\boldsymbol{\mu}_k$ zůstávají konstantní. Jelikož je J lineární funkcí r_{nk} , k řešení lze dojít přiřazením bodu \mathbf{x}_n k nejbližšímu centroidu. Matematicky lze proces vyjádřit následovně

$$r_{nk} = \begin{cases} 1, & \text{pokud } k = \arg \min_j \|\mathbf{x}_n - \boldsymbol{\mu}_j\|^2 \\ 0, & \text{jinak.} \end{cases} \quad (2.26)$$

V druhé fázi probíhá minimalizace J s ohledem na $\boldsymbol{\mu}_k$, zatímco hodnoty r_{nk} zůstávají konstantní. Účelová funkce J je kvadratickou funkcí $\boldsymbol{\mu}_k$, a proto může být minimalizována nulováním její derivace a vyřešením rovnice pro $\boldsymbol{\mu}_k$.

$$\boldsymbol{\mu}_k = \frac{\sum_n r_{nk} \mathbf{x}_n}{\sum_n r_{nk}} \quad (2.27)$$

Jmenovatel tohoto výrazu je rovný počtu bodů, které přísluší shluku k , a proto je výsledek totožný s průměrem všech bodů \mathbf{x}_n , které jsou přiřazeny ke shluku k (odtud název K-Means). Tato dvofázová optimalizace se opakuje, dokud se přiřazení bodů ke shlukům mění, nebo dokud není překročen maximální nastavený počet iterací. [39]

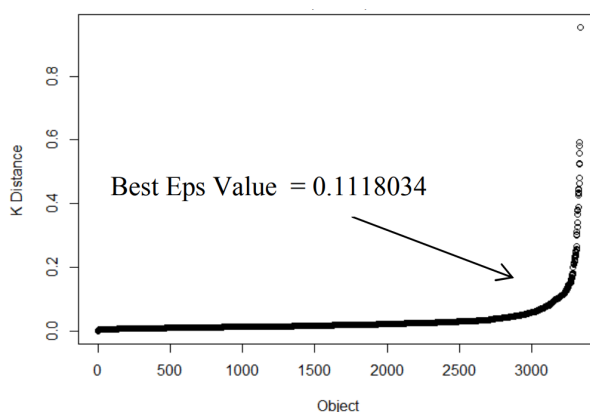
K-Means předpokládá sférické a stejné variance všech shluků a rovněž přibližně stejný počet bodů v jednotlivých shlucích. Pokud jsou tyto předpoklady porušeny, může algoritmus selhávat. [46] Nevýhodou pro některé uživatele může být i nutnost předem definovat počet shluků. Při separaci elektronahrávek je ale přesný počet nahrávaných jedinců předem známý, tudíž to není pro klasifikaci překážkou.

Výsledek algoritmu velmi závisí na inicializaci centroidů, a proto může několikanásobné spuštění vést k různým výsledkům. Pro inicializaci centroidů využívá vestavěná funkce v prostředí MATLAB algoritmus K-Means++, který zlepšuje kvalitu řešení a urychluje konvergenci algoritmu K-Means. I přes to se však výsledky mohou při opakovaném spuštění značně odlišovat. Vestavěná funkce proto nabízí možnost algoritmus pustit několikrát, přičemž za správné řešení se vybere to, které vede na minimální hodnotu účelové funkce J . [47] Při každém použití algoritmu K-Means byla tímto způsobem vybrána nejlepší klasifikace z 10 běhů.

2.5.4 DBSCAN

Problém lineárně neseparabilních dat řeší algoritmus DBSCAN (*Density-Based Spatial Clustering of Application with Noise*), který dokáže identifikovat shluky komplexnějších tvarů. U tohoto typu algoritmu musí uživatel předem zadat dva parametry: vzdálenost (ε) a minimální počet bodů (m). DBSCAN následně vybere libovolný bod \mathbf{x} , nalezne veškeré body nacházející se ve vzdálenosti menší než ε a označí je za jeho sousedy. Pokud je v okolí daném parametrem ε méně bodů než m , je bod \mathbf{x} označen za bod šumový (*outlier*). V opačném případě je bod označen jako jádrový (*core point*). Pokud se v okolí daného bodu nachází méně než m bodů, ale zároveň leží v okolí jádrového bodu, je bod označen za hraniční (*border point*). Tímto způsobem iteruje přes všechny nalezené sousedy bodu \mathbf{x} , dokud nebudou nalezeni žádní noví sousedé, kteří by mohli být přiřazeni k danému shluku. Následně vybere dosud neoznačený bod a postup opakuje. [46]

V některých případech může být obtížné správně nastavit vstupní parametry, zvláště v prostorech vysoké dimenze. Pokud se parametr ε nastaví na příliš malou hodnotu, žádné body nemusí být označeny za jádrové a mohou být označeny za outliery. Naopak, pokud se nastaví parametr ε na příliš vysokou hodnotu, budou veškeré body přiřazeny k jednomu shluku. U verze algoritmu, který v sobě nezahrnoval redukci dimenze a není u něj tedy možná vizuální kontrola korektnosti nastavených parametrů, byla využita jednoduchá heuristika. Doporučená hodnota parametru m je dvojnásobek dimenzionality dat. V jednom případě však ryba vyslala za celou dobu záznamu méně EOD než je tato hodnota, a proto by takovéhle nastavení nemělo význam. Nejmenší počet bodů m byl proto nastaven v závislosti na znalosti minimálního počtu EOD vyslané rybou. Velikost okolí ε byla následně odhadnuta z tzv. *k-distance* grafu, který zachycuje průměrné vzdálenosti mezi bodem a jeho k -nejbližšími sousedy. Optimální hodnota ε byla pak určena jako místo, kde se vzniklá křivka ohýbá (obrázek 2.6). [48, 49] Zároveň byl brán v potaz počet nalezených outlierů, jejichž maximální počet byl udržován pod 2 % počtu EOD spočtených pro každý dataset.



Obrázek 2.6: Příklad estimace parametru ε pro algoritmus DBSCAN – optimální hodnota ε se nachází v místě ohybu křivky v *k-distance* grafu. Převzato z [49]

Nelze říci, že DBSCAN je zcela deterministický algoritmus, neboť se výsledek shlukování může změnit po permutaci dat. Body dosažitelné z více shluků tak mohou měnit svou příslušnost ke shluku v závislosti na pořadí, ve kterém se data zpracovávají. Tato situace však nenastává často a tak není nutné pouštět algoritmus vícekrát s permutovanými daty. [50]

2.6 Validace

Pro validaci výkonu jednotlivých klasifikátorů byla z nahrávek dvojic vytvořena testovací množina manuálním přiřazením jednotlivých EOD k odpovídajícímu jedinci. Identifikace EOD probíhala na základě informací o amplitudě a polaritě pulzů v závislosti na poloze jedinců v akváriu získané z dostupného videa. V některých případech nebylo možné EOD s jistotou přiřadit správnému jedinci (například pokud byli jedinci blízko u sebe). Pokud tato situace nastala, dané EOD nebyly do testovací množiny zahrnuty. Tímto způsobem byla vyřazena přibližně 3 % všech EOD.

2.6.1 Validační metriky

Pro hodnocení byly použity 3 metriky: přesnost klasifikace (*accuracy*, ACC), Matthewsův korelační koeficient (*Matthews's correlation coefficient*, MCC) a výpočetní čas (RunTime). Přesnost klasifikace je definována následujícím vztahem

$$ACC = \frac{TP + TN}{TP + TN + FP + FN} \quad (2.28)$$

kde TP (*True positives*) odpovídá počtu správně přiřazených EOD k prvnímu jedinci a TN (*True negatives*) počtu správně přiřazených EOD k druhému jedinci. FP (*False positives*), resp. FN (*False negatives*) pak odpovídá počtu nesprávných přiřazení EOD k prvnímu, resp. k druhému jedinci. Tato metrika však nedosahuje věrohodných výsledků na nevybalancovaných datasetech. Jednotlivci se v počtu vyslaných EOD na některých nahrávkách značně odlišují, a proto tato metrika může dát u některých datasetů nespolehlivý odhad výkonnosti klasifikátoru. [51]

Další zvolená metrika, která by měla tuto komplikaci napravit je Matthewsův korelační koeficient. MCC nabývá hodnot $[-1, 1]$, přičemž hodnota 1 odpovídá perfektní klasifikaci a hodnota -1 odpovídá chybné klasifikaci všech vzorků. Hodnota 0 odpovídá náhodné predikci. Metrika je určena následující rovnicí, přičemž všechny použité parametry jsou totožné s parametry objevujícími se v rovnici (2.28). [51]

$$MCC = \frac{TP \cdot TN - FP \cdot FN}{\sqrt{(TP + FP) \cdot (TP + FN) \cdot (TN + FP) \cdot (TN + FN)}} \quad (2.29)$$

2.6.2 Integrace elektrického signálu do videozáznamu formou sonifikace

Jelikož byla validační množina pro separaci signálů tvořena manuálním přiřazením EOD odpovídajícímu jedinci, nelze zcela zaručit její bezchybnost. Z tohoto důvodu bylo nutné ověřit korektnost separace signálů i jiným způsobem.

Z uživatelského hlediska by bylo výhodné pozorovat behaviorální projevy jedince na videu a zároveň pohodlným způsobem získávat informace o jeho elektrické aktivitě. Toho bylo docíleno převedením elektrického signálu samostatného jedince na zvukový záznam, který byl následně integrován do videozáznamu. EOD jsou však

velmi rychlé a nebylo by proto možné lidským sluchem rozlišit EOD dvou jedinců. Po separaci signálů dvojic byl proto každému jedinci přiřazen jeden tón, kterým byl v signálu nahrazen jeho EOD:

$$s_1 = A \sin(2\pi f_1 t), \quad s_2 = B \sin(2\pi f_2 t) \quad (2.30)$$

Pro zanesení dostatečného kontrastu byly voleny tóny o frekvencích $f_1 = 1.5$ kHz a $f_2 = 13.5$ kHz. V rámci zachování informace o poloze ryby v akváriu, odpovídaly amplitudy tónů (A, B) v signálu absolutní hodnotě negativní špičky korespondujícího EOD jedince. Pokud se tímto způsobem sonifikují signály zvláště pro každý naměřený kanál, stává se tento nástroj vhodnou přídatnou kontrolou pro ověření korektnosti separace signálů.

2.7 Statistika

Cílem statistické analýzy bylo vyhodnotit vliv aplikovaných psychofarmak na změnu parametrů EOD popsaných v sekci 2.3.3. Rozdíly byly vyhodnocovány mezi všemi skupinami. Předpokladem však bylo, že pokud se po podání ketaminu (skupina K) projeví významné změny ve zkoumaných parametrech, bude mít následné podání haloperidolu normalizující účinek a skupiny K-H nebude možné odlišit od kontrolní skupiny C.

Pro vyhodnocení byl využit Friedmanův test, který je neparametrickou verzí testu ANOVA s opakovanými měřeními. Neparametrický test byl zvolen z důvodu porušení předpokladu normality dat (ověřeno pomocí Shapirova-Wilkova testu). Tento test ověřuje nulovou hypotézu, že opakovaná měření pocházejí ze stejné distribuce nebo z distribucí se stejným mediánem. [52]

Pokud výsledek Friedmanova testu vyšel signifikantní, byly pomocí post-hoc testů nalezeny skupiny s rozdílnými distribucemi. Pro post-hoc testy byl využit Wilcoxonův test pro párová měření (*Wilcoxon signed-rank test*), který představuje neparametrickou variantu párového t-testu. Nulová hypotéza tohoto testu je, že medián distribuce rozdílů mezi párovými vzorky je nulový. [52]

Veškeré hypotézy byly ověřovány na hladině významnosti $\alpha = 5\%$. Korekce mnohonásobného porovnávání byla provedena Bonferroniho-Holmovou metodou.

3 Výsledky

V této kapitole budou prezentovány výsledky vzniklé aplikací metod popsaných v kapitole 2 na záznamy elektrické aktivity rypounů. Výsledky budou popsány formou tabulek a grafů a následně detailně okomentovány v kapitole 4.

3.1 Analýza kontrolních měření

EOD byly vyjádřeny pomocí tří reprezentací popsaných v podkapitole 2.3. Dohromady vyslali zkoumaní jedinci 235 664 EOD, což odpovídá v průměru 9819 ± 3067 ($\mu \pm SD$) vyslaným EOD na jednoho jedince během celého záznamu. U každé reprezentace byla data zredukována pomocí algoritmu t-SNE a graficky znázorněny první dva příznaky mapování.

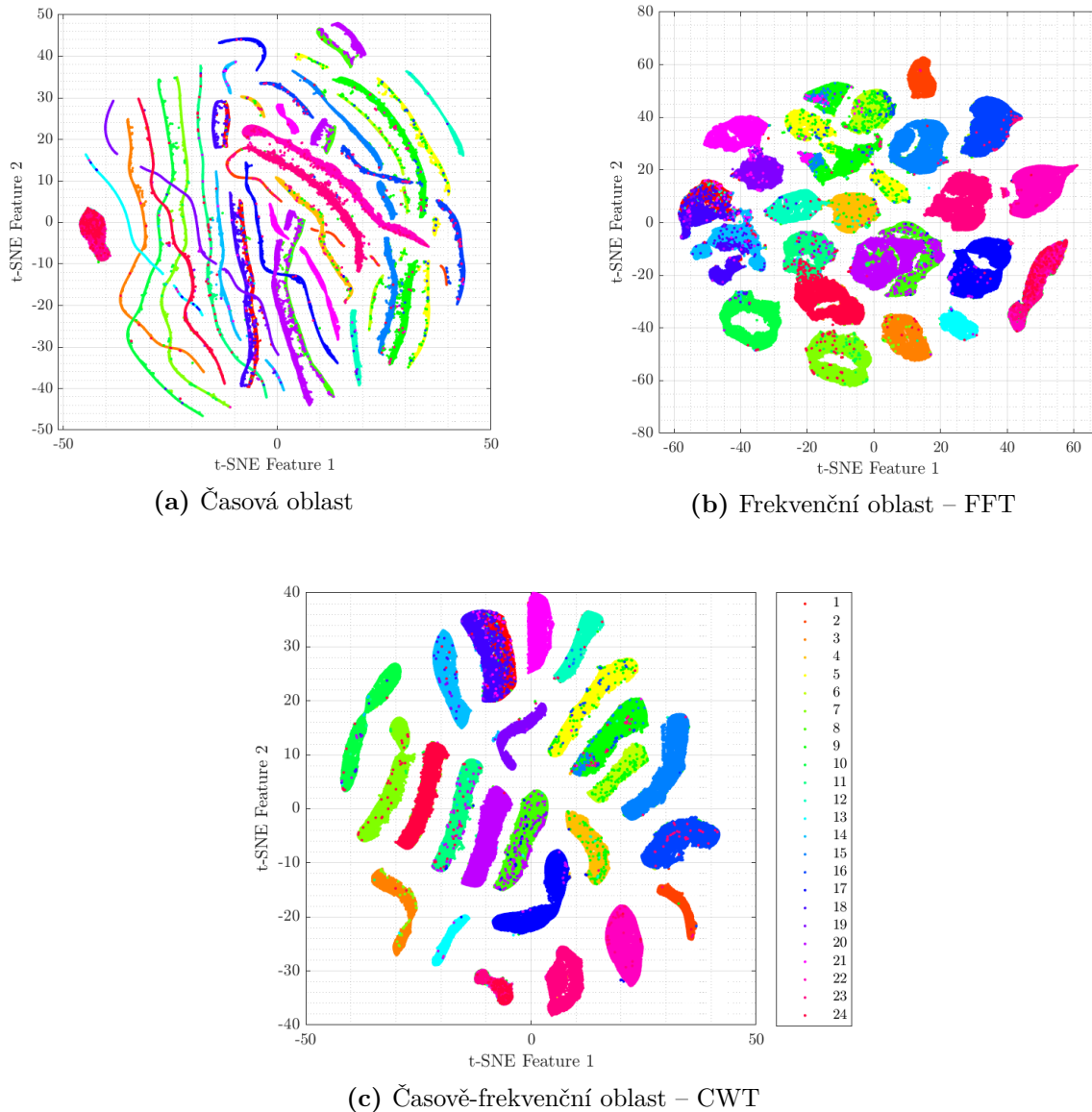
U algoritmu bylo použito více hodnot parametrů (perplexita, exaggerace) a jako finální mapování bylo vybráno to, které vedlo na nejucelenější a zároveň nejvíce oddělené shluky. Na obrázku 3.1 je vyobrazeno srovnání tří použitých reprezentací. Výpočetní čas, který byl potřeba pro výpočet mapování, popř. výpočet transformace, je zaznamenán v tabulce 3.1. Z obrázků je patrné, že použití vlnkové transformace vede k nejlepším výsledkům a je to tedy nejvhodnější vyjádření pro zachycení interindividuální variability EOD. Ověřil se tedy předpoklad, že časově-frekvenční reprezentace povede na nejdetajnější zachycení rozdílů mezi tvary EOD jedinců.

	Časová oblast	FFT	CWT
Rozměr	[1, 41]	[1, 256]	[1, 1517]
RunTime (s)	176.894	241.223	1234.115

Tabulka 3.1: Výpočetní čas (RunTime) potřebný pro výpočet mapování pomocí algoritmu t-SNE, popř. transformace pomocí FFT nebo CWT pro tři reprezentace EOD – Časová oblast, Frekvenční oblast (FFT), Časově-frekvenční oblast (CWT). V tabulce je rovněž uveden rozměr reprezentace jednoho EOD.

3.2 Porovnání klasifikačních metod pro separaci signálů

V následující části bude porovnáno několik typů algoritmů z podkapitoly 2.5. Separátně bude zkoumána výkonnost algoritmů učení s učitelem a učení bez učitele a následně budou porovnány ty nejlepší z obou skupin. Pro validaci výkonnosti budou sloužit metriky popsané v podkapitole 2.6 – přesnost klasifikace (ACC), Matthewsův korelační koeficient (MCC) a výpočetní čas (RunTime).



Obrázek 3.1: Algoritmus t-SNE aplikovaný na 3 různé reprezentace EOD – (a) reprezentace v časové oblasti, (b) reprezentace ve frekvenční oblasti pomocí FFT, (c) reprezentace v časově-frekvenční oblasti pomocí CWT. Barvy na obrázcích symbolizují 24 jedinců z kontrolního měření. V případě (c) bylo dosaženo nejkompaktnějších a nejvíce separovatelných shluků.

3.2.1 Učení s učitelem

Byly využity následující 3 varianty algoritmů učení s učitelem.

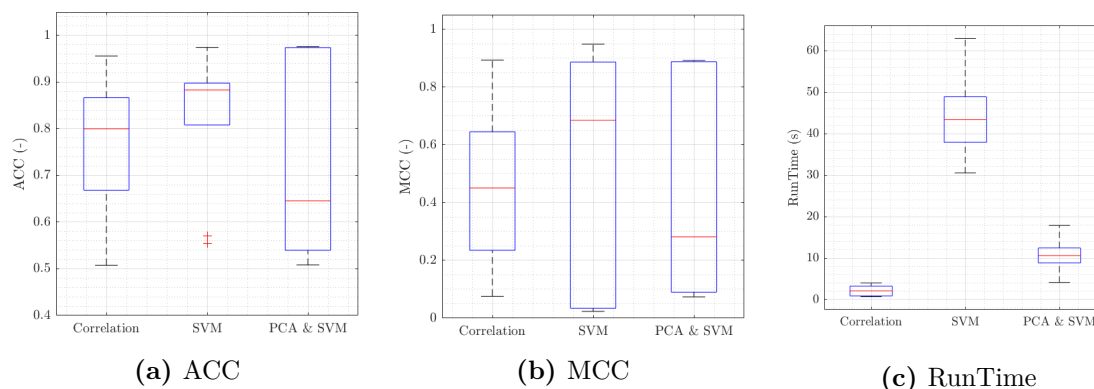
1. Korelační analýza
2. SVM – SVM na originálních datech
3. PCA & SVM – SVM na redukováných datech pomocí PCA

V tabulce 3.2 jsou zachyceny mediánové hodnoty všech použitých metrik spolu s mezikvartilovým rozpětím (IQR). Grafy typu boxplot zachycující rozložení dat jsou znázorněny na obrázku 3.2. U algoritmů SVM a PCA & SVM je ve výpočetním čase

zahrnuto natrénování klasifikátoru s již nalezenou optimální hodnotou regularizačního parametru C a klasifikace testovacích dat. Ladění tohoto parametru bylo časově náročné a ve většině případů ani výrazně nezlepšilo výkonnost klasifikátoru. Ačkoliv dosahoval algoritmus SVM na neredukovaných datech nejlepších hodnot ACC, u MCC bylo zaznamenáno velké mezikvartilové rozpětí. I přes vysokou nekonzistentnost hodnot byl však označen za nejlepší algoritmus z těchto tří.

Algoritmus	ACC (-)	MCC (-)	Run Time (s)
Korelační analýza	0.799 (0.198)	0.451 (0.410)	2.096 (2.352)
SVM	0.883 (0.089)	0.685 (0.851)	43.435 (10.970)
PCA & SVM	0.646 (0.434)	0.281 (0.798)	12.126 (6.024)

Tabulka 3.2: Mediánové hodnoty validačních metrik spolu s mezikvartilovým rozpětím (v závorce) u algoritmů učení s učitelem (Korelační analýza, SVM, SVM & PCA) – Přesnost klasifikace (ACC), Matthewsův korelační koeficient (MCC), Výpočetní čas (RunTime)



Obrázek 3.2: Grafy typu boxplot ilustrující rozdělení hodnot jednotlivých validačních metrik u algoritmů učení s učitelem (Korelační analýza, SVM, SVM & PCA) přes všech 10 dostupných datasetů – Přesnost klasifikace (ACC), Matthewsův korelační koeficient (MCC), Výpočetní čas (RunTime)

Algoritmy SVM a PCA & SVM nedosahovaly takové přesnosti, jaká byla předpokládána. Pro prokázání, že jsou chyby v klasifikaci způsobeny nesourodostí trénovacích a testovacích dat a ne špatnou separabilitou jedinců nahrávaných odděleně, jsou v tabulce 3.3 uvedeny mediánové hodnoty ACC a MCC na trénovacích datech. Výsledky vznikly pomocí 5-násobné křížové validace.

Algoritmus	ACC (-)	MCC (-)
SVM	0.998 (0.006)	0.993 (0.0012)
PCA & SVM	0.971 (0.0682)	0.942 (0.131)

Tabulka 3.3: Mediánové hodnoty validačních metrik spolu s mezikvartilovým rozpětím (v závorce) na trénovací množině pro algoritmus SVM a PCA & SVM – Přesnost klasifikace (ACC), Matthewsův korelační koeficient (MCC)

3.2.2 Učení bez učitele

Bylo využito následujících 6 variant algoritmů učení bez učitele.

1. **K-Means** – na neredukovaných datech
2. **DBSCAN** – na neredukovaných datech
3. **PCA & K-Means** – K-Means na redukováných datech pomocí PCA
4. **PCA & DBSCAN** – DBSCAN na redukováných datech pomocí PCA
5. **t-SNE & K-Means** – K-Means na redukováných datech pomocí t-SNE
6. **t-SNE & DBSCAN** – DBSCAN na redukováných datech pomocí t-SNE

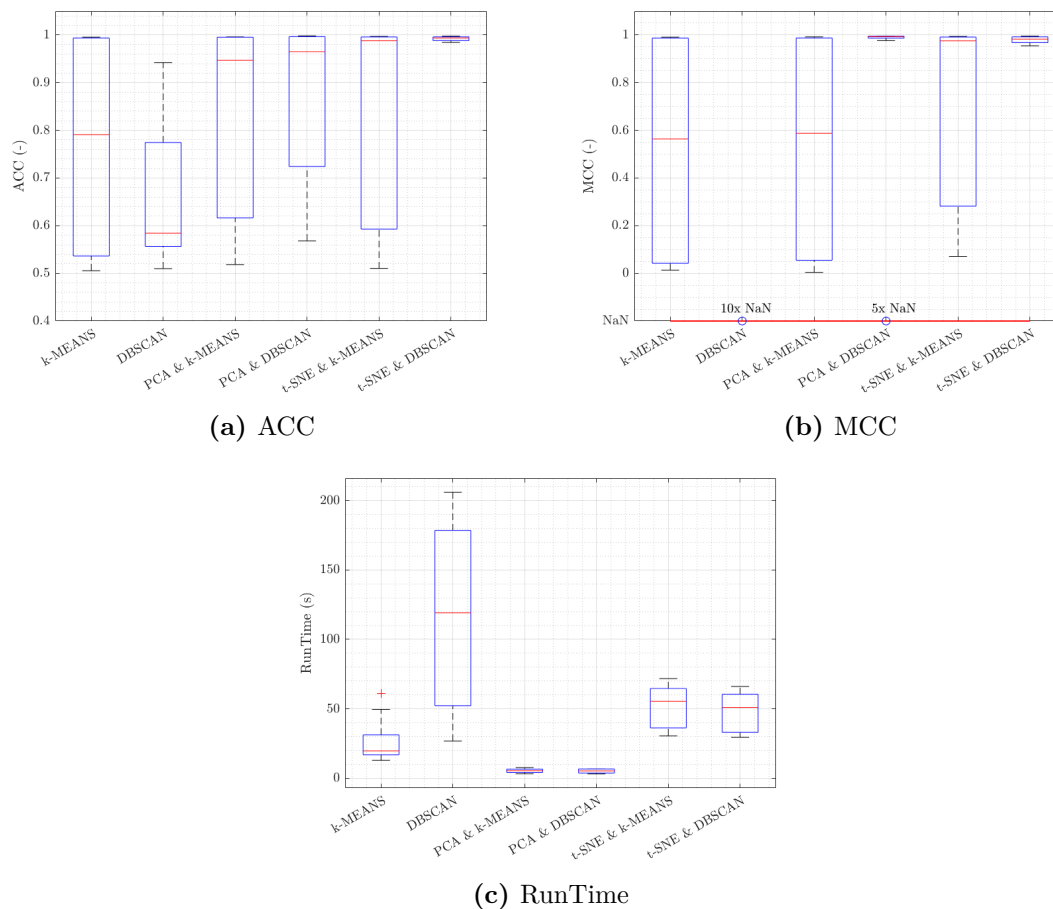
U typů algoritmů, které nevyužívají metodu redukce dimenze a pracují tedy s daty z vysokodimenzionálního prostoru byly vyzkoušeny 3 typy vzdáleností: Euklidovská, kosinová a Manhattanská, jelikož některé metriky nemusejí rozumně fungovat v prostorech vysoké dimenze. Nejlepších hodnot ACC a MCC dosahovaly verze s Manhattanskou vzdáleností (ačkoliv byly tyto verze výpočetně náročnější), a proto budou v následujícím porovnávání klasifikátorů využívány varianty s touto metrikou.

Ve vysokodimenzionálním prostoru byla pro stanovení parametrů pro algoritmus DBSCAN využita heuristika popsána v sekci 2.5.4. U redukováných dat bylo již možné výsledek shlukování vizuálně zkontrolovat, a proto šlo parametry doladit manuálně. U algoritmu t-SNE nebylo nutné měnit vstupní parametry, neboť algoritmus vždy našel dva separabilní shluky s jedním nastavením parametrů. Tyto vytvořené shluky navíc byly velmi dobře ohraničené, tudíž ani nebylo potřeba měnit parametry navazujícího shlukování pomocí algoritmu DBSCAN (varianta t-SNE & DBSCAN).

V tabulce 3.4 jsou zachyceny mediánové hodnoty všech použitých metrik spolu s mezikvartilovým rozpětím (IQR). Grafy typu boxplot zachycující rozložení dat jsou znázorněny na obrázku 3.3.

Algoritmus	ACC (-)	MCC (-)	Run Time (s)
K-Means	0.791 (0.457)	0.564 (0.945)	19.742 (14.337)
DBSCAN	0.584 (0.218)	NaN	119.152 (126.183)
PCA & K-Means	0.947 (0.380)	0.588 (0.933)	5.486 (2.367)
PCA & DBSCAN	0.965 (0.273)	NaN	5.346 (2.899)
t-SNE & K-Means	0.988 (0.403)	0.976 (0.710)	55.459 (28.393)
t-SNE & DBSCAN	0.994 (0.008)	0.983 (0.024)	50.994 (27.457)

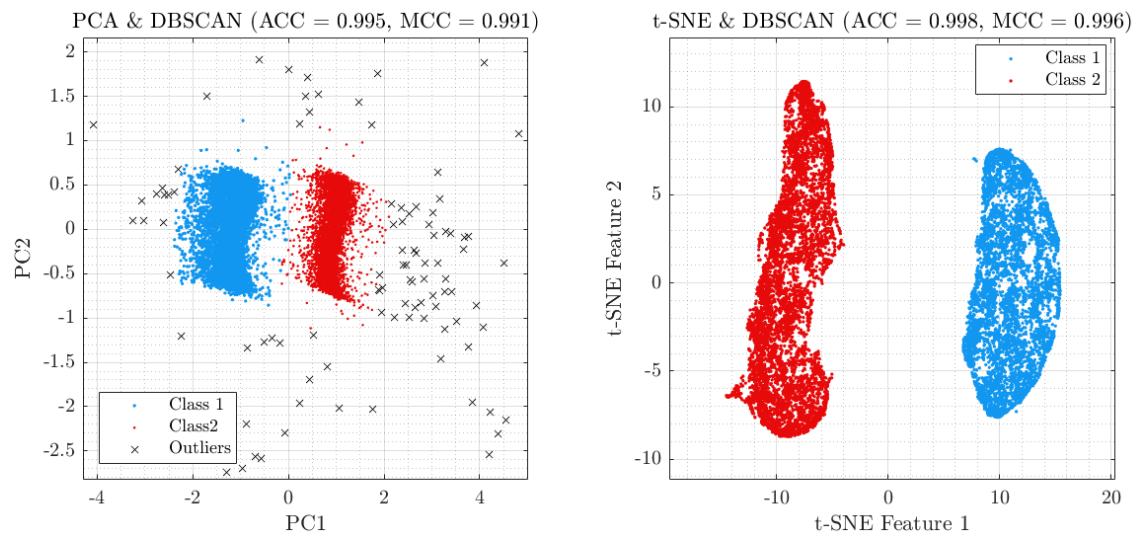
Tabulka 3.4: Mediánové hodnoty validačních metrik spolu s mezikvartilových rozpětím (v závorce) u algoritmů učení bez učitele (K-Means, DBSCAN, PCA & K-Means, PCA & DBSCAN, t-SNE & K-Means, t-SNE & DBSCAN) – Přesnost klasifikace (ACC), Matthewsův korelační koeficient (MCC), Výpočetní čas (RunTime). Hodnota NaN u MCC označuje situaci, kdy algoritmus predikoval u některých datasetů pouze jednu třídu.



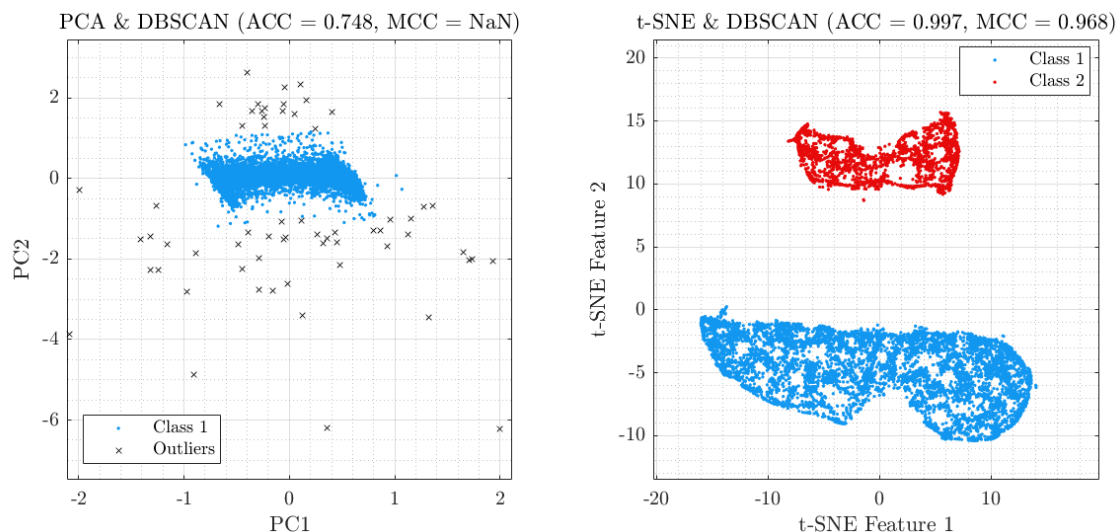
Obrázek 3.3: Grafy typu boxplot ilustrující rozdělení hodnot jednotlivých validačních metrik u algoritmů učení bez učitele (K-Means, DBSCAN, PCA & K-Means, PCA & DBSCAN, t-SNE & K-Means, t-SNE & DBSCAN) přes všech 10 dostupných datasetů – Přesnost klasifikace (ACC), Matthewsův korelační koeficient (MCC), Výpočetní čas (RunTime). Hodnota NaN u MCC označuje situaci, kdy algoritmus predikoval u některých datasetů pouze jednu třídu. Číslo nad touto hodnotou pak její násobnost přes jednotlivé datasety.

U některých datasetů se počty EOD vyslané první a druhou rybou značně odlišovaly. Z důvodu této nevybalancovanosti, mohly algoritmy dosáhnout vysoké přesnosti klasifikace, ačkoliv predikovaly pouze jednu třídu. V těchto situacích však vrátí Matthewsův korelační koeficient hodnotu NaN. Pokud tato situace nastala u konkrétního algoritmu alespoň jednou, byla u MCC do tabulky 3.4 přímo vyplněna hodnota NaN a nebyly tedy uvažovány hodnoty z ostatních datasetů. Z obrázku 3.3 můžeme vyzorovat, že u algoritmu DBSCAN tato situace nastala u každého datasetu a u algoritmu PCA & DBSCAN u poloviny datasetů.

Na obrázku 3.4 jsou vizualizované dvě nahrávky dvou různých párů ryb redukováné pomocí PCA (vlevo) a klasifikované pomocí algoritmu DBSCAN. Po redukci dimenze pomocí PCA jsou na obrázku 3.4a viditelné dva shluky, zatímco na obrázku 3.4b nikoliv. V druhém případě tak algoritmus DBSCAN nebyl schopen nalézt dva shluky a predikoval pouze jednu třídu (čemuž nasvědčuje i hodnota NaN u MCC) – jelikož byl ale dataset nevybalancovaný, dosáhl algoritmus 75.8% přesnosti klasifikace. Pro porovnání je vyobrazena i redukce dimenze pomocí metody t-SNE, která v obou případech našla dva separovatelné shluky.



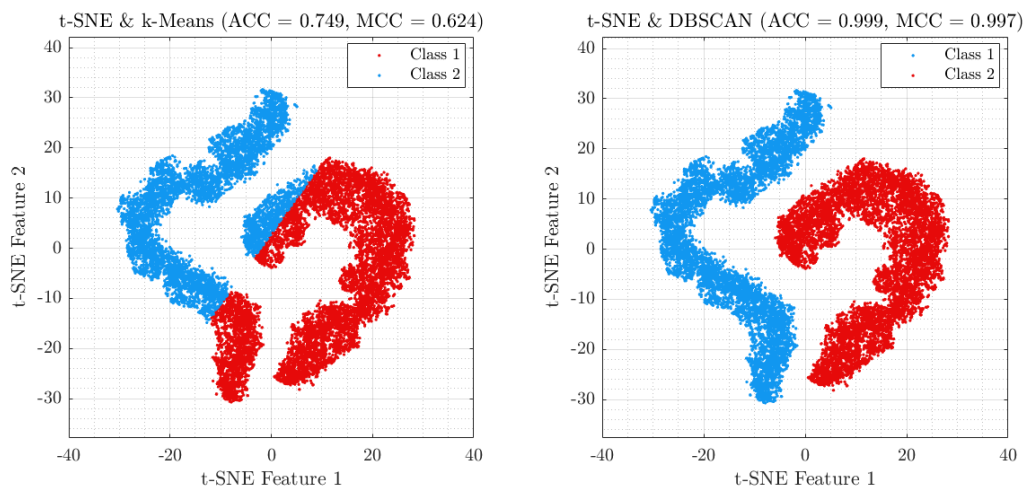
(a) Separabilní data



(b) Neseparabilní data

Obrázek 3.4: Porovnání algoritmů PCA & DBSCAN a t-SNE & DBSCAN na dvou různých datasetech – Dvě barvy označují dvě třídy nalezené pomocí algoritmu DBSCAN. Případně nalezené šumové body jsou označeny černými křížky. U obrázků jsou vyobrazeny hodnoty přesnosti klasifikace (ACC) a Matthewsova korelačního koeficientu (MCC). V prvním případě (a) vedlo použití obou metod redukce dimenze na mapování, v kterém jsou zachycené dva separovatelné shluky. Klasifikace pak proběhla s vysokou přesností. V druhém případě (b) toho byl schopen pouze algoritmus t-SNE. Oba algoritmy však dosahují relativně vysoké hodnoty ACC kvůli nevybalancovanosti daného datasetu.

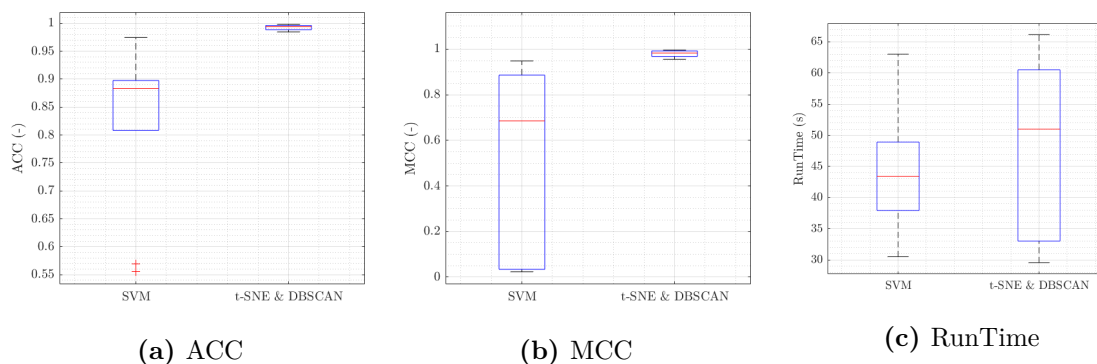
Při použití t-SNE místo PCA dosahovaly algoritmy lepších výsledků, avšak za cenu delšího výpočetního času. Z grafů a hodnot validačních metrik lze dále vyzorovat, že po aplikaci t-SNE algoritmus DBSCAN dosahoval lepších hodnot ACC i MCC než algoritmus K-Means. Metoda t-SNE vyprodukovala v některých případech dva lineární neseparabilní shluky, které algoritmus K-Means nebyl schopen korektně oddělit. Z tohoto důvodu vycházejí mediánové hodnoty ACC i MCC podobně, ale mezikvartilové rozpětí se značně liší. Příklad takové situace je znázorněn na obrázku 3.5.



Obrázek 3.5: Porovnání algoritmů t-SNE & K-Means a t-SNE & DBSCAN – Dvě barvy označují dvě třídy nalezené pomocí algoritmu K-Means (vlevo) nebo DBSCAN (vpravo). U obrázků jsou vyobrazeny hodnoty přesnosti klasifikace (ACC) a Matthewsova korelačního koeficientu (MCC). Lze vidět, že pokud jsou v datech nalezeny lineárně neseparabilní shluky, algoritmus K-Means selhává.

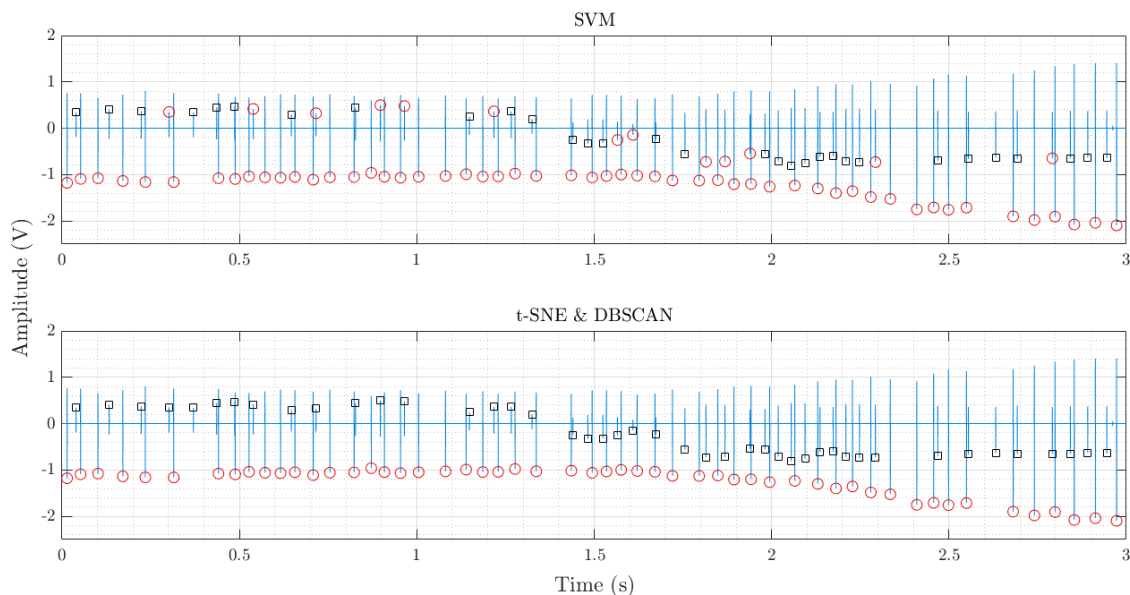
3.2.3 Porovnání algoritmů učení s učitelem a bez učitele

Dle ACC a MCC vychází jako nejlepší algoritmus učení s učitelem SVM na neredukovaných datech a nejlepší algoritmus učení bez učitele t-SNE & DBSCAN. Následující grafy typu boxplot (obrázek 3.6) slouží k vizuálnímu porovnání těchto dvou algoritmů. Je zřejmé, že až na výpočetní čas dosahuje algoritmus t-SNE & DBSCAN vyšších mediánových hodnot validačních metrik a nižších mezikvartilových rozpětí. Výpočetní čas však nemá ani cenu porovnávat, neboť v grafu není vyneseno časově nákladné ladění regularizačního parametru C .



Obrázek 3.6: Grafy typu boxplot ilustrující rozdělení hodnot jednotlivých metrik u algoritmu SVM a algoritmu t-SNE & DBSCAN přes všechny dostupné datasety – Přesnost klasifikace (ACC), Matthewsův korelační koeficient (MCC), Výpočetní čas (RunTime)

Příklad klasifikace na 2 sekundovém segmentu signálu je ukázán na obrázku 3.7. Na horním grafu je vynesena klasifikace pomocí SVM. Algoritmus se dopustil 13 špatných klasifikací na 97 EOD. V dolním grafu je zobrazena klasifikace pomocí algoritmu t-SNE & DBSCAN. Na tomto segmentu tento algoritmus neprovedl ani jednu chybnou klasifikaci. Správné přiřazení EOD k jedincům lze vyvodit ze změn jejich amplitud (v tomto krátkém segmentu i bez videa).



Obrázek 3.7: Porovnání klasifikace EOD pomocí algoritmu SVM (nahore) a algoritmu t-SNE & DBSCAN (dole) na 2 sekundovém segmentu signálu. Červená kolečka označují EOD přiřazené k první rybě a černé čtverečky EOD přiřazené k druhé rybě. Algoritmus SVM se dopustil 13 špatných klasifikací na celkově 97 EOD, zatímco algoritmus t-SNE & DBSCAN klasifikoval vše korektně.

Pomocí algoritmu t-SNE & DBSCAN, který se jevil jako nejpřesnější, byly signály dvou jedinců rozseparovány a pomocí sonifikace připojeny k videozáznamu. Sonifikace probíhala pro každý kanál zvlášť, aby byla lépe rozpoznatelná přesnost klasifikace signálů. Pokud budou například dvě ryby na opačných koncích akvária, měla by být při správné klasifikaci jedna slyšet s nižší intenzitou. Zároveň lze pozorovat postupné přibližování jedinců ke specifickému kanálu, neboť při pohybu směrem k elektrodám intenzita signálu postupně narůstá. Tato možnost lokalizace ryb v akváriu by při použití sloučeného signálu odpadla. Ukázka segmentu z takto upraveného videa se sonifikovaným signálem z jednoho kanálu (Ch1) je obsažena v příloze této práce.

3.3 Vyhodnocení vlivu psychofarmak

Pro vyhodnocení vlivu psychofarmak na charakteristiku EOD bylo využito 6 parametrů získaných ze scalogramu každého EOD (viz sekce 2.3.3) – F_{MAX} , LFS , HFS , T_1S , T_2S a HFS/LFS . U konkrétního jedince byly určeny vybrané parametry ze všech EOD a hodnoty pro každý parametr byly zprůměrovány. Statistická analýza proběhla pomocí procedur popsanych v podkapitole 2.7.

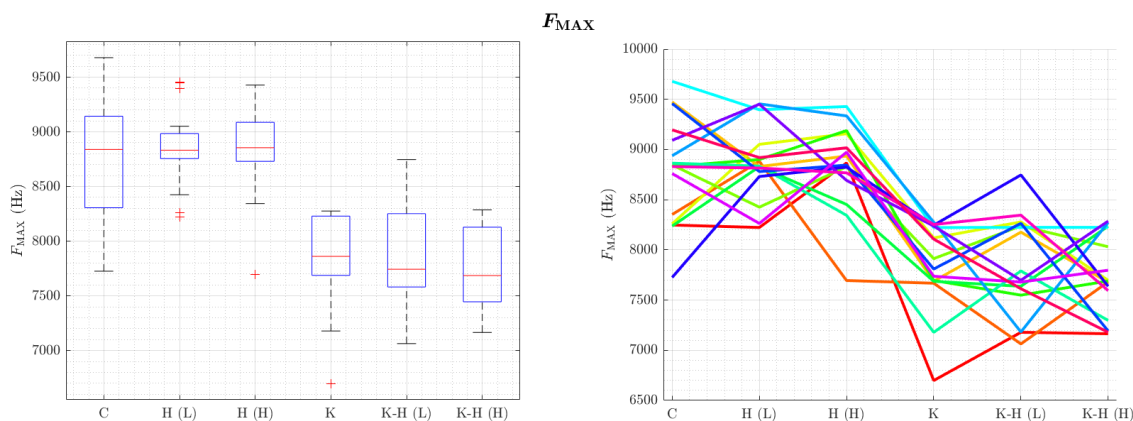
Hodnocení chování rypounů během experimentu odhalilo, že ne všem rybám navodil ketamin příznaky podobné pozitivním symptomům schizofrenie (např. hyperlokomoce nebo chaotické pohyby). V těchto případech měl ketamin na jedince spíše anesteziologický účinek. Do statistického vyhodnocení však bylo zařazeno všech 16 jedinců, aby bylo dosaženo vyšší síly testu.

Výsledky z Friedmanova testu jsou uvedeny v tabulce 3.5. Test odhalil signifikantní rozdíl mezi skupinami u parametrů F_{MAX} , LFS , T_1S , T_2S a HFS/LFS . Post-hoc analýza prováděná pomocí Wilcoxonova testu pro párová měření poté ukázala, že signifikantní rozdíly nastávaly pro každý zmiňovaný parametr mezi skupinami, které nebyly intoxikovány ketaminem {C, H (L), H (H)} a mezi skupinami, u kterých intoxikace ketaminem proběhla – a to i po podání haloperidolu {K, K-H (L), K-H (H)}. Významné rozdíly byly pozorovány pro každou dvojici mezi těmito skupinami, přičemž uvnitř těchto skupin významné rozdíly nalezeny nebyly.

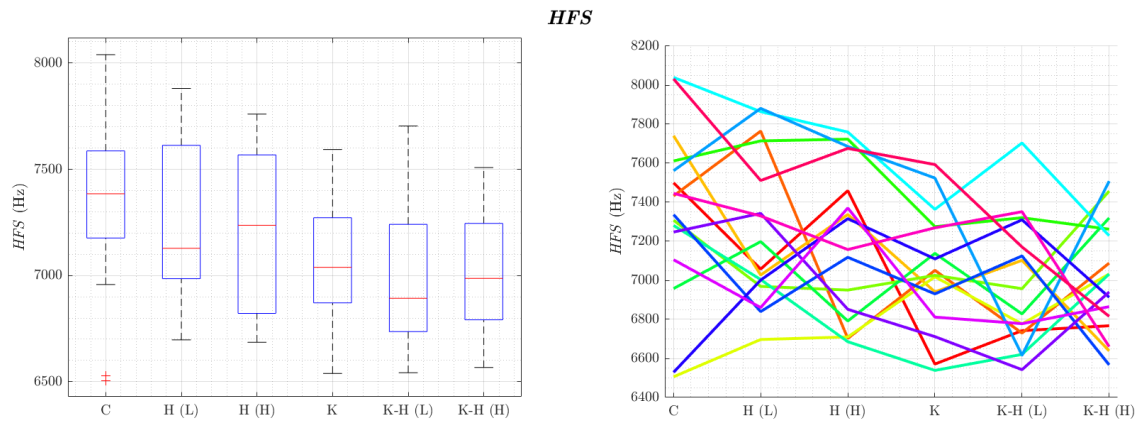
Na obrázcích 3.8 až 3.13 jsou znázorněny distribuce hodnot u všech parametrů (vlevo) a pro lepší znázornění změn hodnot pro každého jedince po podání určitého psychofarmaku i grafy paralelních souřadnic (*parallel coordinates*, vpravo). Z obrázků je patrné, že u parametrů F_{MAX} a LFS došlo mezi skupinami neintoxikovanými ketaminem {C, H (L), H (H)} a skupinami intoxikovanými ketaminem {K, K-H (L), K-H (H)} k signifikantnímu snížení. U parametrů T_1S , T_2S a HFS/LFS naopak k signifikantnímu zvýšení. U parametru HFS byl pozorován nesignifikantní pokles mezi těmito skupinami.

Parametr	$\chi^2(df = 5, n = 16)$	p -val
F_{MAX}	55.643	1.925e-10
HFS	10.343	0.066
LFS	57.393	1.259e-10
T_1S	58.679	1.140e-10
T_2S	58.571	1.140e-10
HFS/LFS	60.929	4.687e-11

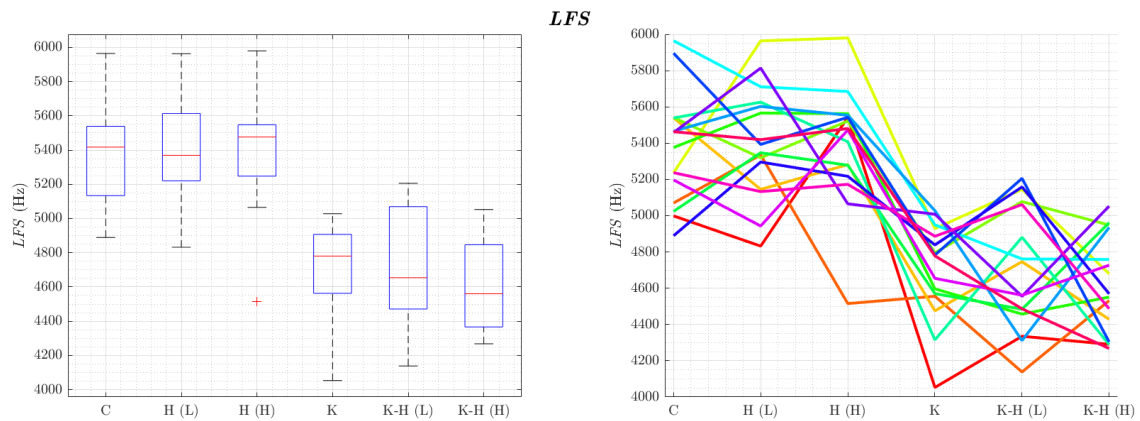
Tabulka 3.5: Výsledky Friedmanova testu pro nalezení rozdílu parametrů EOD získaných ze scalogramů mezi zkoumanými skupinami (C, H (L), H (H), K, K-H (L), K-H (H)) – χ^2 označuje hodnoty testové statistiky a p -val označuje korigované p -hodnoty pomocí Bonferroniho-Holmovy metody. U parametrů F_{MAX} , LFS , T_1S , T_2S a HFS/LFS byla zaznamenána signifikantní p -hodnota.



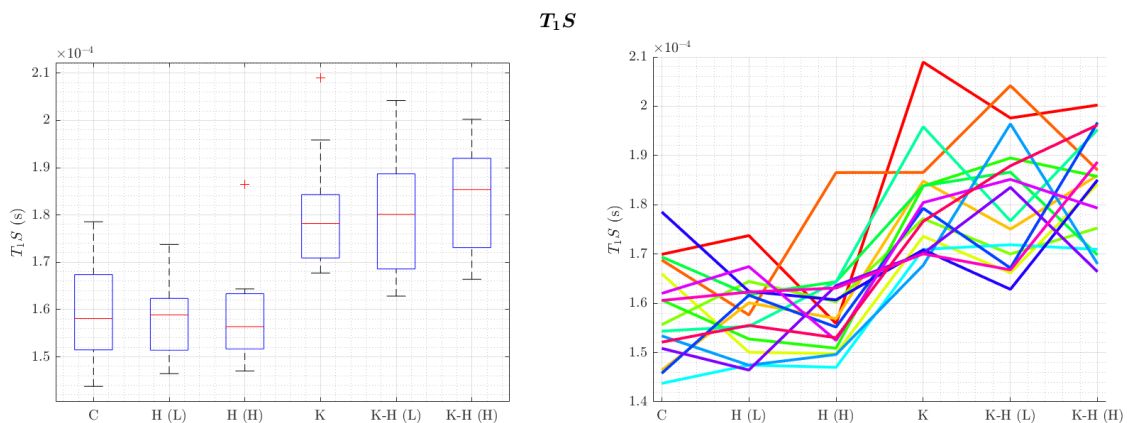
Obrázek 3.8: Graf typu boxplot ilustrující rozdělení hodnot parametru F_{MAX} (vlevo) a graf paralelních souřadnic (vpravo) popisující změny hodnot parametru F_{MAX} po podání psychofarmak – každý jedinec je označen jinou barvou.



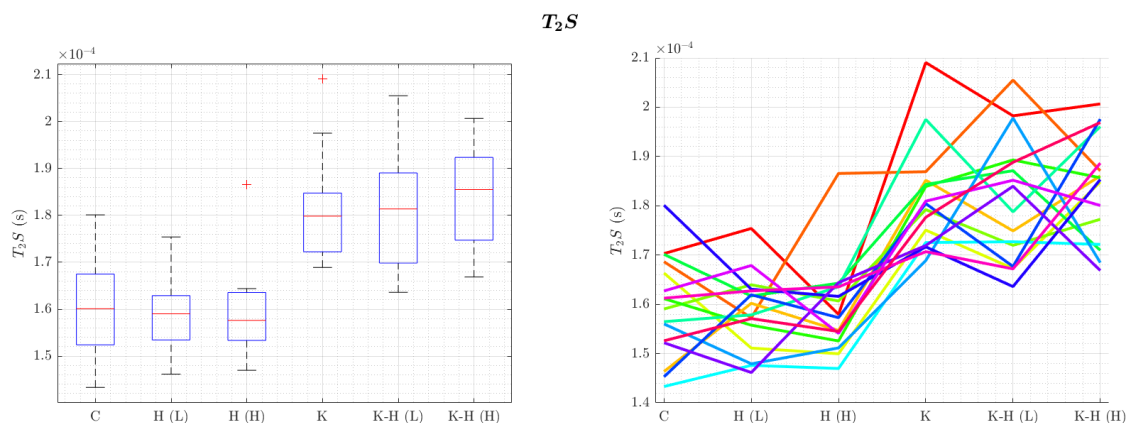
Obrázek 3.9: Graf typu boxplot ilustrující rozdělení hodnot parametru HFS (vlevo) a graf paralelních souřadnic (vpravo) popisující změny hodnot parametru HFS po podání psychofarmak – každý jedinec je označen jinou barvou.



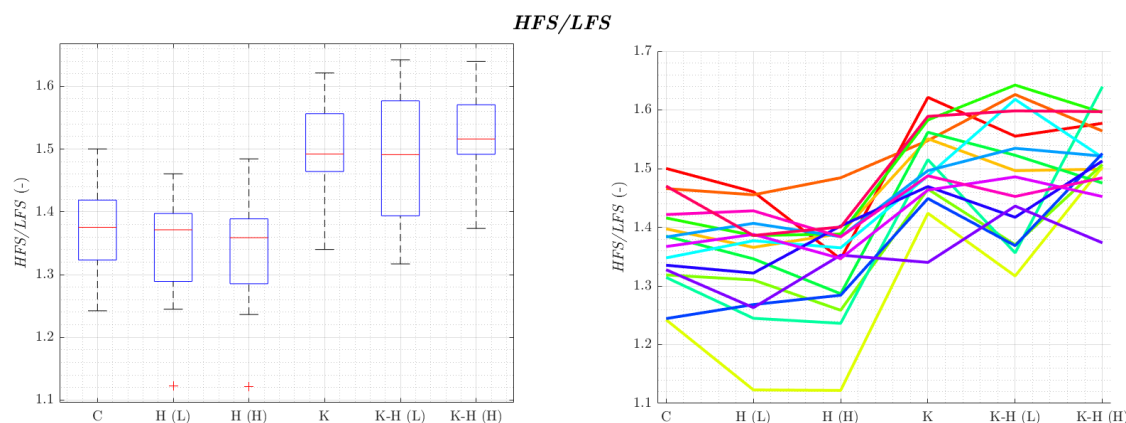
Obrázek 3.10: Graf typu boxplot ilustrující rozdělení hodnot parametru LFS (vlevo) a graf paralelních souřadnic (vpravo) popisující změny hodnot parametru LFS po podání psychofarmak – každý jedinec je označen jinou barvou.



Obrázek 3.11: Graf typu boxplot ilustrující rozdělení hodnot parametru T_1S (vlevo) a graf paralelních souřadnic (vpravo) popisující změny hodnot parametru T_1S po podání psychofarmak – každý jedinec je označen jinou barvou.



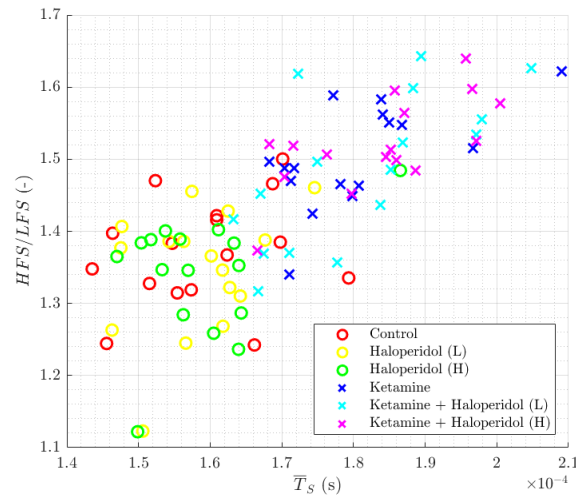
Obrázek 3.12: Graf typu boxplot ilustrující rozdělení hodnot parametru T_2S (vlevo) a graf paralelních souřadnic (vpravo) popisující změny hodnot parametru T_2S po podání psychofarmak – každý jedinec je označen jinou barvou.



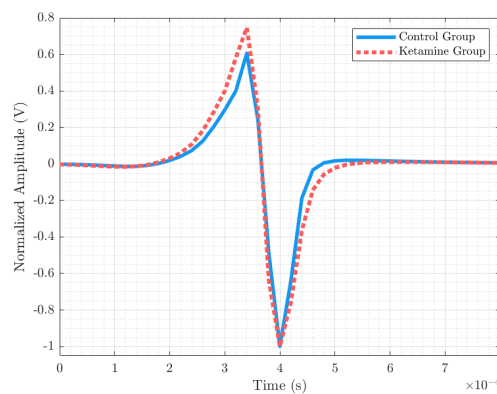
Obrázek 3.13: Graf typu boxplot ilustrující rozdělení hodnot parametru HFS/LFS (vlevo) a graf paralelních souřadnic (vpravo) popisující změny hodnot parametru HFS/LFS po podání psychofarmak – každý jedinec je označen jinou barvou.

Pro lepší vizualizaci lze data zobrazit ve 2D prostoru využitím dvou statisticky nejvýznamnějších parametrů. Nejmenších p -hodnot z Friedmanova testu dosahoval parametr HFS/LFS a hned za ním parametry z časové oblasti. Z výsledků v grafech a tabulkách je patrné, že hodnoty u parametrů T_1S a T_2S (směr vlevo a vpravo) vychází velmi podobně a proto budu pro vizualizaci používat jejich průměr \bar{T}_S . Závislost těchto parametrů zachycuje obrázek 3.14. Z obrázku lze vypořadovat, že na základě těchto dvou parametrů bychom mohli rozlišit skupiny intoxikované ketaminem od skupin neintoxikovaných ketaminem s relativně dobrou přesností.

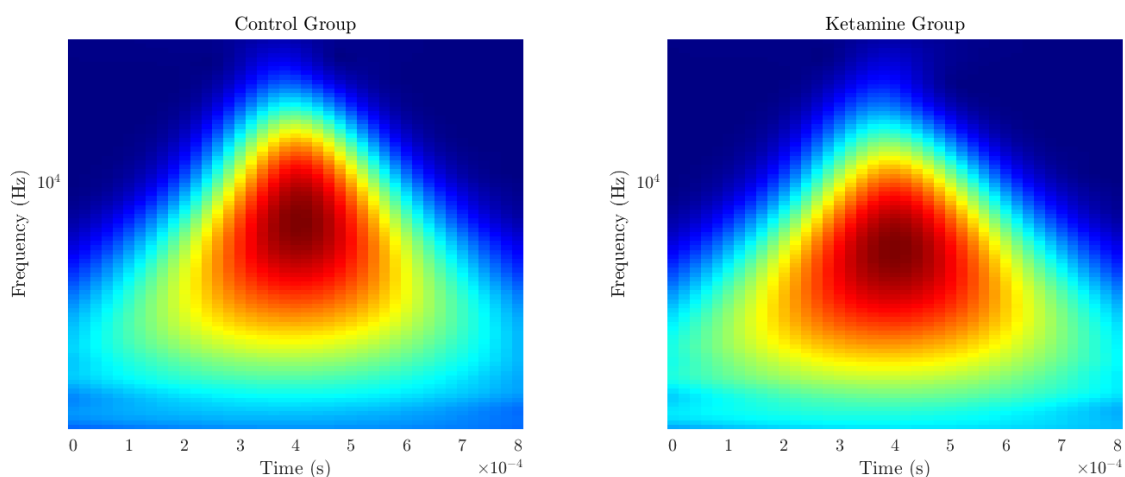
Výsledky indikují, že po podání ketaminu došlo k modifikacím tvarů EOD jedinců. Pro detailnější ilustraci těchto změn je na obrázku 3.15a znázorněn pulz specifického jedince, který vznikl průměrováním všech jeho vyslaných EOD a průměrný pulz toho samého jedince po intoxikaci ketaminem. Stále v rámci jednoho jedince byl ze všech jeho scalogramů vytvořen jeden průměrný. Dva průměrné scalogramy vzniklé ze záznamů při kontrolním měření a při intoxikaci ketaminem jsou znázorněny na obrázku 3.15b.



Obrázek 3.14: Vynesení závislosti parametru HFS/LFS na parametru \bar{T}_S , který vznikl jako průměr parametrů T_1S a T_2S . Skupiny u kterých proběhla intoxikace ketaminem v jakékoliv formě jsou označeny křížky (x), ostatní skupiny jsou označeny kolečky (o).



(a) Časová oblast



(b) Časově-frekvenční oblast

Obrázek 3.15: Efekt ketaminu na tvar EOD – (a) Časová oblast: Modrou barvou je vyznačen průměrný EOD jedince z kontrolního měření. Červenou barvou je vyznačen průměrný EOD toho samého jedince pod vlivem ketaminu. (b) Časově-frekvenční oblast: Průměrný scalogram jedince z kontrolního měření (vlevo). Průměrný scalogram toho samého jedince pod vlivem ketaminu (vpravo).

4 Diskuze

V první části analýzy byl zkoumán vliv reprezentace EOD na zachycení interindividuálních rozdílů ve tvarech EOD. Z výsledků mapování plyne, že při použití časově-frekvenční reprezentace získané pomocí spojitě vlnkové transformace je dosaženo nejlepší separovatelnosti jedinců na základě jednotlivých EOD. Tím se potvrdil předpoklad, že tento popis přinese největší množství informace o míře variability tvarů EOD napříč jedinci. Rovněž tento poznatek koresponduje s literaturou. [19] Nevýhodou využití tohoto vyjádření může být vysoká výpočetní náročnost, která pro daný počet EOD byla více než 5-krát vyšší než při použití reprezentace ve spektrální oblasti a téměř 7-krát vyšší než při použití původního vyjádření EOD v časové oblasti.

Při porovnávání algoritmů učení s učitelem pro separaci signálů od dvou jedinců dosahoval nejlepších výsledků SVM klasifikátor na datech z originálního vysokodimenzionálního prostoru. Ani tyto výsledky však nebyly porovnatelné se závěry ze studie Matiasa a kol. [28]. Algoritmus dosahoval přesnosti klasifikace 0.883, avšak hodnota Matthewsova korelačního koeficientu byla 0.685 s velkým mezikvartilovým rozpětím (0.8517). Klasifikátor tak na některých datasetech produkoval velmi kvalitní výsledky a na některých naopak vzorky klasifikoval prakticky náhodně. Data nešla efektivně separovat ani za použití korelační analýzy, která evidentně nebyla pro tento typ příznaků dostatečně citlivá.

Existuje několik důvodů, proč mohl SVM klasifikátor na použitých datech selhávat. Prvním důvodem může být použití špatné jádrové funkce u algoritmu SVM. Autoři [28] využívali RBF jádrovou funkci, díky které je při správném nastavení parametrů možné dosáhnout výrazně lepších výsledků ve srovnání s lineárním kernelem. Jednodušší varianta však v této práci byla zvolena kvůli výpočetní náročnosti, neboť bylo manipulováno s daty z prostoru vysoké dimenze a konfigurace jednotlivých parametrů např. pomocí metody *grid search* by byla v tomto prostoru obtížná.

S výpočetní náročností souvisí nevhodně zvolená selekce příznaků. Redukce dat pomocí PCA výsledky výrazně zhoršila, ačkoliv se snížila výpočetní náročnost algoritmu. Klasifikace byla prováděna pouze na prvních dvou získaných komponentách, což evidentně mělo za následek velký úbytek informace. Sofistikovanější selekce příznaků by tak mohla zlepšit výkonnost klasifikátoru, neboť by umožňovala korektní nastavení parametrů jiné jádrové funkce pro SVM. Z porovnání výkonnosti na trénovací a testovací množině můžeme ale vyvozovat, že kvalita klasifikace byla snížena spíše heterogenitou trénovacích a testovacích vzorků než špatně zvolenou reprezentací. V budoucnu by bylo užitečné tyto odlišnosti mezi trénovací a testovací množinou lépe kvantifikovat (například aplikovat podobný postup jako při vyhodnocování vlivu psychofarmak).

Dalším důvodem selhání algoritmu může být rozdílnost charakteristik EOD druhu *Gnathonemus petersii* a druhu *Gymnotus*. Elektrický pulz druhu *Gymnotus*

je tvarově rozmanitější, neboť obsahuje více překmitů než EOD rypouna Petersova. Zároveň trvá déle (přibližně 1–2 ms), a tak je možné při stejné vzorkovací frekvenci zachytit větší množství informace o tvaru EOD. Tyto rozdíly mohou znamenat odlišné distorze EOD při změně okolního prostředí přidáním objektu s kapacitními vlastnostmi (vlození druhé ryby do akvária). Je proto na místě ověřit schopnost separace signálů ryb druhu *Gymnotus* pomocí algoritmu vzniklého v této práci, a naopak ověřit schopnost separace signálů rypounů s využitím algoritmu od Matiasa a kol. [28].

Příčinou špatné výkonnosti klasifikátoru může být samozřejmě i nekvalitní výroba testovací množiny, která vznikla manuálním značením EOD od jednotlivých ryb na základě změny amplitudy a polaritý signálu v závislosti na poloze ryby v akváriu. Matias a kol. [28] tvořili validační množinu pomocí elektrod, které byly po celou dobu měření připevněny v blízkosti ryby, a tím se stává jejich klasifikace věrohodnější. Nevýhodou takovéto validace je však omezení schopnosti pohyblivosti jedince, což má za následek nutnou simulaci volného pohybu místo volného pohybu přirozeného.

Použití algoritmu DBSCAN v originálním prostoru nevedlo ani v jednom případě na nalezení dvou shluků. Hlavním důvodem je nedostatek vzorků pro práci v tak vysokodimenzionálním prostoru, který má díky prokletí dimenzionality tendenci řídnout. Algoritmus založený na hustotě bodů v okolí není proto vhodnou volbou. Příčinou mohou být i špatně zvolené hodnoty vstupních parametrů, které byly z důvodu výpočetní náročnosti nastavovány pomocí metody popsané v sekci 2.5.4 a nebyla u nich možná vizuální kontrola korektnosti shlukování. Sofistikovanější nastavení parametrů nebylo kvůli výpočetní náročnosti přijatelné. Algoritmus K-Means v originálním prostoru dosahoval lepších výsledků, neboť pracuje s předem definovaným počtem hledaných shluků.

Použití t-SNE jako metody redukce dimenze vedlo k lepším výsledkům než použití metody PCA. U poloviny datasetů bylo možné po aplikaci PCA nalézt dva oddělitelné shluky, avšak ve zbytku případů byl viditelný pouze jeden shluk (obrázek 3.4). To je důvodem, proč aplikace algoritmu DBSCAN na takto redukovaná data vedla opět k horším výsledkům než aplikace algoritmu K-Means. Z grafů 3.3 a hodnot v tabulce 3.4 plyne, že PCA & DBSCAN dosahoval lepší přesnosti klasifikace než PCA & K-Means, a tak se může zdát, že ho svou výkonností předčil. Je to ale způsobeno nevybalancovaností některých datasetů, a proto je v tomto případě více vypovídající hodnota Matthewsova korelačního koeficientu, která zachytí situace, ve kterých algoritmus predikuje pouze jednu třídu.

Výsledkem mapování pomocí t-SNE byly vždy dva jasně ohraničené shluky (obrázek 3.4 nebo 3.5). Tato metoda však v některých případech produkovala shluky lineárně neseparabilní, které algoritmus K-Means nebyl schopen oddělit. Za těchto okolností se vyplatilo využívat algoritmus DBSCAN. Varianta t-SNE & DBSCAN tak dosahovala vysoké hodnoty přesnosti klasifikace ($ACC = 0.994$) i vysoké hodnoty Matthewsova korelačního koeficientu ($MCC = 0.983$). Rozdělení hodnot u obou metrik navíc vykazovalo velmi malé mezikvartilové rozpětí.

Použití algoritmu učení bez učitele vedlo tedy k daleko lepším výsledkům než použití algoritmu učení s učitelem (obrázek 3.6). Výhodou použití klasifikace bez učitele je snížení časové náročnosti při provádění experimentu. Není totiž potřeba tvorba trénovací množiny, čímž odpadá nutnost nahrávání samostatných ryb v akváriu. To představuje snížení zátěže pro osobu provádějící experiment, ale hlavně snížení zátěže pro zkoumané ryby. Ačkoliv Matias a kol. [28] nikde explicitně neuváděli celkový čas potřebný pro oddělení nahrávek dvou jedinců můžeme předpokládat, že

jejich algoritmus bude výrazně časově nákladnější, neboť pracovali s RBF jádrovou funkcí s optimalizovanými parametry a používali 15-minutové záznamy.

Algoritmus t-SNE & DBSCAN navíc našel vždy dva separabilní shluky s konstantním nastavením parametrů pro obě techniky. U poskytnutých datasetů tedy nebyl vyžadován zásah uživatele v rámci ladění hodnot parametrů klasifikátoru. Po doběhnutí t-SNE & DBSCAN by však měla následovat vizuální kontrola výsledku mapování a shlukování, která by měla ověřit, že algoritmus opravdu dva shluky našel a správně separoval. Druhou fází kontroly pak může být i sonifikovaný signál ve videozáznamu. Hlavní nevýhodou algoritmu t-SNE & DBSCAN je nutnost manuálního přiřazení signálů ke konkrétním rybám na základě charakteristik signálu (amplituda, polarita) a poloze jedinců. Tento krok není nijak složitý ani časově náročný, nicméně automatizované přiřazení signálů, by bylo uživatelsky přívětivější.

Výsledky statistické analýzy odhalily signifikantní rozdíly u parametrů EOD mezi skupinami, které nebyly intoxikovány ketaminem {C, H (L), H (H)} a které intoxikovány ketaminem byly, a to v jakékoliv formě {K, K-H (L), K-H (H)}. Významný rozdíl byl pozorován pro každou dvojici mezi těmito skupinami, přičemž uvnitř těchto skupin žádný významný rozdíl nalezen nebyl. Signifikantní snížení parametru F_{MAX} , který popisuje frekvenci s maximální energií ve scalogramu a signifikantní zvýšení parametrů T_1S a T_2S , které popisují rozptyl energie v časové oblasti indikují, že podání ketaminu má za následek prodloužení/zpomalení EOD jedinců. Tomuto závěru napovídají i průběhy vykreslené na obrázku 3.15. Komplementárně k tomuto zjištění bylo prokázáno signifikantní snížení rozptylu energie směrem k nižším frekvencím charakterizované změnami parametrů LFS a HFS/LFS .

Současný výzkum Langové a kol. [1] ukazuje, že podání vysoké dávky ketaminu (40 mg/l) má za následek signifikantní snížení počtu EOD. Tento efekt však nebyl normalizován podáním nízké dávky haloperidolu (0.041 mg/l), přičemž podání samotného haloperidolu rovněž nemělo vliv na elektrickou aktivitu rypouna. [1] Dosažené výsledky této práce korespondují s dosavadními poznatky a rozšiřují kvantifikaci elektrické aktivity o mikroskopické změny tvarů v rámci jednotlivých EOD. Bylo prokázáno, že ketamin má vliv na modifikace parametrů EOD a tyto modifikace nejsou normalizovány podáním haloperidolu. V této práci byl zkoumán efekt jak nízké (0.041 mg/l), tak vysoké (0.164 mg/l) dávky haloperidolu, přičemž se ani jedna neukázala být efektivní při stabilizaci navozených projevů. Pomocí použitého přístupu vyhodnocení elektrické aktivity tudíž nebyla prokázána prediktivní validita nového animálního modelu schizofrenie. V navazujících studiích je proto nezbytné zjistit, zda vysoká dávka haloperidolu použitá v této práci bude mít vliv na lokomoční projevy rypouna a změnu jeho elektrické aktivity z makroskopického pohledu. Rovněž se nabízí použití jiného antipsychotika, které by mohlo lépe navozené symptomy normalizovat. [1] Jelikož byla prokázána změna tvaru EOD po podání ketaminu, zůstává otázkou, zda bude separační algoritmus, který je založen na variabilitě tvarů EOD, dosahovat stejné úspěšnosti jako v případě neintoxikovaných ryb.

Výsledky o změně tvaru EOD vlivem ketaminu byly z důvodu jejich fyziologické interpretace konzultovány s Mgr. Veronikou Langovou, která se zabývá výzkumem rypouna Petersova jako vhodného organismu pro nový animální model schizofrenie. K dosaženým poznatkům se vyjádřila následovně: "*Tvar vlny EOD je u slabě elektrických ryb dán typem inervace elektrického orgánu, počtem elektrocytů v elektrickém orgánu, relativními elektrickými vlastnostmi elektrocytů ve vztahu k vodě a synchronizací depolarizace elektrocytů. Ketamin jako neselektivní antagonist blo-*

kuje NMDA receptory, čímž brání přechodu kationtů přes plasmatickou membránu do buněk a následné depolarizaci buněk, přičemž se váže zejména na inhibiční interneurony. Budoucí výzkum může odhalit zda dochází vlivem ketaminu ke změnám přímo na membráně elektrocytů, ke změnám v aktivitě motoneuronů inervujících elektrocyty a jejich případné inhibici interneurony, či ke změnám v aktivitě buněk ve vyšších mozkových centrech aktivujících motoneurony (*Command nucleus*)".

Z důvodu nenormálního rozdělení hodnot zkoumaných parametrů uvnitř skupin byly použity pro statistickou analýzu neparametrické testy, které se vyznačují nižší silou testu než mají testy parametrické. I přes tuto nevýhodu bylo možné pozorovat jasné rozdíly mezi skupinami. Pro zachycení jemnějších změn by bylo nutné data transformovat, aby normální distribuci následovaly a použít testy parametrické. Tento přístup by mohl odhalit i změny parametru *HFS*, jelikož z obrázku 3.9 lze pozorovat podobný trend jako je tomu u ostatních parametrů, na jehož odhalení nemusely být použité testy dostatečně citlivé. Dalším faktorem, který mohl ovlivnit výsledky je zařazení všech naměřených ryb do analýzy, ačkoliv jejich reakce na dané psychofarmakum byly odlišné. Více vypovídající by proto bylo zkoumat elektrickou aktivitu spolu s chováním jedinců a analyzovat je separátně v závislosti na jejich navozených symptomech.

5 Závěr

Tato diplomová práce se zabývala analýzou elektrické aktivity rypouna Petersova a vyhodnocením změn této aktivity po podání určitých psychofarmak. Bylo zjištěno, že reprezentace EOD pomocí spojitě vlnkové transformace vede na zachycení vysoké míry interindividuální variability rypounů a může proto být využita při algoritmech pro separaci dvou jedinců v jednom akváriu. S použitím této reprezentace byl nalezen nový a efektivní způsob identifikace jedinců založený na nelineární metodě redukce dimenze (t-SNE) a algoritmu shlukování (DBSCAN). Nalezený algoritmus usnadňuje postup při skupinových experimentech, neboť pro úspěšnou separaci nepotřebuje trénovací data. To přináší hlavně zmírnění stresové zátěže pro nahrávané jedince. Separační algoritmus bude v budoucnu uplatněn v praxi při studiu elektrokomunikace rypounů.

Z časově-frekvenčního vyjádření bylo vybráno několik parametrů charakterizujících tvar EOD a následně vyhodnocovány jejich změny způsobené intoxikací ketaminem, haloperidolem nebo kombinací obou substancí. Z výsledků plyne, že ketamin má signifikantní vliv na změnu vybraných charakteristik, což se v praxi projevuje delší dobou trvání EOD. Vliv ketaminu na elektrickou aktivitu rypouna Petersova lze tedy pozorovat už na úrovních jednotlivých EOD a ne jen v rámci globální struktury signálu. Normalizující efekt haloperidolu však nebyl prokázán. Tímto zvoleným přístupem analýzy tedy nebylo možné prokázat prediktivní validitu nového animálního modelu schizofrenie.

V této práci byla pozornost zaměřena na elektrickou aktivitu rypouna Petersova v rámci jednotlivých EOD. Podstatnější část informace však leží v temporálním kódování informací pomocí sekvencí IPI. Z tohoto důvodu se navazující výzkum bude soustředit na hlubší prozkoumání vzorců této aktivity, což povede k rozšíření poznatků o schopnostech elektrolokace, a hlavně elektrokomunikace. Skvělým prvotním nástrojem pro identifikaci těchto vzorců by mohly být sonifikované elektronahrávky ve videozáznamu, které byly vytvořeny v této diplomové práci a které umožňují propojení informací o behaviorálních projevech a elektrické aktivitě rypounů.

Bibliografie

- [1] Veronika Langova et al. „Ketamine disrupts locomotion and electrolocation in a novel model of schizophrenia, *Gnathonemus petersii* fish“. In: *Journal of neuroscience research* (břez. 2023). DOI: 10.1002/jnr.25186.
- [2] Veronika Langova et al. „The Role of Zebrafish and Laboratory Rodents in Schizophrenia Research“. In: *Frontiers in Psychiatry* 11 (srp. 2020), s. 703. DOI: 10.3389/fpsy.2020.00703.
- [3] Peter Kunze a Hans-Ulrich Wezstein. „Apomorphine and haloperidol influence electric behaviour of a mormyrid fish“. In: *Zeitschrift für Naturforschung. C, Journal of biosciences* 43 (čvn. 2014), s. 105–7. DOI: 10.1515/znc-1988-1-220.
- [4] Daniel Javitt. „Glutamatergic Theories of Schizophrenia“. In: *The Israel journal of psychiatry and related sciences* 47 (led. 2010), s. 4–16.
- [5] Robert McCutcheon, John Krystal a Oliver Howes. „Dopamine and glutamate in schizophrenia: biology, symptoms and treatment“. In: *World Psychiatry* 19 (ún. 2020), s. 15–33. DOI: 10.1002/wps.20693.
- [6] Patrik Roser, Wolfram Kawohl a Georg Juckel. „Chapter 20 - The loudness dependence of auditory evoked potentials as an electrophysiological marker of central serotonergic neurotransmission: implications for clinical psychiatry and psychopharmacotherapy“. In: *Handbook of the Behavioral Neurobiology of Serotonin*. Ed. Christian P. Müller a Kathryn A. Cunningham. Sv. 31. Handbook of Behavioral Neuroscience. Elsevier, 2020, s. 361–374. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64125-0.00020-7>. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780444641250000207>.
- [7] Tomas Palenicek et al. „Electroencephalographic Spectral and Coherence Analysis of Ketamine in Rats: Correlation with Behavioral Effects and Pharmacokinetics“. In: *Neuropsychobiology* 63 (břez. 2011), s. 202–18. DOI: 10.1159/000321803.
- [8] Sherry Zakhary et al. „A Behavioral and Molecular Analysis of Ketamine in Zebrafish“. In: *Synapse (New York, N.Y.)* 65 (ún. 2011), s. 160–7. DOI: 10.1002/syn.20830.
- [9] Gerhard Emde et al. „Electric fish as natural models for technical sensor systems“. In: *Proc SPIE* 7365 (čvc. 2009). DOI: 10.1117/12.821668.
- [10] Jacob Engelmann et al. „Coding of Stimuli by Ampullary Afferents in *Gnathonemus petersii*“. In: *Journal of neurophysiology* 104 (říj. 2010), s. 1955–68. DOI: 10.1152/jn.00503.2009.

- [11] Jacob Engelmann et al. „The Schnauzenorgan-response of *Gnathonemus petersii*“. In: *Frontiers in zoology* 6 (zář. 2009), s. 21. DOI: 10.1186/1742-9994-6-21.
- [12] Gerhard Emde a Jacob Engelmann. „Detection and generation of electric signals | Active Electrolocation“. In: *Encyclopedia of Fish Physiology* 1 (pros. 2011), s. 375–386. DOI: 10.1016/B978-0-12-374553-8.00134-9.
- [13] S. Schuster. „Count and spark? The echo response of the weakly electric fish *Gnathonemus petersii* to series of pulses“. In: *Journal of Experimental Biology* 204.8 (dub. 2001), s. 1401–1412. DOI: 10.1242/jeb.204.8.1401. URL: <https://doi.org/10.1242/jeb.204.8.1401>.
- [14] Martin Worm, Tim Landgraf a Gerhard Emde. „Electric signal synchronization as a behavioural strategy to generate social attention in small groups of mormyrid weakly electric fish and a mobile fish robot“. In: *Biological Cybernetics* 115 (pros. 2021). DOI: 10.1007/s00422-021-00892-8.
- [15] S. Skeels, G. von der Emde a T. Burt de Perera. „Mormyrid fish as models for investigating sensory-motor integration: A behavioural perspective“. In: *Journal of Zoology* 319.4 (led. 2023), s. 243–253. DOI: 10.1111/jzo.13046. URL: <https://doi.org/10.1111/jzo.13046>.
- [16] Robert E. Landsman. „Sex differences in external morphology and electric organ discharges in imported *Gnathonemus petersii* (Mormyriiformes)“. In: *Animal Behaviour* 46.3 (zář. 1993), s. 417–429. DOI: 10.1006/anbe.1993.1211. URL: <https://doi.org/10.1006/anbe.1993.1211>.
- [17] John D. Crawford. „Individual and sex specificity in the electric organ discharges of breeding mormyrid fish (*Pollimyrus isidori*)“. In: *Journal of Experimental Biology* 164.1 (břez. 1992), s. 79–102. DOI: 10.1242/jeb.164.1.79. URL: <https://doi.org/10.1242/jeb.164.1.79>.
- [18] Cameron R. Turner et al. „Phylogenetic comparative analysis of electric communication signals in ghost knifefishes (Gymnotiformes: Apterontidae)“. In: *Journal of Experimental Biology* 210.23 (pros. 2007), s. 4104–4122. DOI: 10.1242/jeb.007930. URL: <https://doi.org/10.1242/jeb.007930>.
- [19] William Crampton et al. „Multivariate classification of animal communication signals: A simulation-based comparison of alternative signal processing procedures using electric fishes“. In: *Journal of physiology, Paris* 102 (pros. 2008), s. 304–21. DOI: 10.1016/j.jphysparis.2008.10.001.
- [20] Gerhard Emde a Stephan Schwarz. „Imaging of Objects through active electrolocation in *Gnathonemus petersii*“. In: *Journal of physiology, Paris* 96 (čvc. 2002), s. 431–444. DOI: 10.1016/S0928-4257(03)00021-4.
- [21] Gerhard Emde et al. „Electric fish as natural models for technical sensor systems“. In: *Proc SPIE* 7365 (čvc. 2009). DOI: 10.1117/12.821668.
- [22] Gerhard Emde a R. Zelick. „Behavioral detection of electric signal waveform distortion in the weakly electric fish, *Gnathonemus petersii*“. In: *Journal of Comparative Physiology* 177 (zář. 1995), s. 493–501. DOI: 10.1007/BF00187484.

- [23] Christa Baker et al. „Multiplexed temporal coding of electric communication signals in Mormyrid fishes“. In: *The Journal of experimental biology* 216 (čvc. 2013), s. 2365–79. DOI: 10.1242/jeb.082289.
- [24] Claudine Teyssèdre a Jacques Serrier. „Temporal spacing of signals in communication, studied in weakly-electric mormyrid fish (Teleostei, Pisces)“. In: *Behavioural Processes* 12 (led. 1986), s. 77–98. DOI: 10.1016/0376-6357(86)90073-2.
- [25] Bernd Kramer. „Electric and Motor responses of the Weakly electric fish, *Gnathonemus petersii* (Mormyridae), to play-back of social signals“. In: *Behavioral Ecology and Sociobiology* 6 (1979), s. 67–79.
- [26] K. Pappas a Kent Dunlap. „Sensory systems, perception, and learning | Shocking Comments: Electrocommunication in Teleost Fish“. In: *Encyclopedia of Fish Physiology* 1 (pros. 2011), s. 699–706. DOI: 10.1016/B978-0-12-374553-8.00079-4.
- [27] G.K.H. Zupanc. „Electrocommunication“. In: *Encyclopedia of Neuroscience* (led. 2010), s. 839–848. DOI: 10.1016/B978-008045046-9.01956-2.
- [28] Paulo Matias, Jan Slaets a Reynaldo Pinto. „Individual discrimination of freely swimming pulse-type electric fish from electrode array recordings“. In: *Neurocomputing* 153 (pros. 2014). DOI: 10.1016/j.neucom.2014.11.037.
- [29] Ryan Wong a Carl Hopkins. „Electrical and behavioral courtship displays in the mormyrid fish *Brienomyrus brachyistius*“. In: *The Journal of experimental biology* 210 (srp. 2007), s. 2244–52. DOI: 10.1242/jeb.003509.
- [30] The MathWorks Inc. *MATLAB version: 9.12.0.1884302 (R2022a)*. Natick, Massachusetts, United States, 2022. URL: <https://www.mathworks.com>.
- [31] R Core Team. *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria, 2021. URL: <https://www.R-project.org/>.
- [32] Gabriella Hanrahan et al. „CHEMOMETRICS AND STATISTICS | Experimental Design“. In: pros. 2005, s. 8–13. ISBN: 9780123693976. DOI: 10.1016/B0-12-369397-7/00079-0.
- [33] Stéphane Mallat. *A wavelet tour of signal processing (2. ed.)*. Academic Press, 1999, s. I–XXIV, 1–637. ISBN: 978-0-12-466606-1.
- [34] Emmanuel C Ifeachor a Barrie W Jervis. *Digital signal processing*. en. 2. vyd. Boston, MA: Addison-Wesley Educational, řij. 2001.
- [35] Charu Aggarwal, Alexander Hinneburg a Daniel Keim. „On the Surprising Behavior of Distance Metric in High-Dimensional Space“. In: *First publ. in: Database theory, ICDT 200, 8th International Conference, London, UK, January 4 - 6, 2001 / Jan Van den Bussche ... (eds.)*. Berlin: Springer, 2001, pp. 420–434 (=Lecture notes in computer science ; 1973) (ún. 2002).
- [36] Naveen Venkat. „The Curse of Dimensionality: Inside Out“. In: (zář. 2018). DOI: 10.13140/RG.2.2.29631.36006.
- [37] Peter Flach. *Machine learning: The Art and Science of Algorithms that Make Sense of Data*. en. Cambridge, England: Cambridge University Press, zář. 2012.

- [38] S.W. Knox. *Machine Learning: a Concise Introduction*. Wiley Series in Probability and Statistics. Wiley, 2018. ISBN: 9781119439196. URL: https://books.google.cz/books?id=z%5C_pSDwAAQBAJ.
- [39] Christopher M. *Pattern Recognition and Machine Learning*. en. 1. vyd. Information Science and Statistics. New York, NY: Springer, srp. 2006.
- [40] Sergios Theodoridis. *Machine Learning: A Bayesian and Optimization Perspective (Net Developers) 1st Edition*. San Diego, CA: Academic Press, květ. 2015.
- [41] Laurens van der Maaten a Geoffrey Hinton. „Vizualizing data using t-SNE“. In: *Journal of Machine Learning Research* 9 (lis. 2008), s. 2579–2605.
- [42] Martin Wattenberg, Fernanda Viégas a Ian Johnson. „How to Use t-SNE Effectively“. In: *Distill* (2016). DOI: 10.23915/distill.00002. URL: <http://distill.pub/2016/misread-tsne>.
- [43] George Linderman et al. „Fast interpolation-based t-SNE for improved visualization of single-cell RNA-seq data“. In: *Nature Methods* 16 (břez. 2019), s. 1. DOI: 10.1038/s41592-018-0308-4.
- [44] *2-D correlation coefficient - MATLAB corr2*. <https://www.mathworks.com/help/images/ref/corr2.html>. (Accessed on 05/21/2023).
- [45] Víctor Suárez-Paniagua. „Deep Learning for Information Extraction in the Biomedical Domain“. Dis. pr. Čvc. 2019.
- [46] A.C. Müller a S. Guido. *Introduction to Machine Learning with Python: A Guide for Data Scientists*. O’Reilly Media, 2016. ISBN: 9781449369897. URL: <https://books.google.cz/books?id=vbQ1DQAAQBAJ>.
- [47] *k-means clustering - MATLAB kmeans*. <https://www.mathworks.com/help/stats/kmeans.html>. (Accessed on 05/16/2023).
- [48] Martin Ester et al. „A Density-Based Algorithm for Discovering Clusters in Large Spatial Databases with Noise“. In: *Proceedings of the Second International Conference on Knowledge Discovery and Data Mining*. KDD’96. Portland, Oregon: AAAI Press, 1996, s. 226–231.
- [49] Nadia Rahmah a Imas Sukaesih Sitanggang. „Determination of Optimal Epsilon (Eps) Value on DBSCAN Algorithm to Clustering Data on Peatland Hotspots in Sumatra“. In: *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* 31 (led. 2016), s. 012012. DOI: 10.1088/1755-1315/31/1/012012. URL: <https://doi.org/10.1088/1755-1315/31/1/012012>.
- [50] Erich Schubert et al. „DBSCAN Revisited, Revisited“. In: *ACM Transactions on Database Systems* 42.3 (čvc. 2017), s. 1–21. DOI: 10.1145/3068335. URL: <https://doi.org/10.1145/3068335>.
- [51] Davide Chicco a Giuseppe Jurman. „The advantages of the Matthews correlation coefficient (MCC) over F1 score and accuracy in binary classification evaluation“. In: *BMC Genomics* 21 (led. 2020). DOI: 10.1186/s12864-019-6413-7.
- [52] D. Pereira, Anabela Afonso a Fátima Medeiros. „Overview of Friedman’s Test and Post-hoc Analysis“. In: *Communications in Statistics - Simulation and Computation* 44 (lis. 2015), s. 2636–2653. DOI: 10.1080/03610918.2014.931971.

Přílohy

A Sonifikace elektrického signálu

Přílohou této práce je sonifikovaný signál z jednoho kanálu (Ch1) integrovaný do videozáznamu. Signál vznikl separací EOD od dvou jedinců pomocí algoritmu t-SNE & DBSCAN a vložením dvou tónů (1.5 kHz, 13.5 kHz) reprezentující EOD jedinců na odpovídající pozice signálu (popsáno v sekci 2.6.2).