

České vysoké učení technické v Praze

Fakulta elektrotechnická

Katedra teorie obvodů



Diplomová práce

Neurální kódování sociální paměti u transgenních potkanů  
TgF344-AD - modelu Alzheimerovy choroby

Neural Coding of Social Memory in the TgF344-AD Transgenic  
Rat Model of Alzheimer's Disease

Autor: Bc. Jan Touš

Vedoucí práce: RNDr. David Levčik, Ph.D.

Vedoucí práce - specialista: Ing. Radek Janča, Ph.D.

Studijní program: Lékařská elektronika a bioinformatika

Praha 2024

## I. OSOBNÍ A STUDIJNÍ ÚDAJE

Příjmení: **Touš** Jméno: **Jan** Osobní číslo: **474002**  
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:

**Neurální kódování sociální paměti u transgenních potkanů TgF344-AD - modelu Alzheimerovy choroby**

Název diplomové práce anglicky:

**Neural Coding of Social Memory in the TgF344-AD Transgenic Rat Model of Alzheimer's Disease**

Pokyny pro vypracování:

Alzheimerova choroba (ACH) je nejčastější formou demence u starší populace a představuje mimořádnou zátěž pro zdravotnický systém. Narušení sociálního chování patří mezi typické časné symptomy ACH. Hlavním cílem práce je vytvoření nástrojů pro identifikaci a analýzu specifických vzorců v invazivním EEG u potkanů. Analýza bude použita pro neurální data dříve získaná v FGÚ AV ČR z transgenních potkanů TgF344-AD - animálního modelu Alzheimerovy choroby, konkrétně z oblasti hipokampu CA2, která je známá pro svoji roli v kódování sociální paměti. Podrobné poznání neurálních mechanismů sociální paměti u ACH může přispět k vývoji preventivních strategií zpomalujících progresi ACH.

1. Student vytvoří detektor vysokofrekvenčních oscilací.
2. Student vytvoří nástroje pro frekvenčně-časovou analýzu.
3. Student statisticky porovná incidenci vysokofrekvenčních oscilací mezi transgenními potkany TgF344-AD a kontrolní skupinou a provede frekvenčně-časovou analýzu hipokampálního EEG u obou skupin.

Seznam doporučené literatury:

- [1] Bazzigaluppi, Paolo, et al. 'Early stage attenuation of phase-amplitude coupling in the hippocampus and medial prefrontal cortex in a transgenic rat model of Alzheimer's disease.' *Journal of neurochemistry* 144.5 (2018): 669-679.
- [2] Oliva, Azahara, et al. 'Hippocampal CA2 sharp-wave ripples reactivate and promote social memory.' *Nature* 587.7833 (2020): 264-269.
- [3] Stoilkovic, Milan, et al. 'Neurophysiological signals as predictive translational biomarkers for Alzheimer's disease treatment: effects of donepezil on neuronal network oscillations in TgF344-AD rats.' *Alzheimer's Research & Therapy* 10 (2018): 1-11.

Jméno a pracoviště vedoucí(ho) diplomové práce:

**RNDr. David Levčík, Ph.D. Fyziologický ústav AV ČR, v.v.i., Praha**

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

**Ing. Radek Janča, Ph.D. katedra teorie obvodů FEL**

Datum zadání diplomové práce: **27.01.2023** Termín odevzdání diplomové práce: **09.01.2024**

Platnost zadání diplomové práce: **22.09.2024**

RNDr. David Levčík, Ph.D.  
podpis vedoucí(ho) práce

doc. Ing. Radoslav Bortel, Ph.D.  
podpis vedoucí(ho) ústavu/katedry

prof. Mgr. Petr Páta, Ph.D.  
podpis děkana(ky)

## III. PŘEVZETÍ ZADÁNÍ

Diplomant bere na vědomí, že je povinen 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 studenta

## **Prohlášení**

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

V Praze dne 9.1.2024

.....  
Podpis autora práce

## Poděkování

Rád bych vyjádřil své nejhlubší poděkování vedoucímu práce RNDr. Davidu Levčíkovi, Ph.D., za jeho neocenitelné vedení, trpělivost a odborné rady v průběhu zpracování této práce. Jeho vhléd a odborné znalosti měly zásadní význam pro formování této práce.

Mé upřímné poděkování patří také mému vedoucímu práce - specialistovi, ing. Radku Jančovi, Ph.D., za jeho odborné znalosti a příspěvky, které tuto práci významně obohatily.

Děkuji Mgr. Daniele Černotové a Mgr. Karolíně Hružové z Fyziologického ústavu AV ČR, v.v.i., za pomoc při sběru a poskytnutí dat nezbytných pro tuto práci. Jejich podpora byla zásadní pro úspěšné dokončení této práce.

Zvláštní poděkování patří prof. MUDr. Přemyslu Jiruškovi, Ph.D., z Ústavu fyziologie 2. LF UK, za poskytnutí dat, které byly neocenitelné při dokončení této práce.

Rád bych ocenil přínos každého z těchto jednotlivců, bez nichž by tato práce nemohla vzniknout. Jejich odborné znalosti a podpora byly základním kamenem mé akademické cesty.

Závěrem bych chtěl poděkovat rodině za dlouholetou trpělivost, kterou se mnou měla, a za velkou podporu.

.

## Abstrakt

Alzheimerova choroba (ACH) je nejčastější formou demence u starší populace a představuje mimořádnou zátěž pro zdravotnický systém. Narušení sociálního chování patří mezi typické časné symptomy ACH. Hlavním cílem práce je vytvoření nástrojů pro identifikaci a analýzu specifických vzorců v invazivním EEG u potkanů, a to konkrétně detektoru ostrých vln a hrotů, dále pak nástrojů pro kvantifikaci energie frekvenčních pásem invazivních EEG záznamů a nástrojů pro kvantifikaci mezifrekvenční vazby invazivních EEG záznamů. Analýza bude použita pro neurální data dříve získaná v FGÚ AV ČR z transgenních potkanů TgF344-AD – animálního modelu Alzheimerovy choroby, konkrétně z oblasti hipokampu CA2, která je známá pro svoji roli v kódování sociální paměti. Podrobné poznání neurálních mechanismů sociální paměti u ACH může přispět k vývoji preventivních strategií zpomalujících progresi ACH.

**Klíčová slova:** Alzheimerova choroba, ostré vlny a hroty, potenciály blízkého pole, mezifrekvenční vazba, energie signálu

## Abstract

Alzheimer's disease (AD) is the most common form of dementia in the elderly population and places an extraordinary burden on the healthcare system. Disruption of social behaviour is one of the typical early symptoms of AD. The main objective of this work is to develop tools for the identification and analysis of specific patterns in invasive EEG in rats, namely a sharp wave ripples detector, a tool for quantifying the power of frequency bands of invasive EEG recordings, and a tool for quantifying the cross-frequency coupling of invasive EEG recordings. The analysis will be applied to neural data previously obtained at FGU CAS from TgF344-AD transgenic rats, an animal model of Alzheimer's disease, specifically from the hippocampal region CA2, which is known for its role in social memory encoding. A detailed understanding of the neural mechanisms of social memory in AD may contribute to the development of preventive strategies to slow the progression of AD.

**Keywords:** Alzheimer disease, sharp-wave ripples, local field potentials, cross-frequency coupling, signal power

## Seznam použitých zkratk

|        |  |
|--------|--|
| ACH    | Alzheimerova choroba   |
| SWR    | ostré vlny a hroty (z anglického sharp-wave ripples)                             |
| SNR    | poměr signálu k šumu (z anglického signal to noise ratio)                        |
| LFP    | potenciály blízkého pole (z anglického local field potential)                    |
| PAC    | mezifrekvenční vazba (z anglického phase-amplitude coupling)                     |
| APP    | Amyloidový prekurzorový protein (z anglického amyloid precursor protein)         |
| PSEN1  | Presenilin 1   |
| PSEN2  | Presenilin 2   |
| FACH   | familiární ACH   |
| PSD    | výkonová spektrální hustota (z anglického power spectral density)                |
| FT     | Fourierova transformace  |
| DFT    | diskrétní Fourierova transformace  |
| WT     | vlnková transformace (z anglického wavelet transform)                            |
| RMS    | efektivní hodnota (z anglického root mean square)                                |
| 5-TSMT | Úloha sociální paměti s pěti pokusy (z anglického five-trial social memory task) |
| 5-TOMT | Úloha objektové paměti s pěti pokusy (z anglického 5-trial object memory task)   |
| PPV    | pozitivní prediktivní hodnoty (z anglického positive predictive value),          |
| TP     | počet správně pozitivních (z anglického true positive)                           |
| FP     | počet falešně pozitivních (z anglického false positive).                         |
| SLL    | short-line length  |
| STE    | short-time energy  |
| EM     | expectation-maximization   |
| GMM    | Gaussovský smíšený model (z gaussian mixture model)                              |
| SE     | standardní chyba (z anglického standard error)                                   |
| N gama | nižší gama   |
| V gama | vyšší gama   |
| PLV    | phase-locking value  |
| MVL    | mean vector length   |
| MI     | modulation index   |

## Seznam obrázků

|   |    |
|---|----|
| Obrázek 1: Šest základních frekvenčních pásem LFP signálu .....         | 6  |
| Obrázek 2: Frekvenční složky SWR.....                                   | 7  |
| Obrázek 3: Zobrazení segmentace signálu LFP.....                        | 10 |
| Obrázek 4: Grafické znázornění spojení detekovaných indexů v čase ..... | 27 |
| Obrázek 5: Grafické znázornění izolace časových segmentů.....           | 27 |

## Seznam grafů

|  |    |
|--|----|
| Graf 1: Jádrový odhad hustoty maximální hodnoty magnitudy WT .....                 | 28 |
| Graf 2: Příklad výpočtu maximální hodnoty magnitudy WT .....                       | 29 |
| Graf 3: Příklad výpočtu prahu pomocí EM shlukovacího algoritmu.....                | 30 |
| Graf 4: Zobrazení energie signálu .....  | 33 |
| Graf 5: Porovnání implementovaných detektorů.....                                  | 40 |
| Graf 6: Incidence SWR při spánku po sociální a objektové úloze.....                | 41 |
| Graf 7: Analýza kontaminace signálu .....  | 42 |
| Graf 8: Energie pro jednotlivá frekvenční pásma při záznamu klidové aktivity ..... | 44 |
| Graf 9: PAC théta-nižší gama při záznamu klidové aktivity .....                    | 45 |
| Graf 10: PAC théta-vyšší gama při záznamu klidové aktivity .....                   | 46 |
| Graf 11: Energie singálu při prvním sezení objektové úlohy .....                   | 48 |
| Graf 12: PAC théta-nižší gama při prvním sezení objektové úlohy .....              | 49 |
| Graf 13: PAC théta-vyšší gama při prvním sezení objektové úlohy .....              | 50 |
| Graf 14: Energie signálu při pátém sezení objektové úlohy .....                    | 52 |
| Graf 15: PAC théta-nižší gama při pátém sezení objektové úlohy .....               | 53 |
| Graf 16: PAC théta-vyšší gama při pátém sezení objektové úlohy .....               | 54 |
| Graf 17: Energie singálu při prvním sezení sociální úlohy .....                    | 56 |
| Graf 18: PAC théta-nižší gama při prvním sezení sociální úlohy .....               | 57 |
| Graf 19: PAC théta-vyšší gama při prvním sezení sociální úlohy .....               | 58 |
| Graf 20: Energie singálu při pátém sezení sociální úlohy .....                     | 60 |
| Graf 21: PAC théta-nižší gama při pátém sezení sociální úlohy .....                | 61 |
| Graf 22: PAC théta-vyšší gama při pátém sezení sociální úlohy .....                | 62 |

## Seznam tabulek

|  |    |
|--|----|
| Tabulka 1: Výsledky evaluace detektorů .....   | 39 |
| Tabulka 2: Statistické vyhodnocení energie pro klidovou aktivitu .....                     | 43 |
| Tabulka 3: Statistické vyhodnocení PAC-théta-N gama klidová aktivita .....                 | 45 |
| Tabulka 4: Statistické vyhodnocení PAC-théta-V gama klidová aktivita .....                 | 46 |
| Tabulka 5: Tabulka 3: Statistické vyhodnocení energie pro první sezení objektové úlohy ... | 47 |
| Tabulka 6: Statistické vyhodnocení PAC-théta-N gama - první sezení objektové úlohy .....   | 49 |
| Tabulka 7:: Statistické vyhodnocení PAC-théta-V gama - první sezení objektové úlohy.....   | 50 |
| Tabulka 8: Statistické vyhodnocení energie pro páté sezení objektové úlohy .....           | 51 |
| Tabulka 9: Statistické vyhodnocení PAC-théta-N gama - páté sezení objektové úlohy .....    | 53 |
| Tabulka 11: Statistické vyhodnocení PAC-théta-N gama - páté sezení objektové úlohy .....   | 54 |
| Tabulka 12: Statistické vyhodnocení energie pro první sezení sociální úlohy.....           | 55 |
| Tabulka 13: Statistické vyhodnocení PAC-théta-B gama - první sezení sociální úlohy.....    | 57 |
| Tabulka 14: Statistické vyhodnocení PAC-théta-V gama - první sezení sociální úlohy.....    | 58 |
| Tabulka 15: Statistické vyhodnocení energie pro páté sezení sociální úlohy.....            | 59 |
| Tabulka 16: Statistické vyhodnocení PAC-théta-N gama - páté sezení sociální úlohy.....     | 61 |
| Tabulka 17: Statistické vyhodnocení PAC-théta-V gama - páté sezení sociální úlohy.....     | 62 |

## Popis příloh

Implementace detektoru SWR, výpočtu energie specifických frekvenčních pásem LFP signálu a mezifrekvenční vazby vyjádřené pomocí PLV, MVL a MI. Implementace jsou dostupné na platformě gitlab (<https://gitlab.fel.cvut.cz/tousjan2/neural-coding-of-social-memory-in-the-tgf344-ad-transgenic-rat-model-of-alzheimers-disease>).

Přiložené soubory:

|               |   |
|---------------|---|
| SWR_detection | Implementace detekce SWR                  |
| energy        | Implementace výpočtu energie              |
| PAC           | Implementace výpočtu mezifrekvenční vazby |
| README        | Podrobný popis implementací               |



## Obsah

|   |    |
|---|----|
| 1. Úvod .....   | 1  |
| 2. Teoretický podklad.....  | 1  |
| 2.1. Alzheimerova choroba.....                                    | 1  |
| 2.2. Alzheimerova choroba a sociální paměť .....                  | 2  |
| 2.3. Formy Alzheimerovy choroby .....                             | 2  |
| 2.3.1. Dědičná (familiární) forma Alzheimerovy choroby.....       | 2  |
| 2.3.2. Sporadická forma Alzheimerovy choroby.....                 | 3  |
| 2.4. Animální modely Alzheimerovy choroby.....                    | 4  |
| 2.4.1. Transgenní model – potkani TgF344-AD.....                  | 4  |
| 2.5. Potenciály blízkého pole .....                               | 5  |
| 2.6. Mozkové vlny .....   | 6  |
| 2.7. Ostré vlny a hroty.....                                      | 7  |
| 2.7.1. Vznik a charakteristika SWR.....                           | 7  |
| 2.7.2. Fyziologické role SWR.....                                 | 8  |
| 2.8. Alzheimerova choroba a mozková aktivita .....                | 8  |
| 2.8.1. Změny ve frekvenčních pásmech u Alzheimerovy choroby ..... | 8  |
| 2.8.2. Alzheimerova choroba a SWR.....                            | 9  |
| 2.8.3. Mezifrekvenční vazba u Alzheimerovy choroby.....           | 9  |
| 2.9. Welchův odhad výkonové spektrální hustoty.....               | 10 |
| 2.10. Hilbertova transformace .....                               | 11 |
| 2.11. Mezifrekvenční vazba.....                                   | 12 |
| 2.11.1. Phase-locking value .....                                 | 12 |
| 2.11.2. Mean vector length .....                                  | 13 |
| 2.11.3. Modulation index.....                                     | 14 |
| 2.12. Motivace .....  | 15 |
| 2.13. Hypotézy .....  | 16 |
| 3. Metody a data .....  | 17 |
| 3.1. Surogátní data pro validaci detektoru.....                   | 17 |
| 3.2. Animální model Alzheimerovy choroby .....                    | 19 |
| 3.3. Paměťové testy .....   | 19 |
| 3.3.1. Úloha sociální paměti s pěti pokusy .....                  | 19 |
| 3.3.2. Úloha objektové paměti s pěti pokusy.....                  | 20 |
| 3.4. Záznam LFP signálů.....                                      | 20 |
| 3.4.1. Elektrofyziologický implantát.....                         | 20 |
| 3.4.2. Zavedení elektrofyziologického implantátu.....             | 21 |

|        |  |    |
|--------|--|----|
| 3.4.3. | Snímání LFP během paměťových testů.....                        | 21 |
| 3.4.4. | Histologické posouzení pozice elektrod .....                   | 22 |
| 3.5.   | Detekce ostrých vln a hrotů .....                              | 22 |
| 3.5.1. | Hilbertův detektor.....  | 22 |
| 3.5.2. | Short-line length detektor.....                                | 23 |
| 3.5.3. | Short-time energy detektor.....                                | 25 |
| 3.5.4. | Vlastní metoda detekce ostrých vln a hrotů.....                | 26 |
| 3.5.5. | Validační protokol.....  | 31 |
| 3.6.   | Spektrální analýza.....  | 32 |
| 3.7.   | Mezifrekvenční vazba.....                                      | 34 |
| 3.7.1. | Phase-locking value .....                                      | 34 |
| 3.7.2. | Mean vector length .....                                       | 35 |
| 3.7.3. | Modulation Index.....  | 36 |
| 3.8.   | Statistická analýza .....                                      | 37 |
| 3.8.1. | Deskriptivní analýza dat.....                                  | 37 |
| 3.8.2. | Použité statistické testy .....                                | 38 |
| 4.     | Výsledky .....   | 39 |
| 4.1.   | Detekce ostrých vln a hrotů .....                              | 39 |
| 4.1.1. | Výsledky detektorů na surogátních datech .....                 | 39 |
| 4.1.2. | Výsledky detektoru ostrých vln a hrotů na reálných datech..... | 41 |
| 4.2.   | Klidová aktivita .....   | 43 |
| 4.2.1. | Energie .....  | 43 |
| 4.2.2. | Mezifrekvenční vazba .....                                     | 44 |
| 4.3.   | První sezení v objektové úloze .....                           | 46 |
| 4.3.1. | Energie .....  | 47 |
| 4.3.2. | Mezifrekvenční vazba .....                                     | 48 |
| 4.4.   | Páté sezení v objektové úloze .....                            | 51 |
| 4.4.1. | Energie .....  | 51 |
| 4.4.2. | Mezifrekvenční vazba .....                                     | 52 |
| 4.5.   | První sezení v sociální úloze.....                             | 55 |
| 4.5.1. | Energie .....  | 55 |
| 4.5.2. | Mezifrekvenční vazba .....                                     | 56 |
| 4.6.   | Páté sezení v sociální úloze.....                              | 59 |
| 4.6.1. | Energie .....  | 59 |
| 4.6.2. | Mezifrekvenční vazba .....                                     | 60 |
| 5.     | Diskuse.....   | 63 |

|  |    |
|--|----|
| 5.1. Detekce ostrých vln a hrotů .....           | 63 |
| 5.2. Změny energie .....                         | 64 |
| 5.3. Mezifrekvenční vazba.....                   | 65 |
| 5.4. Budoucí využití a využitelnost v praxi..... | 66 |
| 6. Závěr .....                                   | 67 |
| 7. Reference .....                               | 68 |

## 1. Úvod

Studium neurálních mechanismů v souvislosti s ACH vyžaduje přesnou identifikaci a analýzu neurálních vzorců stojících za kognitivními funkcemi. Mezi klíčové vzorce během kognitivních procesů patří SWR (ostré vlny a hroty z anglického sharp-wave ripples) (1). Přesná detekce SWR může však být ztížena různou úrovní šumu v neurálních záznamech. Tato práce představuje nový detektor určený k přesnější identifikaci SWR, zejména v podmínkách měnícího se SNR (poměr signálu k šumu, z anglického signal to noise ratio).

Tato práce dále zkoumá neurální aktivitu na úrovni míry energie a metrik PAC (potenciály blízkého pole, z anglického local field potential) u LFP (potenciály blízkého pole, z anglického local field potential) záznamů pocházejících z hipokampální oblasti CA2 transgenních potkanů TgF344-AD ve srovnání s kontrolní skupinou, potkany Fisher F344. Analýza se zaměřuje na pochopení změn mozkové aktivity během různých podmínek: klidová aktivita, interakce s objektem (objektová úloha) a interakce s druhým potkanem (sociální úloha). Cílem tohoto přístupu je odhalit potenciální časné indikátory poklesu kognitivních funkcí u ACH, zejména během sociálních interakcí, což by mohlo mít zásadní význam pro včasnou diagnostiku a intervenci.

## 2. Teoretický podklad

### 2.1. Alzheimerova choroba

ACH je chronické neurodegenerativní onemocnění, které je zároveň nejčastějším typem demence a postihuje miliony lidí na celém světě. ACH postihuje především starší lidi a vyznačuje se postupným úpadkem kognitivních schopností, včetně paměti, učení a uvažování (2). Mezi charakteristické patologické znaky ACH patří hromadění beta-amyloidových plaků a zvýšená hladina proteinu tau v mozkomíšním moku. Tyto histopatologické změny jsou doprovázeny odumíráním neuronů (3). Před nástupem kognitivních problémů mají pacienti často neuropsychiatrické obtíže jako například narušenou sociabilitu, úzkostné poruchy či vykazující apatické chování (4; 5; 6).

Mezi kognitivní příznaky může patřit zapomnětlivost nebo potíže s hledáním správných slov, ale s postupující ACH se příznaky stávají výraznějšími. V pokročilých stádiích může dojít ke ztrátě nezávislosti, k závažné ztrátě paměti, změnám nálad a potížím při plnění každodenních úkolů (7). Diagnostika je obvykle založena na kombinaci lékařského posouzení, anamnézy pacienta, neurologického vyšetření a někdy i specializovaného zobrazování mozku. Ačkoli definitivní diagnózu lze potvrdit pouze na základě posmrtného vyšetření, včasná a přesná diagnóza umožňuje cílenou léčbu příznaků (3). Léčba ACH je

komplexní a zaměřuje se primárně na tlumení příznaků a oddálení progresu onemocnění (8).

Jelikož není v současnosti možné ACH vyléčit, je klíčová právě včasná diagnostika ve stádiích, kdy ještě nedochází k projevům demence, ale právě třeba k narušení sociálního chování, které patří mezi prvotní nekognitivní symptomy. Proto může být klíčové porozumění neurálním mechanismům sociálního chování v rané fázi ACH, zejména z hlediska popsání časných biomarkerů tohoto onemocnění.

## 2.2. Alzheimerova choroba a sociální paměť

Sociální paměť se vztahuje ke schopnosti rozpoznávat a pamatovat si konkrétní osoby, což je klíčové pro vytváření sociálních vztahů, pochopení sociální hierarchie a obecně pro orientaci v sociálním prostředí.

Klíčovou mozkovou strukturou v paměťových procesech je hipokampus, jehož role v epizodické a prostorové paměti byla opakovaně prokázána. Tato oblast je nezbytná pro kódování, ukládání a vybavování vzpomínek a informací o prostředí. Poruchy hipokampu mohou vést k významným deficitům v paměti a orientaci (9; 10). Oblast hipokampu CA2 pak byla identifikována jako kritická oblast pro kódování sociálních vzpomínek (11). Poškození této oblasti může vést k poruchám sociální paměti (11; 12).

Pacienti s ACH často projevují deficity v sociální paměti. Mohou mít obtíže rozpoznávat známé osoby, rekonstruovat vzpomínky s nimi spojené nebo interpretovat sociální signály a kontexty. K těmto deficitům dochází již v raných fázích onemocnění a mohou ztížit mezilidské vztahy a zvyšovat sociální izolaci pacienta (13; 14).

## 2.3. Formy Alzheimerovy choroby

Existují dvě základní formy ACH: dědičná (familiární) a sporadická. Zatímco sporadická forma je běžnější a obvykle se objevuje u lidí starších 65 let bez známého výskytu v rodině, dědičná varianta může postihnout jedince již ve dvaceti či třiceti letech (15; 16).

### 2.3.1. Dědičná (familiární) forma Alzheimerovy choroby

FACH (familiární Alzheimerova choroba) známá také jako ACH s časným nástupem, je vzácná forma ACH, která představuje méně než 5 % všech případů ACH. Příznaky FACH jsou velmi podobné příznakům sporadické formy ACH, včetně ztráty paměti, zmatenosti

a změn nálad (17). Nazývá se "familiární", protože se dědí v rodině v důsledku mutace následujících tří genů: APP (Amyloidový prekurzorový protein, z anglického amyloid precursor protein), PSEN1 (Presenilin 1) nebo PSEN2 (Presenilin 2). Jedinci, kteří zdědí tyto mutace, mají velmi vysokou pravděpodobnost, že se u nich ACH během života rozvine (18; 19).

APP: Tento gen kóduje amyloidní prekurzorový protein. Za normálních okolností je tento protein štěpen enzymy tak, že nevzniká beta-amyloid. Určité mutace v genu APP však mohou vést k abnormálnímu zpracování a k produkci formy beta-amyloidu, která je náchylná k agregaci. Tyto agregáty tvoří amyloidní plaky, které jsou charakteristickým znakem ACH (20).

PSEN1: Gen PSEN1 kóduje presenilin 1, který je součástí komplexu gama-sekretázy. Tento komplex je zodpovědný za jedno ze štěpení, při kterém vzniká beta-amyloid z amyloidového prekurzorového proteinu. Mutace v genu PSEN1 mohou ovlivnit funkci gama-sekretázy, což vede ke zvýšené produkci formy beta-amyloidu náchylné k agregaci (21).

PSEN2: Gen PSEN2 kóduje presenilin 2, další součást komplexu gama-sekretázy. Mutace v PSEN2 mohou rovněž vést k abnormálnímu štěpení amyloidového prekurzoru, čímž vzniká forma beta-amyloidu náchylnější k agregaci (22).

### **2.3.2. Sporadická forma Alzheimerovy choroby**

Sporadická ACH, označovaná také jako ACH s pozdním nástupem, je nejčastější formou ACH, která představuje více než 95 % případů (23). Na rozdíl od vzácnější familiární formy, která má jasné genetické pozadí, sporadická ACH obvykle nemá silnou dědičnou složku. Přesná příčina této formy ACH není zcela objasněna, ale předpokládá se, že je důsledkem kombinace genetických faktorů, faktorů životního prostředí a životního stylu (16). Příznaky sporadické ACH jsou v podstatě totožné jako u familiární formy, včetně postupné ztráty paměti, zmatenosti a změn chování. Vzhledem k prevalenci je hlavním výzkumným zájmem sporadická forma, nicméně z důvodu známého genetického pozadí familiární formy, můžeme familiární lépe studovat (např. na animálních genetických modelech). Jelikož projevy obou forem onemocnění jsou velmi podobné, značná část studií se věnuje právě familiární formě onemocnění (24).

## 2.4. Animální modely Alzheimerovy choroby

Modelové organismy se ve výzkumu hojně využívají k pochopení základních mechanismů ACH a k vývoji potenciálních terapií. Tyto modely pomáhají studovat složité interakce mezi genetikou a prostředím, které přispívají ke vzniku ACH. V rámci výzkumu ACH se používá řada modelových organismů, každý s vlastními výhodami a nevýhodami. Hlodavci, zejména myši a potkani, jsou často využíváni díky množství geneticky modifikovaných modelů, které napodobují lidskou patologii ACH (25).

Tyto modely jsou nezbytné pro pochopení patologie ACH a pro testování potenciálních léků. Na druhou stranu nepředstavují dokonalou replikaci lidského onemocnění, což může komplikovat přenos výsledků do klinické praxe (25).

### 2.4.1. Transgenní model – potkani TgF344-AD

Model potkana TgF344-AD je následně důkladněji rozebrán, protože se jedná o kmen, který byl použit v našich experimentech. TgF344-AD je transgenní kmen vyvinutý speciálně pro studium patologie ACH. Tito potkani exprimují lidské geny, které jsou spojeny s familiární ACH (26).

Model TgF344-AD představuje významný pokrok v oblasti výzkumu ACH, který přispívá k pochopení základních mechanismů tohoto onemocnění a usnadňuje vývoj potenciální léčby.

#### Vývoj a genetika

Tento model byl vytvořen vpravením specifických DNA konstruktů do embryí potkanů Fischer 344, které obsahují mutantní geny APP a PSEN1. Kmen potkanů Fischer 344 byl vybrán díky dobře popsanému procesu stárnutí, což z něj činí vhodný základ pro vývoj modelu ACH (27).

#### Patologické rysy

U těchto potkanů vznikají amyloidní plaky podobné těm, které se vyskytují u lidských pacientů s ACH. Začínají se objevovat v oblastech jako je kůra mozková a následně se rozšíří dále (27). Vedle amyloidních plaků se u těchto potkanů objevuje také tau patologie, další charakteristický znak ACH, která vede k neurofibrilárním spleťm (27). U potkanů TgF344-AD dochází postupem času k úbytku neuronů, zejména v oblastech důležitých pro učení a paměť, jako je hipokampus (28). Byly rovněž pozorovány změny synaptických funkcí, které odrážejí změny v komunikaci mezi neurony, jež se také projevují u pacientů s ACH (28).

## Změny chování

Potkani TgF344-AD vykazují kognitivní deficity, které modelují různé aspekty lidské ACH. Tato zvířata mají potíže s úkoly, které vyžadují prostorovou a pracovní paměť (29; 30). Některé studie zaznamenaly změny v sociálních interakcích a sociálním rozpoznávání (31). Tyto projevy mohou odrážet změny nálady, které jsou často pozorovány u lidských pacientů s ACH (32).

### 2.5. Potenciály blízkého pole

LFP se staly důležitým nástrojem pro pochopení složitého fungování mozku. Měřením elektrického potenciálu v extracelulárním prostoru mozkové tkáně umožňují LFP nahlédnout do kooperativní aktivity neuronů a nabízí pohled na normální funkci mozku i na různé patologické stavy (33). Při záznamu LFP se používají invazivní techniky, kdy se elektrody zavádějí přímo do mozkové tkáně. To sice omezuje jejich použití především na výzkum na zvířatech nebo ve speciálních klinických situacích, ale díky lokalizovaným poznatkům, které LFP poskytují, představují neocenitelnou experimentální techniku (33; 34).

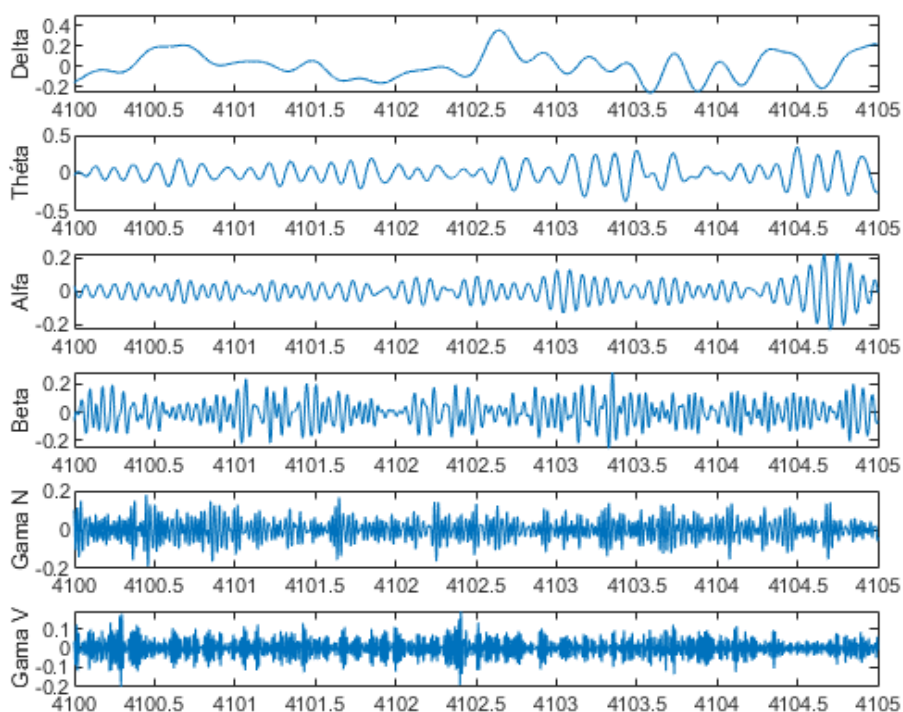
LFP zachycují kombinovanou elektrickou aktivitu mnoha neuronů v lokalizované oblasti mozku. Na rozdíl od akčních potenciálů, které reprezentují aktivitu jednotlivých neuronů, LFP odrážejí sumarizovanou aktivitu excitačních a inhibičních neuronů, včetně synaptických vstupů a postsynaptických potenciálů. Tyto potenciály představují nízkofrekvenční fluktuace (obvykle pod 300 Hz) a umožňují nám zkoumat specifické oblasti mozku nebo určité vrstvy v rámci mozkové struktury, aniž by poskytovaly přímé informace o jednotlivých synaptických událostech (34). LFP signál tedy reprezentuje neuronální aktivitu pouze nepřímo prostřednictvím toku extracelulárních proudů. Změny amplitudy, frekvence nebo časového vzorce LFP mohou svědčit o změnách synaptické aktivity (35).

LFP umožňují zkoumat, jak neurony interagují a komunikují v rámci lokálních oblastí (36). LFP se často využívají ke studiu patologické mozkové aktivity u nemocí, jako je epilepsie nebo ACH (37). Korelace lokalizované mozkové aktivity s konkrétními typem chování umožňuje jedinečný pohled na mechanismy zodpovědné za různé kognitivní procesy (38). LFP poskytují detailnější pohled na lokalizovanou neurální aktivitu ve srovnání s globálními měřeními, jako je skalpové EEG. Výzvou, které výzkumníci čelí, je však jejich invazivní povaha a složitost interpretace smíšených neurálních signálů.



## 2.6. Mozkové vlny

Mozkové vlny, neboli neurální oscilace, jsou rytmické vzorce neurální aktivity v centrální nervové soustavě. Tyto oscilace lze detekovat pomocí LFP či skalpového EEG a jsou charakterizovány na základě periody specifické aktivity, která se mění v závislosti na kognitivních procesech. Například delta vlny (0.5–4 Hz pro potkany, 1–4 Hz pro lidi) jsou nejpomalejší a jsou často spojovány s hlubokým spánkem bez snů. Vlny théta (4–10 Hz pro potkany, 4–8 Hz pro lidi) jsou spojeny se sníženým vědomím, lehkým spánkem a hlubokou meditací. Vlny alfa (10–14 Hz pro potkany, 8–12 Hz pro lidi) obvykle dominují, když jsme vzhůru, ale v uvolněném stavu se zavřenými očima. Vlny beta (14–30 Hz pro potkany, 12–30 Hz pro lidi) jsou přítomny během aktivního, analytického myšlení a představují stav bdělosti. Vlny nižší gama (30–55 Hz pro potkany, 30–70 Hz pro lidi) a vyšší gama (55–100 Hz pro potkany, 70–150 Hz pro lidi), nejrychlejší frekvence, jsou spojeny se zpracováním informací na vysoké úrovni, například s učením. Každé z těchto frekvenčních pásem hraje jedinečnou roli a jejich pochopení umožňuje nahlédnout do fungování mozku v různých stavech (39). Na obrázku 1 je zobrazen příklad filtrace LFP záznamu do daných frekvenčních pásem.



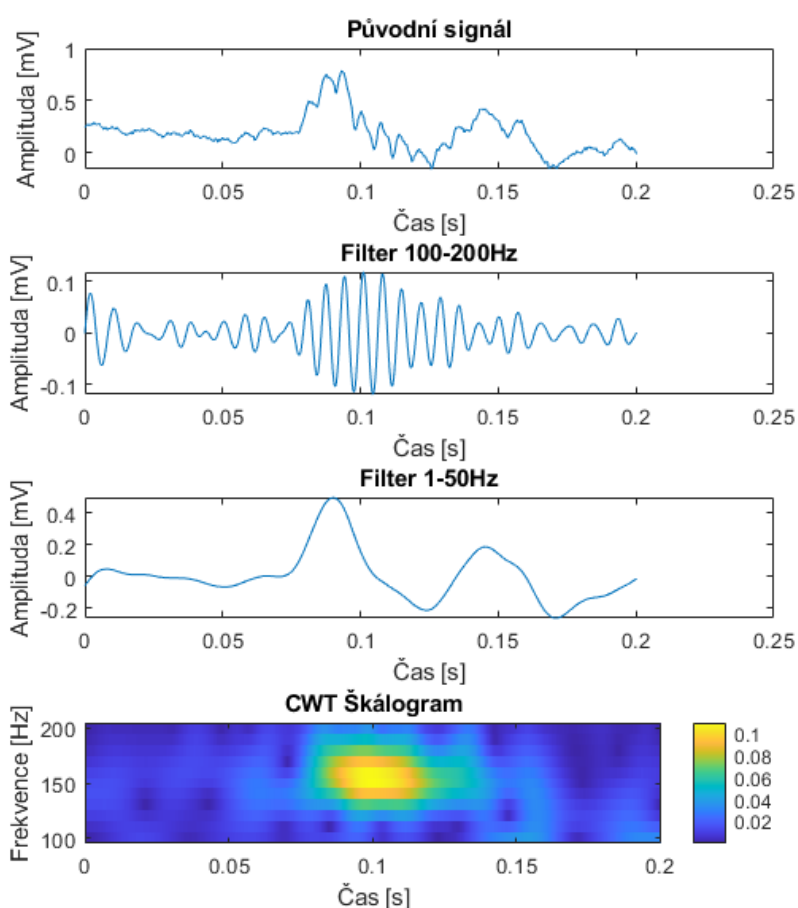
Obrázek 1: Šest základních frekvenčních pásem LFP signálu mozkových vln u potkanů TgF344-AD, naměřeného v rámci našeho výzkumu. Gama N značí frekvenční pásmo nižší gama. Gama V značí frekvenční pásmo vyšší gama.

## 2.7. Ostré vlny a hroty

SWR jsou komplexní vzorce v neurální aktivitě, které se vyskytují v hipokampu, tedy oblasti mozku klíčové pro učení a paměť (40; 41). SWR jsou výrazné, náhlé změny elektrické aktivity mozku, překryté vysokofrekvenčními oscilacemi označovanými jako "hroty" (1; 42).

### 2.7.1. Vznik a charakteristika SWR

SWR je velká amplitudová výchylka LFP, často pozorovaná v hipokampální oblastech CA1-CA3, následovaná vlněním charakterizovaným oscilacemi o frekvenci přibližně 100-200 Hz. SWR odrážejí synchronní pálení pyramidových buněk a interneuronů v hipokampu. SWR trvají přibližně 50 až 100 milisekund (1).



Obrázek 2: Frekvenční složky SWR. Původní signál: Filtrovaný signál ze záznamu LFP v rozsahu 1-475 Hz z pyramidové vrstvě CA1. Filter 100-200Hz: filtrovaný signál pásmovou propustí v rozmezí 100-200 Hz. Filter 1-50 Hz: filtrovaný signál pásmovou propustí v rozmezí 1-50 Hz.

### **2.7.2. Fyziologické role SWR**

SWR souvisí s procesem přeměny nedávných zážitků v dlouhodobé vzpomínky. Během období odpočinku a pomalých spánkových vln se neurální aktivita odpovídající nedávným zážitkům přehrává v komprimované podobě (1). Toto přehrávání pomáhá posilovat synaptická spojení, což je považováno za mechanismus stabilizace vzpomínek a jejich integrace do širší paměťové sítě (1; 40).

Obrátíme-li pozornost k sociální paměti u zvířat a konkrétně pak na schopnost rozpoznat ostatní jedince svého druhu, stává se obzvláště zajímavou hipokampální oblast CA2 díky své nedílné roli v tomto procesu (43).

Soubory pyramidových neuronů v oblasti CA2, které jsou aktivní během sociálních interakcí neznámých jedinců stejného druhu, se reaktivují během SWR. Zajímavé je, že manipulace s CA2 SWR může sociální paměť buď narušovat, nebo zlepšovat, v závislosti na typu manipulace. To naznačuje, že SWR plní důležitou úlohu při konsolidaci různých typů vzpomínek, zahrnujících také sociální vzpomínky, spojením různých informačních aspektů do komplexních paměťových stop.

## **2.8. Alzheimerova choroba a mozková aktivita**

Jedním ze způsobů, jak vědci studují základní mechanismy vzniku příznaků ACH je analýza změn mozkových vln nebo oscilací (44).

### **2.8.1. Změny ve frekvenčních pásmech u Alzheimerovy choroby**

U animálního modelu ACH potkana TgF344-AD analýza PSD (výkonová spektrální hustota, z anglického power spectral density) často ukazuje změny v určitých frekvenčních pásmech. Může dojít ke snížení energie pásma théta (45). Takové změny často korelují s kognitivní poruchou (46).

Souhrnně lze říci, že změny ve výkonové spektru se týkají primárně oscilací théta a gama v hipokampu potkanů TgF344-AD. Tyto změny se stávají významnějšími a výraznějšími s vyšším věkem potkanů (28).

### **2.8.2. Alzheimerova choroba a SWR**

U animálních modelů ACH byly pozorovány změny v SWR, což naznačuje možnou souvislost mezi těmito neurálními ději a úbytkem kognitivních funkcí (47). Během SWR se excitační neurony a GABAergní interneurony zapojují do jemné interakce, která může v případě narušení vést k patologickým formám aktivity, včetně vyšší frekvence rychlých vln (> 250 Hz), či k výskytu vln s velmi vysokou amplitudou (48). Z recentních studií také plyne, že odhalením sníženého výskytu SWR lze predikovat deficit prostorové a sociální paměti (49).

### **2.8.3. Mezifrekvenční vazba u Alzheimerovy choroby**

Jev, při kterém fáze mozkové vlny nižšího frekvenčního pásma moduluje amplitudu vlny vyššího frekvenčního pásma lze popsat pomocí PAC. Předpokládá se, že tato vazba hraje zásadní roli v různých kognitivních procesech (50; 51).

Bylo zjištěno, že u pacientů s ACH je ve srovnání se kontrolními subjekty významně zesílen PAC. PAC théta-gama v pravém spánkovém laloku u pacientů s ACH byl v klidovém stavu silnější než u kontrolních subjektů. Celkově tato zjištění naznačují, že pacienti s ACH musí využívat více neurálních zdrojů k udržení klidového stavu mozku a že změny v PAC théta-gama v temporálním laloku se stávají postupně zřejmými během progresu onemocnění a pravděpodobně budou cenným ukazatelem patologie ACH (52).

Pro animální model ACH potkana TgF344-AD platí, že současně s ukládáním amyloidu a hyperfosforylací tau byl v hipokampu a mediální prefrontální kůře narušen PAC v obou oblastech, což se projevilo sníženou modulací fáze pásma théta na amplitudu pásma gama během klidové aktivity (stáří potkanů 8-9 měsíců, oblast záznamu LFP: hipokampus CA1) (53). Tato změna může svědčit o změnách v neurální komunikaci a synchronizaci, které by mohly být příčinou některých kognitivních deficitů pozorovaných u ACH, jako jsou poruchy paměti (54).

Existují studie (55), které naznačují, že změny v théta-gama PAC mohou souviset s patologickými znaky ACH, jako jsou beta-amyloidové plaky a neurofibrilární spleti. Tato souvislost však ještě není zcela objasněna a vyžaduje další výzkum.

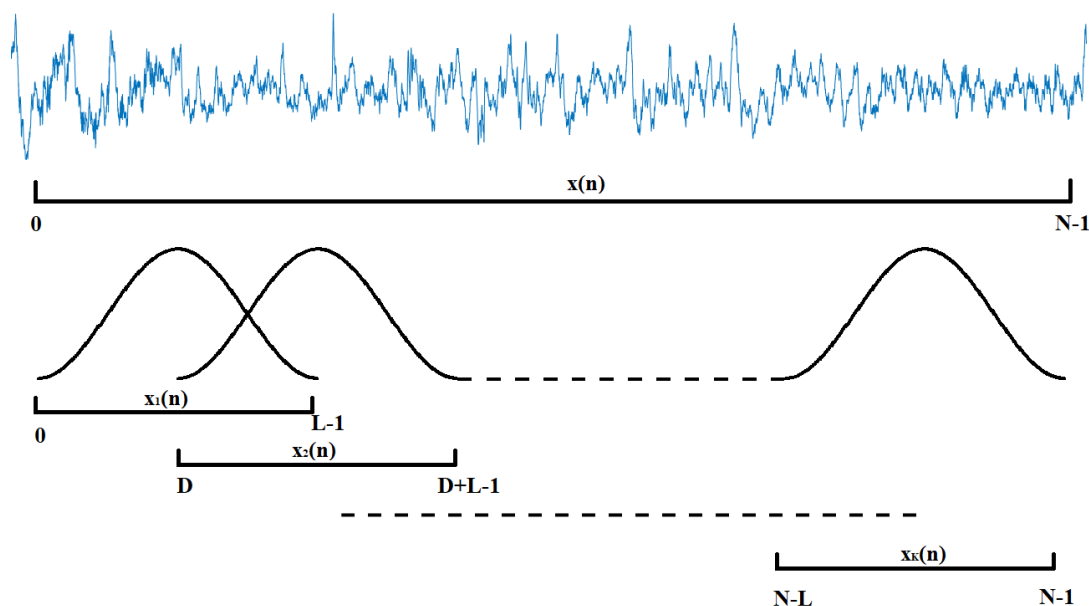
## 2.9. Welchův odhad výkonové spektrální hustoty

Welchův odhad PSD je metoda, která rozdělí signál na překrývající se segmenty. Jednotlivé segmenty vynásobí váhovacím oknem a vypočítá periodogram pro každý takto vynásobený segment. Poté tyto periodogramy zprůměruje čímž se eliminuje stochastická složka a zvýrazní se stacionární složka.

Při výpočtu PSD je důležité zabránit prosakování. Prosakování nastává, když frekvenční složky z jedné části signálu unikají do sousedních frekvenčních binů. Hanningovo okno je navrženo tak, aby minimalizovalo prosakování, takže je vhodné pro izolaci odlišných frekvenčních složek (56).

Hanningovo okno váhuje signál tak, aby okraje signálu byly amplitudově zeslabeny. Při výpočtu DFT (diskrétní Fourierova transformace) je dle definice vyžadován periodický signál. Při analýze finitních neperiodických signálů se využije periodizace zkoumaného signálu, přičemž použití váhovacího okna zaručí hladké napojení period, čímž se zabrání prosakování ve spektru. Důsledkem váhování ovšem dochází k amplitudové modulaci signálu a rozmazání všech spektrálních čar spektrem váhovacího okna (57).

Výpočet, který je graficky zobrazen na obrázku 3 je proveden rovnicí (2.9.1)



Obrázek 3: Zobrazení segmentace signálu LFP a následné vynásobení každého segmentu hannigovým oknem

$$\hat{P}_W[k] = \frac{1}{KLU} \sum_{i=0}^{K-1} \left| \sum_{n=0}^{L-1} w[n] x[n + iD] e^{-j \frac{2\pi kn}{L}} \right|^2 \quad (2.9.1)$$

Kde  $\hat{P}_W[k]$  je odhad PSD Welchovou metodou.

$k$  je spektrální čára.

$j$  je imaginární jednotka.

$K$  je počet segmentů.

$U = \frac{1}{N} \sum_{n=0}^{N-1} |w[n]|^2$  je průměrný výkon okna  $w[n]$ .

$x[n]$  je signál.

$w[n]$  je okno délky  $L$ .

$N$  je délka hannigova okna.

$(L - D)/L$  je poměr překryvu segmentů.

$D$  je krok posunu okna.

## 2.10. Hilbertova transformace

Hilbertova transformace se využívá k nalezení komplexního analytického signálu.

Komplexní analytický signál je vypočten dle následujících rovnic.

$$X[k] = DFT\{x[n]\} = \sum_{n=0}^{N-1} x[n] \cdot e^{-j \frac{2\pi}{N} kn} \quad (2.10.1)$$

Kde  $X[k]$  reprezentuje DFT signálu  $x[n]$ .

Frekvenční spektrum je upraveno následně dle rovnice (2.11.2).

$$X_a[k] = \begin{cases} 2X[k], & \text{pro } k > 0 \\ X[k], & \text{pro } k = 0 \\ 0, & \text{pro } k < 0 \end{cases} \quad (2.10.2)$$

Kde  $X_a[k]$  je upravené frekvenční spektrum.

Dosazením  $X_a[k]$  do rovnice (2.11.3) dostaneme analytický signál  $x_a[n]$ .

$$\begin{aligned}x_a[n] &= iDFT\{X_a[k]\} = \sum_{k=0}^{N-1} X_a[k] \cdot e^{j\frac{2\pi}{N}kn} \\ &= x[n] + j \left[ \frac{1}{\pi n} * x[n] \right]\end{aligned}\quad (2.10.3)$$

Kde  $x_a[n]$  je analytický signál signálu  $x[n]$

$\left[ \frac{1}{\pi n} * x[n] \right]$  je Hilbertova transformace signálu  $x[n]$

Operátor  $*$  značí konvoluci

## 2.11. Mezifrekvenční vazba

PAC v LFP signálech z oblasti CA2 hipokampu je kritickým parametrem pro pochopení oscilací a jejich role při zpracování informací. V souvislosti s ACH může docházet ke změnám v PAC, což ukazuje na narušení koordinace neurálních obvodů (53).

Pro výpočet PAC se nejprve LFP signál filtruje pásmovou propustí do daných frekvenčních pásem. Za druhé se pásmově filtrované signály transformují na analytický signál pomocí Hilbertovy transformace. Nakonec se z analytického signálu extrahuje časová řada fázových úhlů nebo amplitudová obálka (58).

Konkrétní výpočty hodnot PLV (phase-locking value), MVL (mean vector length) a MI (modulation index), jsou rozebrány v následujících kapitolách.

### 2.11.1. Phase-locking value

PLV měří fázový rozdíl mezi vzorky dvojice analytických signálů, které byly spočteny Hilbertovou transformací pásmově filtrovaných signálů. Časová řada fázových úhlů je extrahována přímo z analytického signálu nízkofrekvenčního pásma. Časová řada fázových úhlů vysokofrekvenčního pásma je vypočtena ze signálové obálky a její časové řady fázových úhlů (58).

Tyto rozdíly fázových úhlů lze vynést do polární roviny jako vektory délky jedna, přičemž úhel představuje příslušný rozdíl fázových úhlů. Konstantní fázový odstup mezi oběma časovými řadami ukazuje na fázově-amplitudovou vazbu. Konstantní fázové zpoždění vede k vektorům v polární rovině s podobným směrem. Pak se všechny vektory zprůměrují: pokud mají konstantní fázové zpoždění, směřují do stejného směru, což vede

k dlouhému střednímu vektoru. Pokud je fázové zpoždění proměnné, jsou vektory rozptýleny v polární rovině, což vede k poměrně krátkému střednímu vektoru. Délka středního vektoru udává velikost vazby mezi fází a amplitudou (sílu vazby). Směr vektoru představuje střední fázové zpoždění mezi oběma časovými řadami a z fázového zpoždění lze odvodit preferovanou fázi vazby. PLV se vypočítá podle rovnice (2.13.1) (58).

$$PLV = \left| \frac{\sum_{n=1}^N e^{j(\theta_{it}[n] - \theta_{ut}[n])}}{N} \right| \quad (2.11.1)$$

Kde  $N$  je celkový počet vzorků signálu

$\theta_{it}[n]$  je okamžitá hodnota fázového úhlu nižšího frekvenčního pásma ve vzorku signálu  $n$ .

$\theta_{ut}[n]$  je okamžitá hodnota amplitudové obálky vyššího frekvenčního pásma ve vzorku signálu  $n$ .

$j$  je imaginární jednotka

### 2.11.2. Mean vector length

Pro měření fázové a amplitudové vazby MVL se časová řada fázových úhlů extrahuje z nízkofrekvenčního filtrovaného analytického signálu a amplitudová obálka se extrahuje z vysokofrekvenčního filtrovaného analytického signálu. Každá komplexní hodnota analytické časové řady je vektor v polární rovině. Zprůměrováním všech vektorů se vytvoří střední vektor s určitou fází a délkou. Délka tohoto vektoru představuje velikost vazby mezi fází a amplitudou. Směr představuje střední fázi, ve které je amplituda nejsilnější. Pokud není přítomna žádná vazba, všechny vektory se navzájem vyruší a střední vektor bude krátký. Pak jeho směr nepředstavuje žádnou smysluplnou fázi. MVL se vypočítá podle rovnice (2.13.2) (58).

$$MVL = \left| \frac{\sum_{n=1}^N a_t[n] e^{j\theta_t[n]}}{N} \right| \quad (2.11.2)$$

Kde  $N$  je celkový počet vzorků signálu.

$a_t[n]$  je okamžitá hodnota amplitudové obálky vysokofrekvenčního signálu ve vzorku signálu  $n$ .

$\theta_t[n]$  je okamžitá hodnota fázového úhlu nižšího frekvenčního pásma ve vzorku signálu  $n$ .

$j$  je imaginární jednotka



### 2.11.3. Modulation index

Výpočet MI vychází z parametrů analytického signálu získaného pomocí Hilbertovi transformace. Konkrétně z okamžitého fázového úhlu a okamžité amplitudové obálky. Pro výpočet MI se nejprve všechny možné fáze od  $-180^\circ$  do  $180^\circ$  rozdělí do libovolně zvoleného počtu binů. Rozložení vysokofrekvenční amplitudy na nízkofrekvenční fázové biny je dáno vztahem (2.13.3) (59).

$$P(j) = \frac{\langle A \rangle_\varphi(i)}{\sum_{k=1}^I \langle A \rangle_\varphi(k)} \quad (2.11.3)$$

Kde  $\langle A \rangle_\varphi(i)$  je průměrná amplituda fázového binu  $i$ .

$I$  je celkový počet binů

Vzdálenost tohoto rozdělení od uniformního rozdělení se měří pomocí Kullback-Leiblerovy vzdálenosti dle rovnice (2.13.4).

$$MI(x_p[n], x_a[n]) = \frac{\log(I) + \sum_{k=1}^I P(k) \log[P(k)]}{\log(I)} \quad (2.11.4)$$

Kde  $MI(x_p[n], x_a[n])$  je modulation index.

$x_p[n]$  je nízkofrekvenční filtrovaný signál ve vzorku signálu  $n$

$x_a[n]$  je vysokofrekvenční filtrovaný signál ve vzorku signálu  $n$

## 2.12. Motivace

Cílem projektu je zlepšit naše porozumění mechanismů ACH pomocí identifikace klíčových biomarkerů v mozkové aktivitě v rané fázi tohoto onemocnění, zejména se zaměřením na poruchy sociálního chování, což je častý prvotní nekognitivní symptom ACH. Výzkum na animálních modelech umožňuje odhalit zásadní poznatky o tom, jak ACH ovlivňuje mozkové okruhy zapojené do sociálního chování. Tyto poznatky jsou klíčové pro vývoj včasných diagnostických nástrojů a terapeutických strategií, které by mohly zpomalit progresi onemocnění.

Tento projekt se zaměřuje na výzkum SWR v hipokampální oblasti CA2 během spánku. Cílem je popsat SWR během konsolidace sociální paměti u animálního modelu ACH a porozumět tak potenciálním mechanismům zodpovědným za narušení sociální paměti u ACH (60).

Motivace pro porovnání energie frekvenčních pásem u kontrolních potkanů a potkanů TgF344-AD je lepší pochopení projevu ACH na funkci mozku. Analýzou energie v rámci specifických frekvenčních pásem signálů mozkových vln můžeme získat poznatky o tom, jak ACH mění neurální dynamiku (61).

Podobně je zkoumání PAC motivováno potřebou porozumět složitým vztahům mezi různými mozkovými rytmy a tomu, jak může ACH tyto interakce narušit. Analýza PAC zahrnuje studium toho, jak fáze mozkové vlny o nižší frekvenci moduluje amplitudu vlny o vyšší frekvenci. Tento mechanismus je považován za klíčový pro vyšší kognitivní funkce, jako jsou paměť a učení, které jsou u ACH často narušeny. Analýza PAC může poskytnout cenné poznatky o dopadu nemoci na koordinaci a integraci mozkových činností (51; 62).

## 2.13. Hypotézy

### **Incidence ostrých vln a hrotů odráží progresi ACH**

U animálního modelu ACH, potkanů TgF344-AD, předpokládáme nižší incidenci SWR v hipokampální oblasti CA2 během spánku po kognitivní úloze testující sociální paměť v porovnání s kontrolní skupinou. Toto narušení nepředpokládáme během spánku po úloze testující objektovou paměť. Popis jednotlivých úloh lze najít v kapitole 3.3 Paměťové testy (60).

### **Změna energie frekvenčních pásem odráží progresi ACH**

U animálního modelu ACH, potkanů TgF344-AD, předpokládáme pokles energie ve frekvenčním pásmu théta v hipokampální oblasti CA2 během klidové aktivity, objektové úlohy a sociální úlohy. U dalších frekvenčních pásem (delta, alfa, beta, nižší gama a vyšší gama) pokles energie, vzhledem k nižšímu věku testovaných potkanů, nepředpokládáme (61).

### **Změny PAC odráží progresi ACH**

U animálního modelu ACH, potkanů TgF344-AD, předpokládáme narušení PAC, kvantifikovaného pomocí PVL, MVL a MI, ve frekvenčním pásmu théta, reprezentujícím pásmo nesoucí fázovou informaci a ve frekvenčním pásmu nižší nebo vyšší gama reprezentujícím frekvenční pásmo nesoucí amplitudovou informaci, specificky během sociální úlohy. Během klidové aktivity a objektové úlohy narušení PAC nepředpokládáme.

### 3. Metody a data

#### 3.1. Surogátní data pro validaci detektoru

Vzhledem k absenci labelovaných fyziologických SWR byly generovaný surogátní LFP s SWR. Generování těchto dat se skládá ze tří kroků. V prvním kroku byly simulovány SWR podle studie (63). V druhém kroku bylo vytvořeno pozadí signálu, což byl LFP záznam s náhodně změněnými fázemi (původní LFP záznam pochází ze studie (64)). V posledním kroku je pozadí LFP sečteno s růžovým 1/f-šumem. Tento součet je vynásoben vypočteným koeficientem tak, aby bylo docíleno konkrétních hodnot SNR. Jednotlivé kroky jsou rozebrány následovně.

#### Simulace SWR

Dle studie (63) jsou SWR superponované na hrotu. **Chyba! Nenalezen zdroj odkazů.** Uvažuje se, že hroty mají tvar Gaussovy funkce, charakterizovaný amplitudou hrotu ( $A_{spike}$ ) a směrodatnou odchylkou ( $\sigma_{spike}$ ).

V časové oblasti jsou hroty vyjádřeny pomocí rovnice (3.1.1).

$$Spike[t_n] = A_{spike} \cdot e^{-\frac{t_n^2}{2\sigma_{spike}^2}} \quad (3.1.1)$$

Kde  $Spike[t_n]$  je hrot v diskrétním čase  $t_n$ .

$A_{spike}$  je amplituda Gaussovy funkce v rozmezí 2–3.

$$\sigma_{spike} = 1$$

$t_n$  je diskrétní čas.

Délka hrotu byla volena náhodně mezi 40-100 ms.

SWR jsou modelovány jako sinusoida modulována Gaussovou funkcí dle rovnice (3.1.2).

$$SWR[t_n] = A_{SWR} \cdot e^{-\frac{t_n^2}{2\sigma_{SWR}^2}} \cdot \cos\left(2\pi \cdot \frac{f_0}{f_s} \cdot t_n\right) \quad (3.1.2)$$

Kde  $A_{SWR}$  je amplituda Gaussovy funkce v rozmezí 0,75-1,25.

$$\sigma_{SWR} = 1$$

$f_0$  je frekvence sinusoidy náhodně určena v intervalu 100-200 Hz.

$f_s$  je vzorkovací frekvence signálu.

$t_n$  je diskrétní čas.

Délka SWR byla volena náhodně mezi 40-100 ms.

Kombinací rovnic (3.1.1) a (3.1.2) získáme vzorec v časové oblasti SWR superponovaného na hrot vyjádřen rovnicí (3.1.3).

$$x_{SWR}[t_n] = Spike[t_n] + SWR[t_n] \quad (3.1.3)$$

$x_{SWR}[t_n]$  je SWR superponované na hrot v diskretním čase signálu  $t_n$ .

### Vytvoření pozadí signálu

Pro vytvoření fyziologicky přesného pozadí byla použita randomizace fází LFP nahrávek z potkanů z oblasti pyramidových neuronů CA1. Tyto LFP signály pocházejí ze studie (64). LFP signály byly filtrovány pásmovou propustí (0,1 Hz-1,6 kHz) a digitalizovány při 5 kHz.

Pro diskretní LFP signál  $x_{LFP}[n]$  je nejprve aplikována FT (Fourierova transformace) dána rovnicí (3.1.4).

$$X_{LFP}[k] = \sum_{n=0}^{N-1} x_{LFP}[n] \cdot e^{-j\left(\frac{2\pi}{N}\right) \cdot k \cdot n} = |X_{LFP}[k]| \cdot e^{j\theta[k]} \quad (3.1.4)$$

Kde  $X_{LFP}[k]$  jsou frekvenční složky signálu  $x_{LFP}[n]$ .

$k$  je spektrální čára.

$n$  je vzorek signálu.

$\theta[k]$  je fáze  $X_{LFP}[k]$  dána jako  $\theta[k] = \arctan\left(\frac{a[k]}{b[k]}\right)$  kde  $a$  je reálná složka  $X_{LFP}[k]$  a  $b$  je imaginární složka  $X_{LFP}[k]$ . Fáze  $\theta[k]$  jsou nahrazeny náhodnou fází  $\theta_{rand}[k]$  s hodnotami v intervalu  $0-2\pi$ . Výsledný LFP signál s randomizovanou fází pak získáme pomocí inverzní FT z rovnice (3.1.5).

$$x_{ran}[n] = \frac{1}{N} \sum_{k=0}^{N-1} X_{ran}[k] \cdot e^{j\left(\frac{2\pi}{N}\right) \cdot k \cdot n} \quad (3.1.5)$$

Kde  $X_{ran}[k] = |X_{LFP}[k]| \cdot e^{j\theta_{rand}[k]}$

$x_{ran}[n]$  je signál v časové oblasti s randomizovanými fázemi.

### Nastavení SNR

Následně jsou sečteny signály reprezentující SWR, randomizované LFP a růžový 1/f-šum s útlumem výkonu 10 dB/dekáda. Volba růžového šumu byla motivována podobností s frekvenčním spektrem skutečných LFP záznamů (65) a také jejich předchozím použitím v dříve publikovaných studiích (66) jako fyziologického pozadí LFP záznamu. Výsledkem generování surogátních dat byly dva signály. První generovaný signál měl  $SNR=0$  dB, druhý

generovaný signál měl  $SNR = -3$  dB. Tyto signály, pojmenované  $x_{comb}[n]$  byly získány dle rovnice (3.1.6). Koeficient  $k_{SNR}$ , určující hodnotu SNR, byl vypočten dle rovnice (3.1.7) tak, aby byla získána požadovaná hodnota SNR buď 0 dB nebo -3 dB ( $SNR_{db}$ ).

$$x_{comb}[n] = x_{SWR}[n] + k_{SNR} \cdot (x_{ran}[n] + noise[n]) \quad (3.1.6)$$

Kde  $noise[n]$  je různový 1/f-šum

$$k_{SNR} = 2^{\left|\frac{SNR_{db}}{3}\right|} \cdot \frac{RMS(Sig_{HFO}[n])}{RMS(noise[n] + Sig_{ran}[n])}, SNR_{db} \in \{-3; 0\} \quad (3.1.7)$$

$$\text{Kde } RMS[x[n]] = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{n=1}^N x[n]^2}$$

$N$  je celkový počet vzorků v signálu  $x[n]$

### 3.2. Animální model Alzheimerovy choroby

Pro behaviorální a elektrofyziologické experimenty byli jako animální model ACH použiti geneticky modifikovaní potkaní samci kmene TgF344-AD ( $N=9$  samců, skupina ACH+) a jako kontrolní skupina pak potkaní samci kmene Fisher F344 ( $N=8$  samců, ACH-). Potkani byli chováni ve zvěřinci Fyziologického ústavu AV ČR a k pokusům byli použiti ve věku šesti měsíců. Potkani byli umístěni v párech v místnosti s kontrolovanými podmínkami (22 °C, 50-60 % vlhkost, 12hodinový cyklus světlo/tma) a tlumeným světlem (11 lux), aby se zabránilo degeneraci sítnice (67). Ve věku tří týdnů byl potkanům odebrán malý kousek tkáně ze špičky ocasu a použit pro genotypizaci. Všechny postupy byly schváleny Komisí pro péči o zvířata Fyziologického ústavu (protokol č. 139/2013). Veškeré zacházení se zvířaty bylo také v souladu se zákonem na ochranu zvířat proti týrání České republiky a směrnicí Rady Evropského společenství (2010/63/ES).

### 3.3. Paměťové testy

#### 3.3.1. Úloha sociální paměti s pěti pokusy

Úloha 5-TSMT hodnotí schopnost hlodavců rozpoznávat nové a známé jedince stejného druhu. V průběhu několikanásobné expozice si testovaní potkani na nového narušitele (neznámého potkana) zvyknou a už jej nepovažují za zajímavého pro sociální interakce oproti zcela novému narušiteli (další neznámý potkan). Tento test je používán pro hodnocení sociability a sociální paměti.

Během testování je pokusný jedinec ve své domácí kleci čtyřikrát po sobě vystaven stejnému narušiteli (potkan č. 1). Při pátém pokusu se subjekt setká se zcela novým narušitelem (potkan č. 2). Opakované vystavení potkanu č. 1 by mělo vyvolat habituaci na tohoto potkana a projevit se v podobě klesajícího zájmu pokusného potkana o sociální interakce. Vystavení potkanovi č. 2 v pátém pokusu by mělo opět vzbudit zájem testovaného potkana o interakce s novým narušitelem. Jednotlivé expozice narušitelům byly dlouhé 5 minut a oděleny 3 minuty trvajícím pauzou. Všechny testovací pokusy byly natáčeny na video a následně analyzovány z hlediska sociálních interakcí.

Experimenty byly prováděny mezi 8:30 a 14:00 hodinou v místnosti s tlumeným světlem (10 lux). Všichni testovaní potkani prošli dvoudenní habituací na experimentátora a experimentální místnost. Potkani, kteří sloužili jako narušitelé, byli během experimentů umístěni v malé mřížové kleci (průměr 12 cm, výška 15 cm, vzdálenost mezi mřížemi 1 cm), která byla vložena do domácí klece testovaného jedince. Potkani v kleci byli vždy mladší než potkani, kteří byli předmětem zkoumání, a pocházeli z jiného vrhu.

### **3.3.2. Úloha objektové paměti s pěti pokusy**

Úlohu 5-TOMT (Úloha objektové paměti s pěti pokusy, z anglického 5-trial object memory task) jsme použili jako kontrolní behaviorální úlohu, která nám umožnila otestovat, jak potkani reagují na nesociální podněty. Při této úloze jsme nahradili sociální podněty (potkany narušitele) různými objekty. Prvním objektem (pokusy 1-4) byl zelený hrnek se žlutými horizontálními pruhy (průměr 74 mm) a přidanou vůní oregana, zatímco druhým objektem (pokus 5) byla červená krabice (průměr 72 mm) se žlutými vertikálními pruhy a přidanou vůní petržele.

## **3.4. Záznam LFP signálů**

### **3.4.1. Elektrofyziologický implantát**

Pro záznam LFP byl použit implantát skládající se dvou svazků elektrod. Každý ze svazků sloužil pro jednu hemisféru. V rámci svazku byly čtyři izolované niklchromové drátky (průměr 0,09 mm bez izolace; CFW, USA) slepeny dohromady a umístěny do kovové kanyly (vnitřní průměr 0,65 mm). Svazky elektrod byly diagonálně naříznuty, aby pokryly tvar cílové hipokampální oblasti CA2. Kanyly byly připevněny k 3D-tištěné desce a jednotlivé niklchromové drátky byly pomocí pozlacených pinů (Neuralynx, USA) propojeny s konektorem (Mill-Max, USA). K implantátu byl připojen jeden zemnicí a jeden referenční

šroub a dva stříbrné drátky (průměr 0,254 mm bez izolace; A-M Systems, USA) stočené do smyček, které byly na koncích odizolované a sloužily pro záznam EMG aktivity.

### **3.4.2. Zavedení elektrofyziologického implantátu**

Operovaným potkanům byla týden před operací preventivně přidána antibiotika do pitné vody (Enrogal 100 mg/ml; 0,5 ml látky vždy rozpuštěné v 0,5 l vody). Potkani byli během operace anestetizováni isofluranem o koncentraci 1,2 až 2,5 %. Na začátku operace bylo potkanům subkutánně aplikováno 0,2-0,3 ml atropinu. V lebce byly vytvořeny otvory na souřadnicích odpovídajících umístění oblasti hipokampu CA2 ( $AP=3,5$ ;  $ML=3,7$ ;  $DV=3,5-3,6$  od bregmy, podle atlasu mozku (68)) a do mozku byly bilaterálně zavedeny elektrody na implantátu. Další dvě elektrody ze stříbrného drátu byly zavedeny pod kůži nad šíjové svaly pro záznam EMG aktivity. Zemní a referenční šrouby byly umístěny nad mozečkem. Dva kotvicí šrouby byly umístěny do lebky nad prefrontálním kortexem. Implantát byl poté připevněn ke kotvicím šroubům a lebce metakrylátovou pryskyřicí. Krátce před probuzením byl potkanům podán 10 % Rymadil rozpuštěný ve fyziologickém roztoku (50 mg/kg). Pět dní po operaci byla podávána antibiotika a analgetika v pitné vodě (Enrogal 100 mg/ml; 0,5 ml látky vždy rozpuštěno v 0,5 l vody; Nurofen 20 mg/ml; 2,5 ml látky vždy rozpuštěno v 0,5 l vody). Potkani byli pravidelně kontrolováni a před pokusy ponecháni nejméně 2 týdny v klidu, aby došlo k jejich úplnému zotavení.

### **3.4.3. Snímání LFP během paměťových testů**

Data ze všech záznamových elektrod byla zesílena (1000x) pomocí zesilovačů Lynx-8 (Neuralynx, USA). Signál byl filtrován pásmovou propustí o frekvenci 0,5-475 Hz a byla použita vzorkovací frekvence 2000 Hz. K záznamu neuronální aktivity byl použit systém Micro 1401-3 (CED, UK).

Před začátkem elektrofyziologických měření byli potkani po dobu pěti dnů habituováni na připojování k headstage a volný pohyb s připojeným kabelem. Poté následovaly tři dny experimentů. První den byli potkani nahráváni po dobu 2 hodin v jejich domácí kleci. Druhý den následovalo nahrávání LFP během úlohy 5-TSMT (sociální varianta), třetí den pak během úlohy 5-TMOT (objektová varianta). Toto pořadí platilo pro polovinu testovaných transgenických a kontrolních potkanů. Druhá polovina potkanů byla testována v opačném pořadí (druhý den objektová varianta, třetí den sociální varianta). Po skončení úlohy byly potkani vždy ponecháni ve své domácí kleci a po dobu dalších dvou hodin byla nahrávána klidová LFP aktivita.



### 3.4.4. Histologické posouzení pozice elektrod

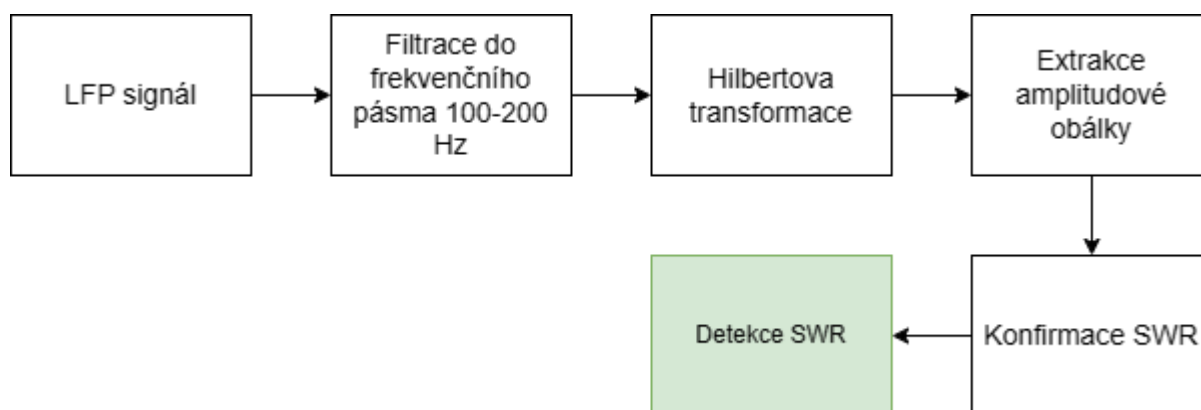
Po skončení všech experimentů byli potkani hluboce anestetizováni ketaminem (75 mg/kg; i.p.) a xylazinem (10 mg/kg; i.p.) a poté transkardiálně perfundováni pomocí 300 ml fyziologického roztoku a následně 300 ml 4 % paraformaldehydu. Potkani byli poté humánně usmrceni. Mozky byly následně vyjmuty a zpracovány na 40  $\mu\text{m}$  řezy. Na řezech bylo provedeno Nisslovo barvení za účelem ověření umístění nahrávacích elektrod.

### 3.5. Detekce ostrých vln a hrotů

V prostředí MATLAB byly implementovány čtyři detektory: Hilbertův detektor, SLL (Short-line length) detektor, STE (Short-time energy) detektor, které jsou použity jako referenční detektory pro porovnání výkonnosti (pomocí hodnot TP (počet správně pozitivních, z anglického true positive), FP (počet falešně pozitivních, z anglického false positive), PPV (pozitivní prediktivní hodnoty, z anglického positive predictive value), senzitivita a F-skóre) a detektor založený na naší metodě, která je spojením Hilbertova a SLL detektoru s následnou konfirmací těchto detekcí pomocí EM (expectation–maximization) GMM (Gaussovský smíšený model, z anglického gaussian mixture model) shlukovacího algoritmu. Implementace jednotlivých metod detekce je rozebrána v následujících kapitolách.

#### 3.5.1. Hilbertův detektor

Implementace Hilbertova detektoru SWR proběhla dle studie (69) dle vývojového diagramu 1 jehož bloky budou následně rozebrány.



Vývojový diagram 1: Vývojový diagram Hilbertova detektoru SWR

## Filtrace

Pro filtraci do frekvenčního pásma 100-200 Hz byla použita Butterworthova pásmová propust s řádem 20. Byla použita filtrace bez posunu fáze (tzv. dvojitá filtrace), v prostředí MATLAB funkcí "filtfilt".

## Hilbertova transformace

Po podrobení signálu pásmovému filtru byl z filtrovaného signálu vypočten analytický signál použitím Hilbertovy transformace viz kapitola 2.12. Hilbertova transformace. Absolutní amplitudová obálka analytického signálu byla poté extrahována z analytického signálu. Tato obálka odráží okamžitou amplitudu oscilačního signálu v každém časovém bodě, čímž se izolují časová místa významných amplitudových fluktuací relevantních pro SWR. Následně byla absolutní amplitudová obálka rozdělena do segmentů po 180 sekundách.

## Konfirmace SWR

Následně byly konfirmovány SWR prahováním absolutní amplitudové obálky. Předem definovaný práh, byl vypočten dle rovnice (3.5.1.1).

$$práh = \frac{1}{N} \sum_{n=1}^N |x[n]| + C \cdot \sqrt{\frac{(|x[n]| - \bar{x})^2}{N}} \quad (3.5.1.1)$$

Kde  $x[n]$  je absolutní amplitudová obálka v daného 180 sekund dlouhého segmentu.

$N$  je celkový počet vzorků v daném 180 sekund dlouhého segmentu.

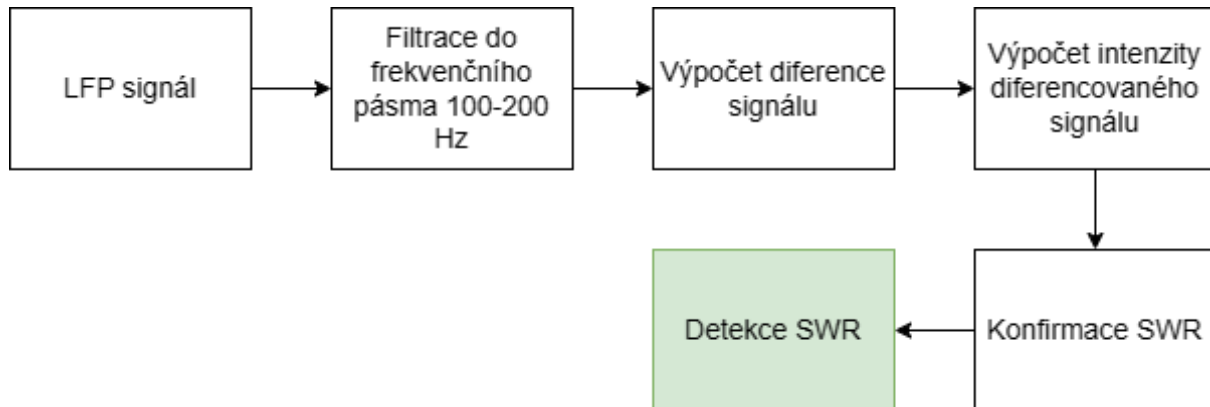
$C$  je předdefinovaná konstanta, v našem případě pět (dle původní studie (69)).

$\bar{x}$  je střední hodnota obálky filtrovaného signálu v daném 180 sekund dlouhého segmentu.

### **3.5.2. Short-line length detektor**

Implementace SLL detektoru SWR proběhla dle studie (70) s vývojovým diagramem 2, jehož bloky budou následně rozebrány. Line length je definována jako součet absolutních hodnot rozdílů mezi sousedními datovými body za určitý časový interval. Line length za

jednotku času LFP záznamu bez SWR zůstává obecně konstantní, zatímco SWR událost Line length přechodně zvyšuje.



Vývojový diagram 2: Vývojový diagram detektoru HFO založeného na SLL metodě

### **Filtrace**

Pro filtraci do frekvenčního pásma 100-200 Hz byla použita Butterworthova pásmová propust s řádem 20. Byla použita filtrace bez posunu fáze (tzv. dvojitá filtrace), v prostředí MATLAB funkcí "filtfilt".

### **Line length**

Filtrovaný signál je následně rozdělen do segmentů po 180 sekundách a pro každý segment je vypočtena délka křivky, tzv. Line Length dle rovnice (3.5.2.1).

$$E[n] = \sum_{k=n-N+2}^n |x[k] - x[k-1]| \quad (3.5.2.1)$$

Kde  $E[n]$  je Line length

$N = 0,005 \cdot f_s$  je velikost okna ve vzorcích odpovídající 5 ms

$x[k]$  je filtrovaný signál

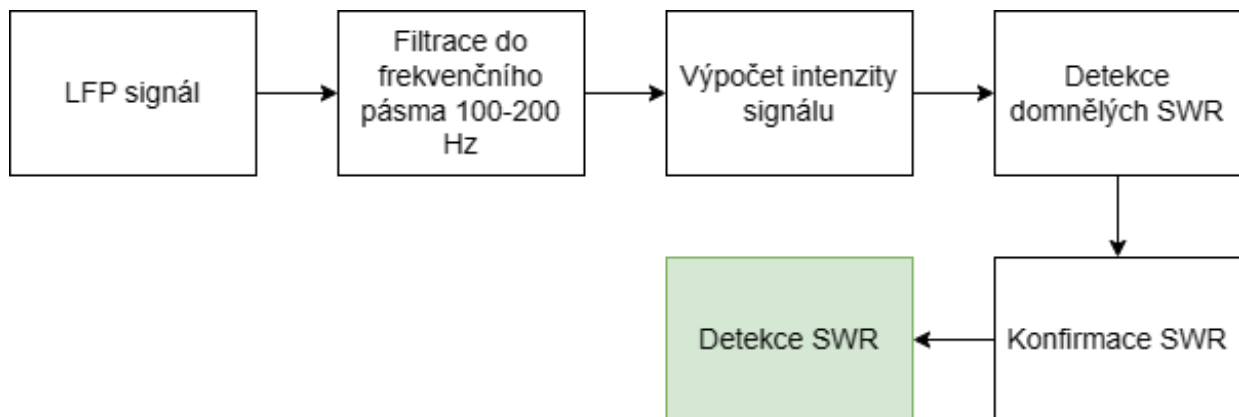
### **Konfirmace HFO**

Na základě empirické kumulativní distribuční funkce hodnot line length je zvolen práh 97,5 percentil (dle původní studie (70)), který je aplikován na každý segment a tím je získána

prahová hodnota pro daný segment. SWR je platné, pokud je amplituda Line length větší než 97,5 percentil empirické kumulativní distribuční funkce z Line length pro daný segment a pokud má dobu trvání alespoň 12 ms.

### 3.5.3. Short-time energy detektor

Implementace STE (short-time energy) detektoru SWR proběhla dle studie (71) s vývojovým diagramem 3 jehož bloky budou následně rozebrány.



Vývojový diagram 3: Vývojový diagram STE detektoru SWR založeného na energii signálu

#### Filtrace

Pro filtraci do frekvenčního pásma 100-200 Hz byla použita Butterworthova pásmová propust s řádem 20. Byla použita filtrace bez posunu fáze (tzv. dvojité filtrace), v prostředí MATLAB funkcí "filtfilt".

#### Intenzita signálu

Filtrovaný signál je rozdělen do segmentů dlouhých 180 sekund a v každém segmentu je vypočtena intenzita signálu dle rovnice (3.5.3.1).

$$I[n] = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{k=n-N+1}^n x^2[k]} \quad (3.5.3.1)$$

Kde  $x[n]$  je filtrovaný signál.

$N = 0,003 \cdot f_s$  je velikost okna ve vzorcích odpovídající 3 ms

Délka okna  $N$  byla nastavena na 3ms. Jako domnělá SWR byla označena taková část signálu, kde jeho intenzita přesáhla pětinašobek směrodatné odchylky nad průměrem intenzity filtrovaného signálu v daném 180 sekund dlouhého segmentu a zároveň byla tato část signálu dlouhá alespoň 6 ms (71).

### **Konfirmace SWR**

Pouze události obsahující více než 6 oscilací větších než trojnásobek směrodatné odchylky nad střední hodnotou absolutní hodnoty filtrovaného signálu v daném segmentu je platná. Tento práh je vypočten rovnicí (3.5.1.1), kde byla konstanta  $C = 3$ . Počet takových oscilací je určen MATLAB funkcí „findpeaks“ s parametrem 'minpeakheight' rovno vypočtenému prahu (69). Kromě toho jsou takto detekované SWR, které od sebe dělí 10 ms nebo méně, označeny jako jediný SWR (69).

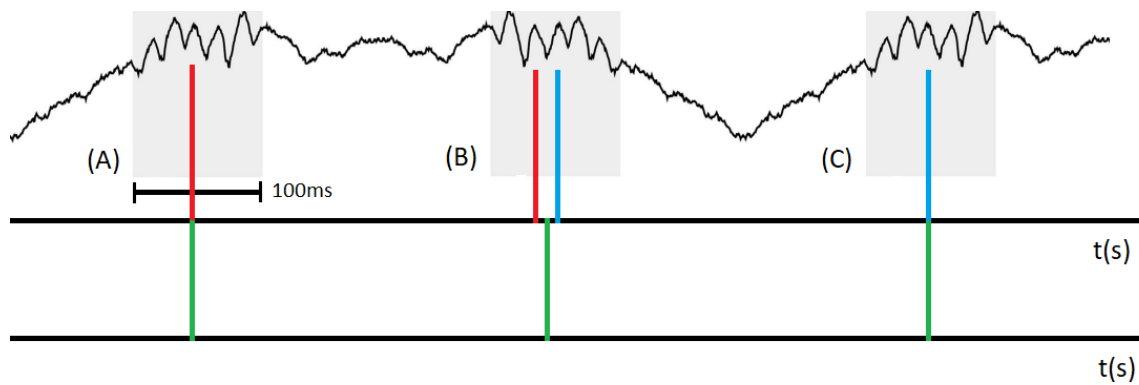
#### **3.5.4. Vlastní metoda detekce ostrých vln a hrotů**

Vlastní metoda detekce se skládá ze spojení detekcí z Hilbertova a SLL detektoru, které detekují domnělé SWR a následné konfirmace SWR pomocí prahu vypočteného z maximálních hodnot magnitudy WT (vlnková transformace, z anglického wavelet transform) v daných domnělých detekcích.

Nejprve je signál filtrován do frekvenčního pásma 100-200 Hz Butterworthovou pásmovou propustí s řádem 20. Byla použita filtrace bez posunu fáze (tzv. dvojité filtrace), v prostředí MATLAB funkcí "filtfilt". Na filtrovaný signál je aplikován Hilbertův a SLL detektor. Výstupem detekce jsou indexy detekovaných domnělých SWR v původním signálu. Každý index reprezentuje střed domnělých detekcí SWR.

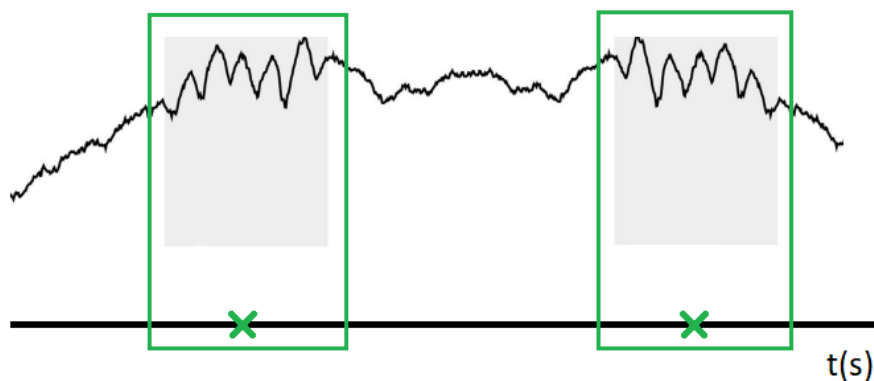
### **Spojení detekcí**

V následujícím kroku jsou detekce z Hilbertova a SLL detektoru spojeny do společných detekcí. Detekce vzdáleny 100ms od sebe jsou považovány za samostatnou detekci a novým indexem detekce je zvolen průměr indexů detekcí Hilbertova a SLL detektoru dle obrázku 4.



Obrázek 4: Grafické znázornění spojení detekovaných indexů v čase. Šedé bloky znázorňují 80ms. **(A)**: Detekované SWR pomocí Hilbertova detektoru (červeně) a následné zapsání časového indexu do společné detekce (zeleně) **(B)**: Detekované SWR pomocí Hilbertova (červeně) a SLL (modře) detektoru a následné zapsání časového indexu do společné detekce (zeleně). **(C)**: Detekované SWR pomocí SLL detektoru (modře) a následné zapsání časového indexu do společné detekce (zeleně).

Podle vzniklých časových indexů jsou následně izolovány časové segmenty v délce 100ms se středem segmentu v detekovaném čase. Graficky znázorněno na obrázku 5.

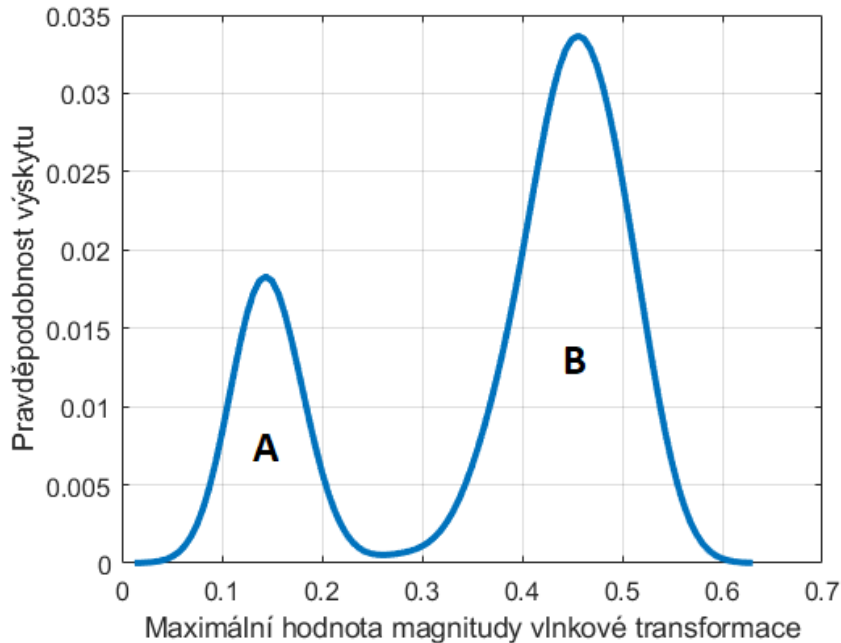


Obrázek 5: Grafické znázornění izolace časových segmentů s detekovanými SWR. Zelená okna reprezentují izolované časové segmenty. Zelené křížky reprezentují detekované časové indexy. Segment je izolován jako časové okno délky 100 ms se středem v detekovaném indexu.

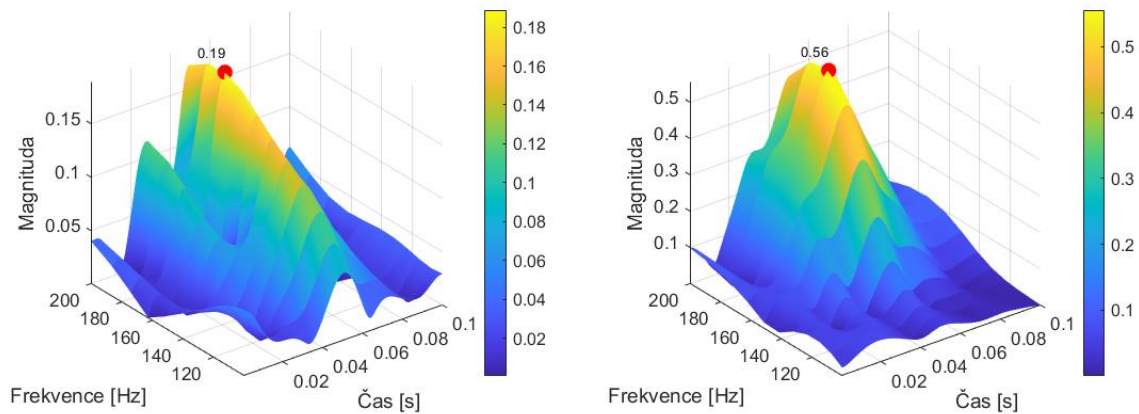
## Odstranění falešně pozitivní skupiny

Analýza rozdílu skupin TP a FP ukázala, že nejlepším parametrem pro rozdělení těchto skupin je maximální hodnota magnitudy WT v daných izolovaných časových segmentech vypočtena pomocí MATLAB funkce „cwt“. Mateřská vlnka pro WT byla zvolena typu Morlet.

Jádrový odhad hustoty maximálních hodnot magnitudy WT pro skupiny TP a FP lze vidět v grafu 1. Příklad výpočtu škálogramu pro dané skupiny pak v grafu 2.



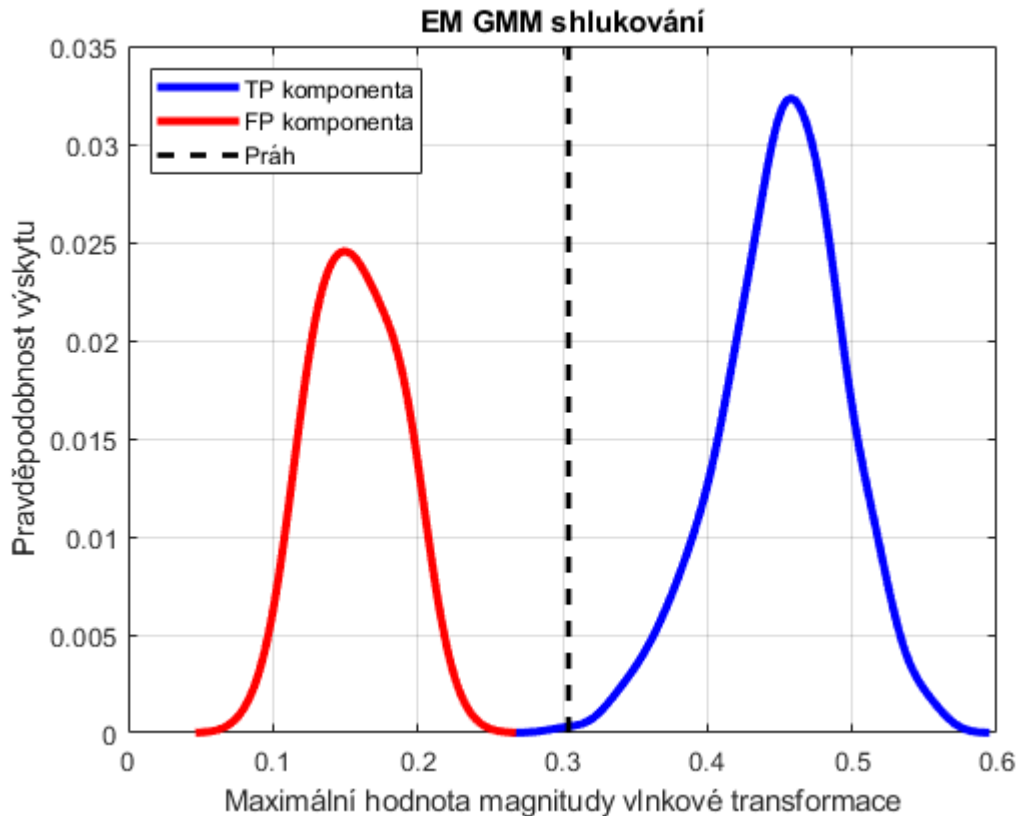
*Graf 1: Jádrový odhad hustoty maximálních hodnot magnitudy WT pro všechny domnělé segmenty. Část křivky **A** reprezentuje FP skupinu. Část křivky **B** reprezentuje TP skupinu. Zobrazený příklad byl vypočten ze surrogátního signálu, který měl SNR=0 dB.*



*Graf 2: Příklad výpočtu maximální hodnoty magnitudy WT. Levá polovina grafu reprezentuje skupinu FP. Pravá polovina grafu reprezentuje skupinu TP. V červených bodech se nachází maximální hodnota magnitudy WT. Zobrazený příklad byl vypočten ze surogátního signálu, který měl  $SNR=0$  dB.*

Pro odstranění FP skupiny je následně spočten klasifikační práh mezi TP a FP skupinou. Maximální hodnoty magnitudy WT jsou podrobeny shlukovacímu EM algoritmu pracujícím s jednorozměrným modelem GMM s počtem dvou komponent, kde jedna z komponent reprezentuje skupinu FP a druhá reprezentuje skupinu TP. Příklad výpočtu klasifikačního prahu pomocí EM algoritmu lze vidět v grafu 3.

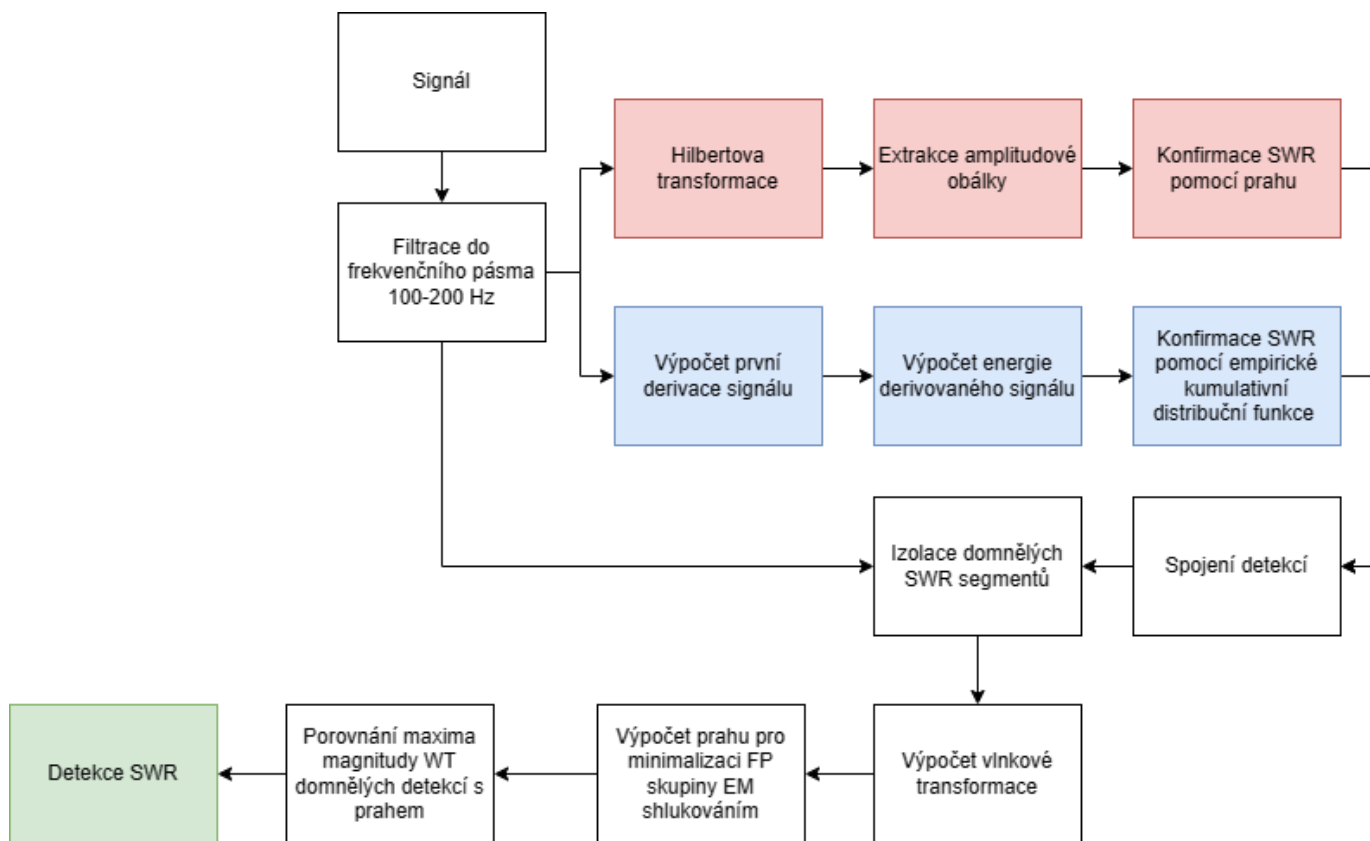




Graf 3: Příklad výpočtu prahu pomocí EM shlukovacího algoritmu. Červená křivka reprezentuje jádrový odhad hustoty komponenty, která byla klasifikována jako FP skupina. Modrá křivka reprezentuje jádrový odhad hustoty komponenty, která byla klasifikována jako TP skupina. Černá přerušovaná křivka reprezentuje vypočtený práh. Zobrazený příklad byl vypočten ze surogátního signálu, který měl SNR=0 dB.

Pro zkoumaný signál je tedy vypočten práh z maximálních hodnot magnitudy WT. Každá maximální hodnota magnitudy WT, reprezentující jednotlivé detekované domnělé SWR, je poté porovnávána s tímto prahem. Pokud je hodnota větší než stanovený práh, domnělý SWR segment je klasifikovaný jako platné SWR.

Celkový postup lze vidět na vývojovém diagramu 4.



Vývojový diagram 4: Vývojový diagram vlastního detektoru spojující Hilbertův a SLL detektor. Červeně zvýrazněné kroky odpovídají větvi pro Hilbertův detektor. Modře zvýrazněné kroky odpovídají větvi pro SLL detektor.

### 3.5.5. Validační protokol

Úkolem validačního procesu bylo porovnat výkonnost stávajících detektorů (Hilbertův, SLL a STE detektor) s výkonností námi vyvinutého detektoru. Konkrétně bylo pro porovnání simulováno 15 nahrávek LFP ze čtyř potkanů s celkovým počtem 761 SWR (386 SWR pro  $SNR=0$  dB a 375 SWR pro  $SNR=-3$  dB). Pro určení výkonnosti detektorů byly použity metriky F-skóre (3.5.5.1), senzitivita (3.5.5.2), PPV (3.5.5.3), velikost FP skupiny a velikost TP skupiny.

$$F - \text{skóre} = \frac{TP}{TP + \frac{FP+FN}{2}} \quad (3.5.5.1)$$

$$PPV = \frac{TP}{TP+FP} \quad (3.5.5.2)$$

$$\text{Senzitivita} = \frac{TP}{TP+FN} \quad (3.5.5.3)$$

### 3.6. Spektrální analýza

Cílem spektrální analýzy je porovnat energie frekvenčních pásem u skupin ACH+ a ACH-. Výpočet energie daných frekvenčních pásem proběhl dle vývojového diagramu 5 jehož bloky budou následně rozebrány.



*Vývojový diagram 5: Vývojový diagram výpočtu a následného zobrazení výsledků pro porovnání energie ve frekvenčních pásmech delta: 0.5-4 Hz, théta: 4-10 Hz, alfa: 10-14 Hz, beta: 14-30 Hz, nižší gama: 30-55 Hz a vyšší gama: 55-100 Hz.*

#### **Filtrace**

Pro přítomnost 50 Hz složky síťového rušení a jejích harmonických složek byl navrhnut bikvadratický filtr dle rovnice (3.6.1).

$$b = [1, -2 \cdot R \cdot \cos(\pi\omega_0), R^2] \quad (3.6.1)$$

$$a = [1, -2 \cdot r \cdot \cos(\pi\omega_0), r^2]$$

$$\text{Kde } \omega_0 = \frac{2f_0}{f_s}$$

$f_0$  je 50 Hz složka síťového rušení a její harmonická složka 100 Hz.

$f_s$  je vzorkovací frekvence filtrovaného signálu.

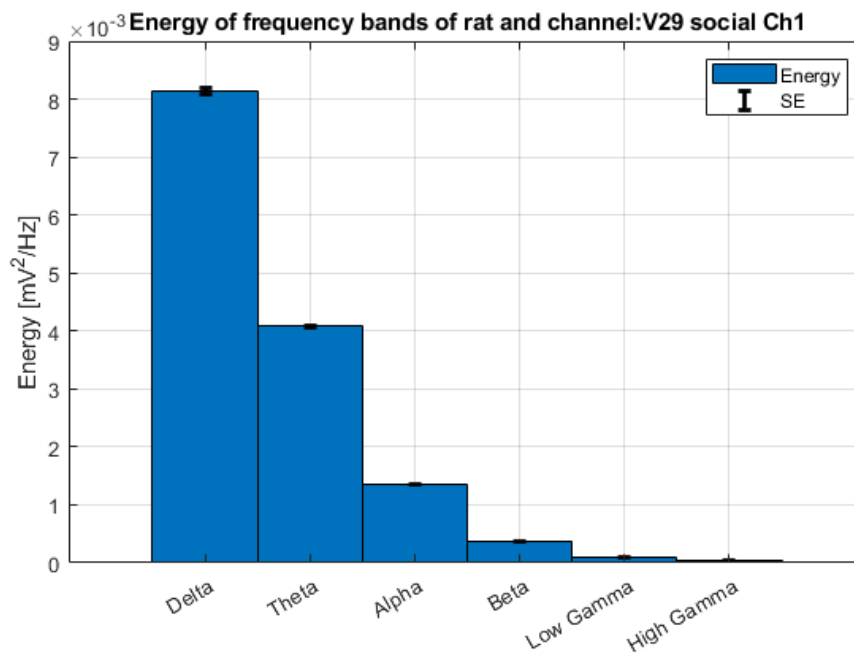
Parametry  $R$  a  $r$  byly nastaveny na  $R = 1$  a  $r = 0,999$  pro dosažení úzkého zádržného pásma.

## Výpočet odhadu výkonové spektrální hustoty

Při výpočtu odhadu PSD byla použita welchova metoda (viz kapitola 2.11. Welchův odhad výkonové spektrální hustoty). Váhovacím oknem pro tuto metodu bylo zvoleno Hanningovo okno. Ve výpočtu byl zvolen překryv jednotlivých segmentů o 50 % a velikost okna nastavena tak, aby pro nejmenší zkoumanou frekvenci byly vidět alespoň čtyři cykly periody s následným prodloužením na nejbližší vyšší mocninu čísla dva.

## Energie frekvenčních pásem

Po výpočtu odhadu PSD byla v posledním kroku vypočtena energie pro daná frekvenční pásma viz Graf 4. Výsledkem pro samostatný signál je pak zobrazen v následujícím grafu



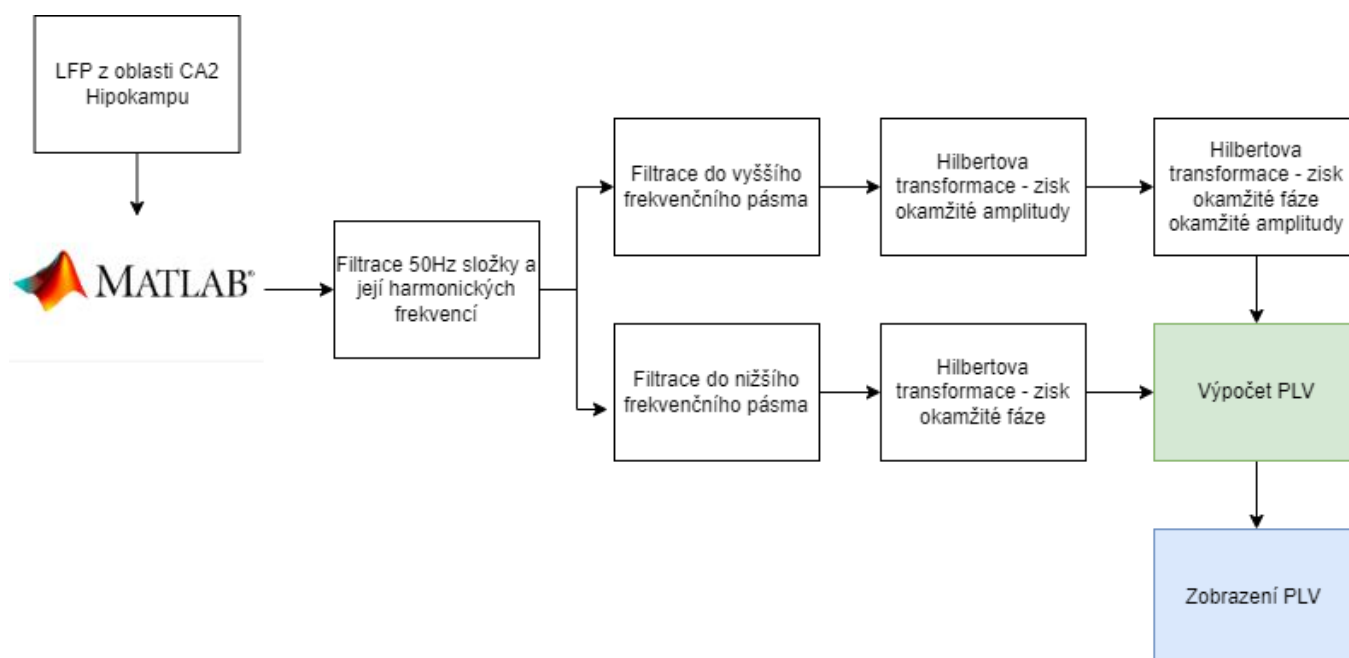
Graf 4: Zobrazení energie signálu v závislosti na frekvenčních pásmech delta: 0.5-4 Hz, théta: 4-10 Hz, alfa: 10-14 Hz, beta: 14-30 Hz, nižší gama: 30-55 Hz a vyšší gama: 55-100 Hz do sloupcového grafu. Zkoumaným signálem byl záznam LFP při spánku po sociální úloze. Modré sloupce reprezentují energii v daném frekvenčním pásmu. Ohraničení na horní hranici sloupců reprezentují SE (standardní chyba, z anglického standard error). Pokles v pásmu nižší gama je způsoben filtrací 50Hz složky.

### 3.7. Mezifrekvenční vazba

Cílem analýzy mezifrekvenční vazby je porovnat metriky PAC pro frekvenční pásma théta-nižší gama a théta-vyšší gama u skupin ACH+ a ACH -. Byly vypočteny metriky PLV, MVL a MI. Konkrétní postup je rozebrán v následujících kapitolách.

#### 3.7.1. Phase-locking value

Výpočet PLV pro frekvenční pásma théta-nižší gama a théta-vyšší gama proběhl dle vývojového diagramu 6 jehož bloky budou následně rozebrány.



Vývojový diagram 6: Vývojový diagram výpočtu hodnoty PLV s jejím následným zobrazením

#### Filtrace

Pro přítomnost 50Hz složky síťového rušení a jejích harmonických složek byl navrhnut bikvadratický filtr dle rovnice (3.6.1). Parametry  $R$  a  $r$  byly nastaveny na  $R = 1$  a  $r = 0,999$  pro dosažení úzkého zádržného pásma.

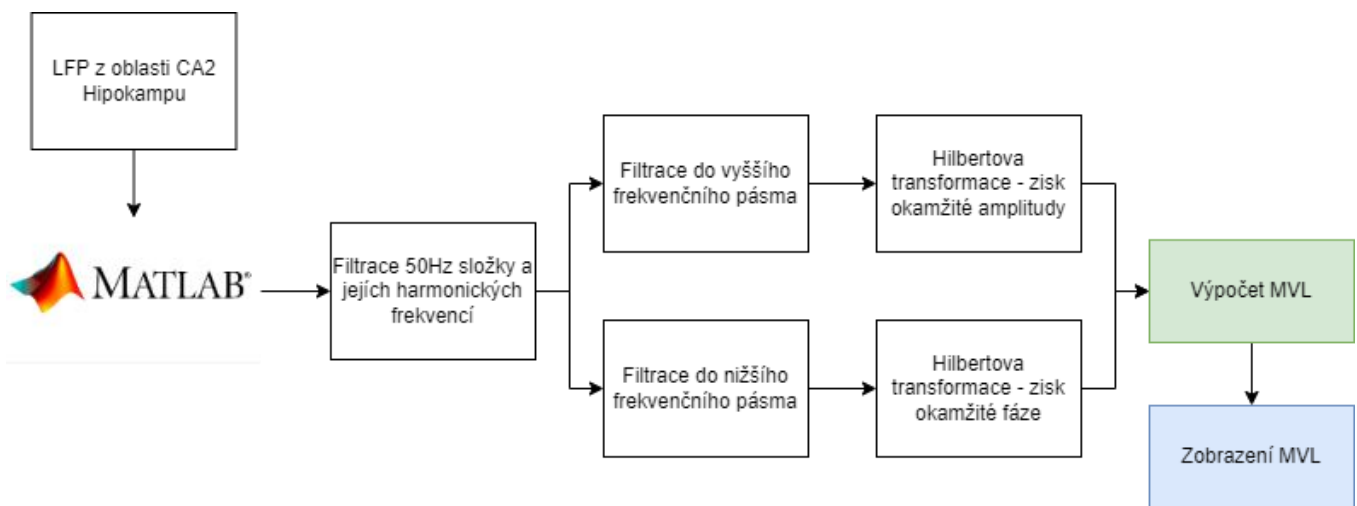
Pro filtraci do pásem théta, nižší a vyšší gama byla použita Butterworthova pásmová propust s řádem 20. Hranice propustného pásma byly nastaveny na: 4-10 Hz pro théta pásmo, 30-55 Hz pro nižší gama pásmo, 55-100 Hz pro vyšší gama pásmo. Byla použita filtrace bez posunu fáze (tzv. dvojité filtrace), v prostředí MATLAB funkcí "filtfilt".

## Výpočet Phase-locking value

K výpočtu PLV je následně potřeba aplikovat Hilbertovu transformaci viz kapitola 2.12. Hilbertova transformace. Hilbertova transformace byla provedena na filtrované signály. Výpočet hodnoty PLV proběhl dle kapitoly 2.13.1 Phase-locking value

### 3.7.2. Mean vector length

Výpočet MVL pro frekvenční pásma théta-nižší gama a théta-vyšší gama proběhl dle vývojového diagramu 7 jehož bloky budou následně rozebrány.



Vývojový diagram 7: Vývojový diagram výpočtu hodnoty MVL s jejím následným zobrazení

### Filtrace

Pro přítomnost 50Hz složky síťového rušení a jejích harmonických složek byl navrhnut bikvadratický filtr dle rovnice (3.6.1). Parametry  $R$  a  $r$  byly nastaveny na  $R = 1$  a  $r = 0,999$  pro dosažení úzkého zádržného pásma.

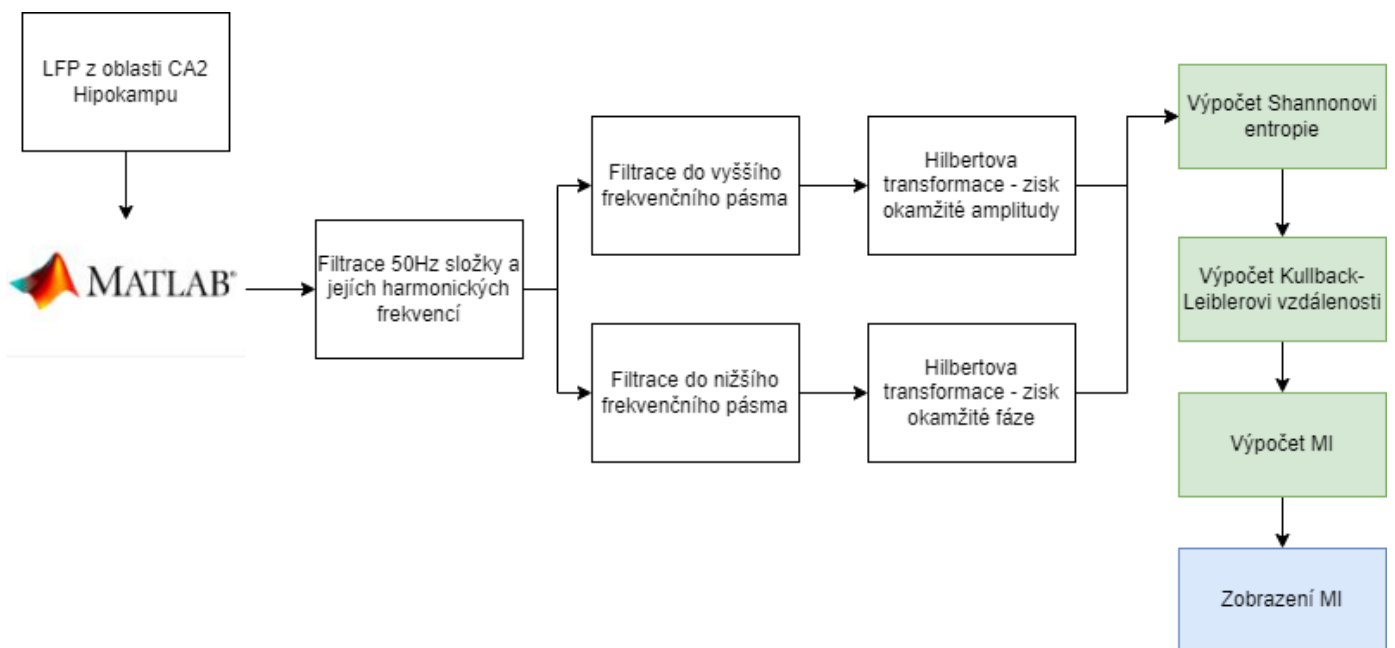
Pro filtraci do pásem théta, nižší a vyšší gama byla použita Butterworthova pásmová propust s řádem 20. Hranice propustného pásma byly nastaveny na: 4-10 Hz pro théta pásmo, 30-55 Hz pro nižší gama pásmo, 55-100 Hz pro vyšší gama pásmo. Byla použita filtrace bez posunu fáze (tzv. dvojité filtrace), v prostředí MATLAB funkcí "filtfilt".

## Výpočet Mean Vector Length

K výpočtu PLV je následně potřeba aplikovat Hilbertovu transformaci viz kapitola 2.12. Hilbertova transformace. Hilbertova transformace byla provedena na filtrované signály. Výpočet hodnoty MVL proběhl dle kapitoly 2.13.2 Mean Vector Length.

### 3.7.3. Modulation Index

Výpočet MI pro frekvenční pásma théta-nižší gama a théta-vyšší gama proběhl dle vývojového diagramu 8 jehož bloky budou následně rozebrány.



Vývojový diagram 8: Vývojový diagram výpočtu hodnoty MI s jeho následným zobrazením

## Filtrace

Pro přítomnost 50Hz složky síťového rušení a jejích harmonických složek byl navrhnut bikvadratický filtr dle rovnice (3.6.1). Parametry  $R$  a  $r$  byly nastaveny na  $R = 1$  a  $r = 0,999$  pro dosažení úzkého zádržného pásma.

Pro filtraci do pásem théta, nižší a vyšší gama byla použita Butterworthova pásmová propust s řádem 20. Hranice propustného pásma byly nastaveny na: 4-10 Hz pro théta pásmo, 30-55 Hz pro nižší gama pásmo, 55-100 Hz pro vyšší gama pásmo. Byla použita filtrace bez posunu fáze (tzv. dvojité filtrace), v prostředí MATLAB funkcí "filtfilt".

### **Výpočet Mean Vector Length**

K výpočtu PLV je následně potřeba aplikovat Hilbertovu transformaci viz kapitola 2.12. Hilbertova transformace. Hilbertova transformace byla provedena na filtrované signály. Výpočet hodnoty MI proběhl dle kapitoly 2.13.3 Modulation Index. V souladu s ostatními studiemi (14; 72) bylo v našem výpočtu použito 18 binů po 20°.

## **3.8. Statistická analýza**

### **3.8.1. Deskriptivní analýza dat**

Ve studii byla statisticky vyhodnocena incidence SWR během spánku po dvou kognitivních úlohách, a to konkrétně po objektové úloze a sociální úloze. Zároveň byly statisticky vyhodnoceny parametry energie a PAC během objektové úlohy, sociální úlohy a klidové aktivity. Pro výpočet energie byla použita frekvenční pásma delta: 0.5-4 Hz, théta: 4-10 Hz, alfa: 10-14 Hz, beta: 14–30 Hz, nižší gama: 30-55 Hz a vyšší gama: 55-100 Hz. PAC byl vypočten pro kombinace frekvenčních pásem théta-nižší gama a théta-vyšší gama.

### **Klidová aktivita**

Pro analýzu klidové aktivity byli použiti všichni potkani ze skupin ACH+ a ACH-, a to konkrétně jejich 120-minutové LFP nahrávky. Z těchto nahrávek byla vypočtena energie frekvenčních pásem delta, théta, alfa, beta, nižší gama a vyšší gama zároveň byly z daných nahrávek vypočteny metriky PAC (PLV, MVL a MI).

### **Kognitivní úlohy**

Byli vybráni potkani, u kterých během prvního sezení objektové úlohy došlo k výrazné interakci s objektem (alespoň 7 sekund v kuse) a potkani, u kterých během prvního sezení sociální úlohy došlo k výrazné interakci s druhým potkanem (alespoň 7 sekund v kuse) a následně byly hodnoceny časové intervaly těchto interakcí. Z časových intervalů byla vypočtena energie frekvenčních pásem delta, théta, alfa, beta a gama, zároveň byly z daných časových intervalů vypočteny metriky PAC (PLV, MVL a MI). Někteří potkani provedli během sezení takovou interakci dvakrát. V takovém případě byly vypočteny hodnoty energie v daných frekvenčních pásmech a hodnoty metriky PAC jako vážený průměr podle času z obou intervalů. Analogický postup byl aplikován pro potkany, kteří měli výraznou interakci s objektem nebo s druhým potkanem (podle typu úlohy) v pátém sezení.



### **3.8.2. Použité statistické testy**

#### **Test normality**

Pro otestování normality dat byl použit Shapiro-Wilk test normality kvůli jeho přesnějším výsledkům při testování normality vzorků s malým počtem hodnot (73).

#### **Dvouvýběrový test**

Vzhledem k nenormálnímu rozložení dat byl jako dvouvýběrový test pro porovnání distribucí dvou nezávislých vzorků zvolen Mannův-Whitneyův test.

## 4. Výsledky

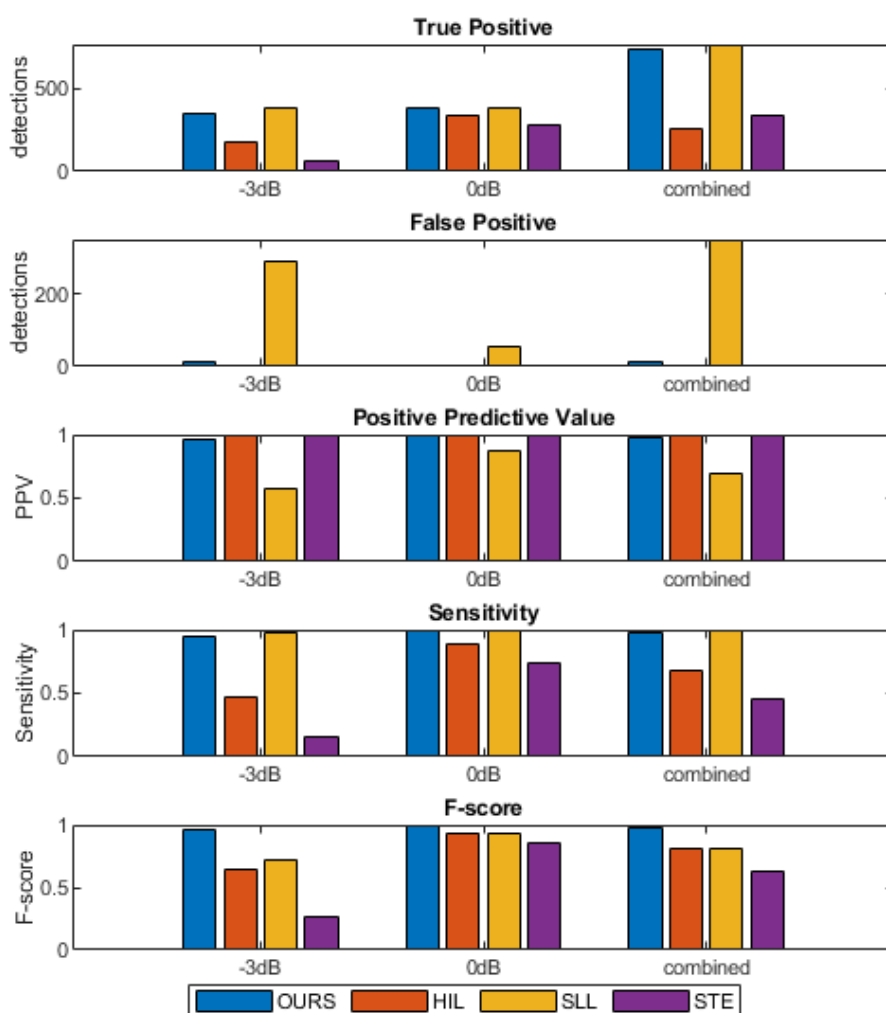
### 4.1. Detekce ostrých vln a hrotů

#### 4.1.1. Výsledky detektorů na surogátních datech

Evaluace detektorů proběhla za pomoci výpočtu PPV, senzitivita a F-skóre. K doplnění evaluace byly zobrazeny TP a FP skupiny. K evaluaci bylo použito 375 generovaných SWR pro  $SNR=-3$  dB a 386 generovaných SWR pro  $SNR=0$  dB. Kombinované výsledky jsou vypočteny spojením výsledků pro  $SNR=-3$  dB a  $SNR=0$  dB. Výsledky Evaluace jsou zobrazeny v tabulce 1 a graficky zobrazeny v grafu 5.

| Námi vyvinutý detektor |             |        |        | Hilbertův detektor |             |        |        |
|------------------------|-------------|--------|--------|--------------------|-------------|--------|--------|
| SNR                    | kombinované | 0 dB   | -3 dB  | SNR                | kombinované | 0 dB   | -3 dB  |
| TP                     | 744         | 385    | 359    | TP                 | 261         | 343    | 179    |
| FP                     | 15          | 0      | 15     | FP                 | 1           | 1      | 1      |
| PPV                    | 0,9802      | 1,0000 | 0,9599 | PPV                | 0,9962      | 0,9971 | 0,9944 |
| Senzitivita            | 0,9777      | 0,9974 | 0,9573 | Senzitivita        | 0,6824      | 0,8863 | 0,4735 |
| F-skóre                | 0,9789      | 0,9987 | 0,9586 | F-skóre            | 0,8099      | 0,9384 | 0,6416 |
| SLL detektor           |             |        |        | STE detektor       |             |        |        |
| SNR                    | kombinované | 0 dB   | -3 dB  | SNR                | kombinované | 0 dB   | -3 dB  |
| TP                     | 770         | 387    | 383    | TP                 | 343         | 285    | 58     |
| FP                     | 345         | 57     | 288    | FP                 | 0           | 0      | 0      |
| PPV                    | 0,6906      | 0,8716 | 0,5708 | PPV                | 1           | 1      | 1      |
| Senzitivita            | 0,9923      | 1      | 0,9846 | Senzitivita        | 0,4507      | 0,7383 | 0,1547 |
| F-skóre                | 0,8144      | 0,9314 | 0,7226 | F-skóre            | 0,6214      | 0,8495 | 0,2679 |

Tabulka 1: Výsledky evaluace detektorů pro parametry: TP, FP, PPV, senzitivita a F-skóre. V modrém bloku jsou zobrazeny výsledky námi vyvinutého detektoru. V oranžovém bloku jsou zobrazeny výsledky hilbertova detektoru. Ve žlutém bloku jsou zobrazeny výsledky SLL detektoru. Ve fialovém bloku jsou zobrazeny výsledky STE detektoru. Kombinované výsledky jsou vypočteny spojením výsledků pro  $SNR=-3$  dB a  $SNR=0$  dB.

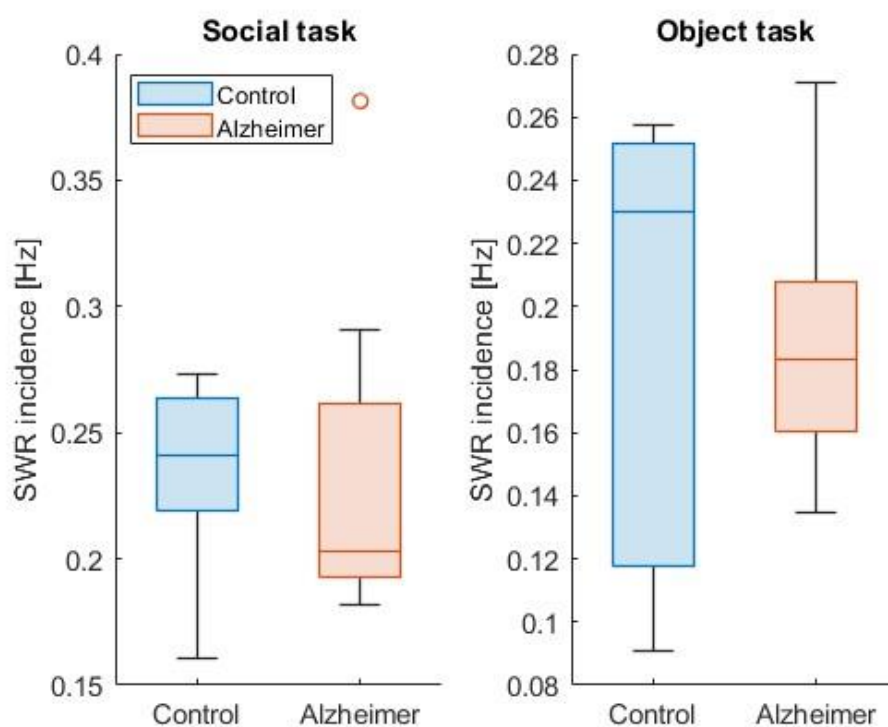


Graf 5: Porovnání TP, FP skupin, PPV, senzitivity a F-skóre u implementovaných detektorů. Modré sloupce reprezentují námi vyvinutý detektor (legenda: OURS). Oranžové sloupce reprezentují Hilbertův detektor (legenda: HIL). Žluté sloupce reprezentují SLL detektor (legenda: SLL). Fialové sloupce reprezentují STE detektor (legenda: STE).

#### 4.1.2. Výsledky detektoru ostrých vln a hrotů na reálných datech

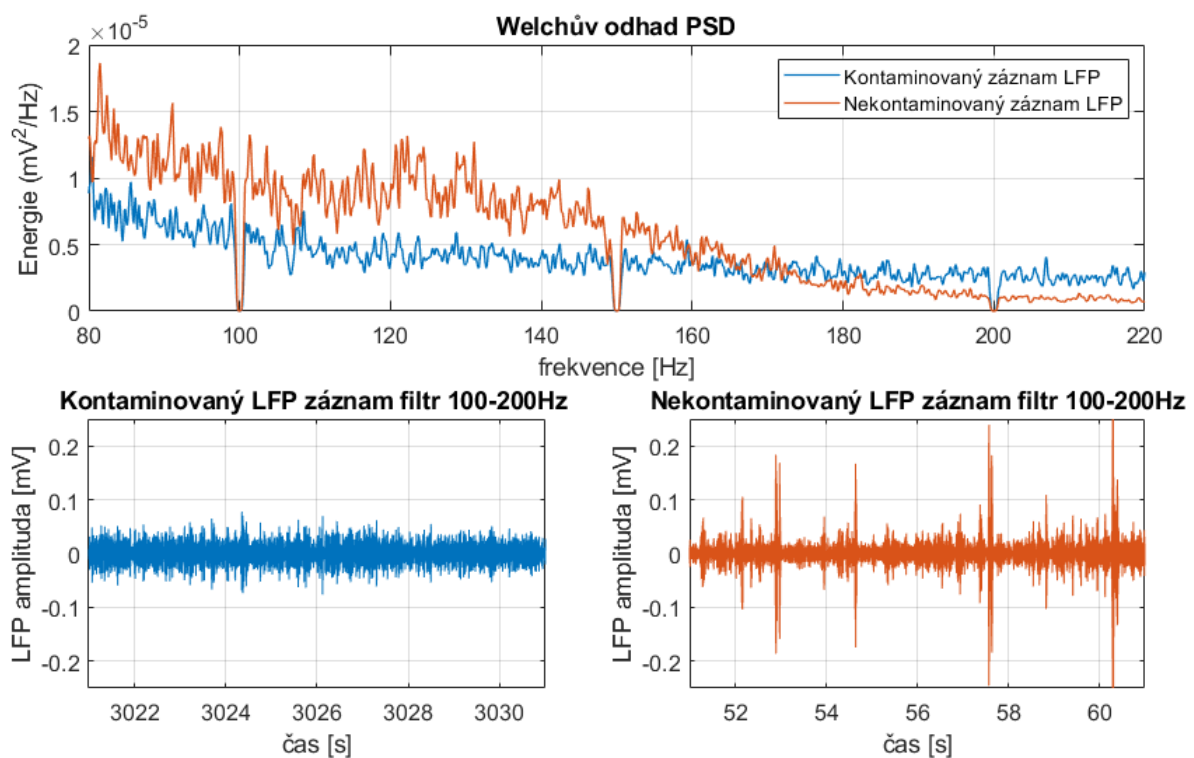
K porovnání rozdílů mezi skupinami ACH- a ACH+ v incidenci SWR při spánku po sociální bylo použito  $N=8$  ACH+ a  $N=6$  ACH- potkanů. Průměrný čas spánku ACH+ byl 7592 sekund a směrodatná chyba byla 651 sekund. Pro ACH- skupinu byl průměrný čas 7972 sekund a směrodatná chyba 892 sekund. Pro spánek po objektové úloze bylo použito  $N=8$  ACH+ a  $N=7$  ACH- potkanů. Průměrný čas spánku ACH+ byl 7951 sekund a směrodatná chyba byla 900 sekund. Pro ACH- skupinu byl průměrný čas 7647 sekund a směrodatná chyba 778 sekund.

Výsledky experimentu detekce SWR ve spánku po sociální úloze neukázaly rozdíl mezi ACH- a ACH+ skupinami ( $p=0,573$ , U-test), stejně tak nebyl pozorován rozdíl při detekci SWR při spánku po objektové úloze ( $p=0,694$ , U-test). Incidence SWR daných skupin podle typu úlohy je zobrazena v grafu 6.



Graf 6: Incidence SWR při spánku po sociální a objektové úloze pro skupiny ACH- a ACH+. Modré sloupce reprezentují ACH- skupinu. Červené sloupce reprezentují ACH+ skupinu. Na grafu je zobrazen medián, sloupce vymezují první a třetí kvartil, ohraničení pod a nad sloupcem definuje minimum a maximum daných dat bez odlehlých hodnot a kolečka reprezentují odlehlé hodnoty. V levém grafu je zobrazena incidence SWR ve spánku po sociální úloze. V pravém grafu je zobrazena incidence SWR ve spánku po objektové úloze. Legenda: Control = ACH-, Alzheimer = ACH+.

Dále byla provedena časově-frekvenční analýza s cílem prozkoumat signály LFP zaznamenané v naší laboratoři pro detekci SWR, které jsou obvykle pozorovány ve frekvenčním pásmu 100-200 Hz. Při analýze jsme pozorovali značné zkreslení signálu v tomto kritickém frekvenčním pásmu. Srovnávací vyhodnocení s daty LFP, získanými v rámci studie (64) publikované skupinou prof. Jirušky, odhalilo výrazné rozdíly v odhadech PSD v pásmu 100-200 Hz, jak je znázorněno na periodogramu vypočteného pomocí Welchova odhadu PSD. Navíc, když byly signály filtrovány v pásmu 100-200 Hz za účelem izolace tohoto frekvenčního pásma, zkreslení bylo ještě výraznější, jak dokládají aberantní průběhy ve filtrovaných signálech LFP. Periodogram a filtrovaný signál je zobrazen na grafu 7.



*Graf 7: Zobrazení welchova odhadu PSD a filtrovaného signálu LFP z naší laboratoře pro LFP nahrávku pořízenou po sociální úloze během spánku v porovnání s welchovým odhadem PSD a filtrovaným signálem LFP ze studie od skupiny prof. Jirušky. V první řádce lze vidět, že energie v kritickém frekvenčním pásmu 100-200 Hz je nižší u záznamu LFP z naší laboratoře (zobrazeno modrou křivkou) než u záznamu LFP ze studie od skupiny prof. Jirušky (zobrazeno oranžovou křivkou). Ve spodním řádku grafu levá polovina reprezentuje filtrovaný LFP signál do frekvenčního pásma 100-200 Hz z naší laboratoře. Pravá polovina grafu reprezentuje filtrovaný LFP signál do frekvenčního pásma 100-200 Hz, který pochází ze studie od skupiny prof. Jirušky (64).*

Integrita SWR je nezbytná pro jejich spolehlivou detekci a následnou analýzu. Rozsah zkreslení pozorovaný v našich signálech LFP však značně zastírá charakteristické rysy SWR. Vzhledem k nižší kvalitě nahrávek LFP, jak ukazuje přiložený graf 7, je spolehlivost detekce SWR v našich datech ohrožena. Tato zjištění nás vedou k závěru, že zkreslení signálu ve frekvenčním pásmu 100-200 Hz je příliš silné na to, aby umožnilo přesnou identifikaci a analýzu fyziologických SWR v datech LFP zaznamenaných v našich laboratorních podmínkách.

## 4.2. Klidová aktivita

Pro výpočet energie daných frekvenčních pásem a PAC klidové aktivity bylo použito  $N=9$  ACH+ a  $N=8$  ACH- potkanů. Délka LFP záznamů byla 120 minut u všech nahrávek.

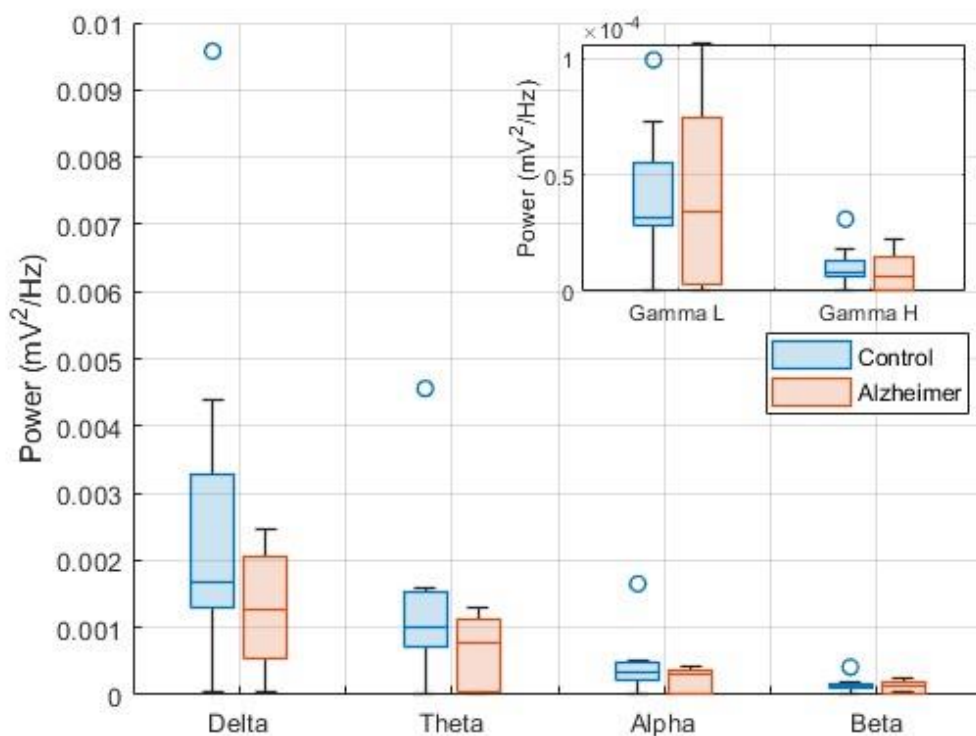
### 4.2.1. Energie

Při porovnání energie v daných frekvenčních pásmech u klidové aktivity mezi potkany z ACH+ skupiny a potkany z ACH- skupiny nebyly pomocí Mannova-Whitneyho U-testu zjištěny žádné statisticky významné rozdíly. Konkrétní p-hodnoty pro pásma delta, théta, alfa, beta, nižší gama a vyšší gama jsou uvedeny v tabulce 3. Tato zjištění naznačují, že rozložení energie v těchto frekvenčních pásmech je u obou skupin podobné.

| Mann-Whitney U-test – Energie |       |       |       |       |        |        |
|-------------------------------|-------|-------|-------|-------|--------|--------|
|                               | Delta | Théta | Alfa  | Beta  | N gama | V gama |
| p-hodnota                     | 0,481 | 0,200 | 0,277 | 0,673 | 0,888  | 0,673  |

Tabulka 2: Výsledky Mannova-Whitneyho U-testu pro daná frekvenční pásma pro klidovou aktivitu. "N gama" značí frekvenční pásmo nižší gama. "V gama" značí frekvenční pásmo vyšší gama.

Energie v daných frekvenčních pásmech pro ACH+ skupinu a ACH- skupinu pro klidové aktivitu lze vidět v grafu 8.



Graf 8: Energie pro jednotlivá frekvenční pásma při záznamu klidové aktivity. Modré sloupce reprezentují ACH- skupinu. Červené sloupce reprezentují ACH+ skupinu. Na grafu je zobrazen medián, sloupce vymezují první a třetí kvartil, ohraničení pod a nad sloupcem definuje minimum a maximum daných dat bez odlehlých hodnot a kolečka reprezentují odlehlé hodnoty. Gamma L reprezentuje nižší gamu a gamma H reprezentuje vyšší gamu. Legenda: Control = ACH-, Alzheimer = ACH+.

#### 4.2.2. Mezifrekvenční vazba

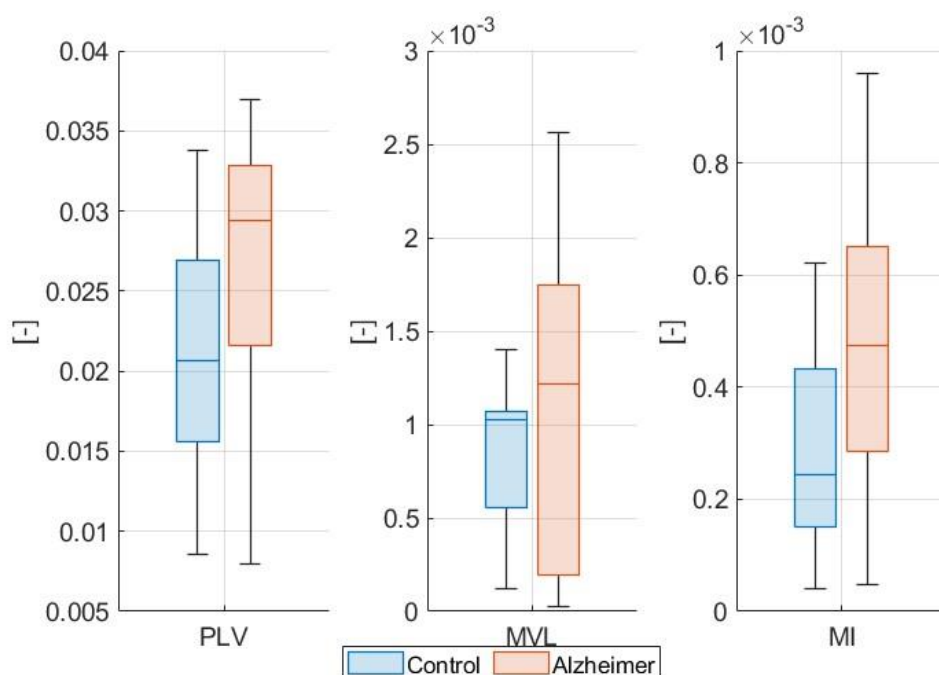
##### Théta-nižší gama

Při hodnocení metrik PAC mezi potkany ze skupiny ACH+ a potkany z ACH- skupiny pro klidovou aktivitu nebyly pomocí Mannova-Whitneyho U-testu zjištěny žádné statisticky významné rozdíly, což naznačuje podobné rozložení těchto metrik mezi oběma skupinami. Příslušné p-hodnoty jsou zobrazeny v tabulce 4. Bonferroniho korekce byla provedena z důvodu mnohočetného testování kdy byla jedna hypotéza testována třemi parametry: PLV, MVL a MI.

| Mann-Whitney U-test – PAC théta-nižší gama |       |       |       |
|--|-------|-------|-------|
|  | PLV   | MVL   | MI    |
| p-hodnota                                  | 0,277 | 0,673 | 0,200 |
| Bonferroniho korekce                       | 0,831 | 1,000 | 0,600 |

Tabulka 4: Výsledky Mannova-Whitneyho U-testu pro PAC théta-nižší gama

Průměrné hodnoty PAC théta-nižší gama pro ACH+ skupinu a ACH- skupinu pro klidové aktivity jsou zobrazeny v grafu 9.



Graf 9: PAC théta-nižší gama pro ACH+ skupinu a ACH- skupinu při záznamu klidové aktivity. Modré sloupce reprezentují ACH- skupinu. Červené sloupce reprezentují ACH+ skupinu. Na grafu je zobrazen medián, sloupce vymezují první a třetí kvartil, ohraničení pod a nad sloupcem definuje minimum a maximum daných dat bez odlehlých hodnot a kolečka reprezentují odlehlé hodnoty. Legenda: Control = ACH-, Alzheimer = ACH+.



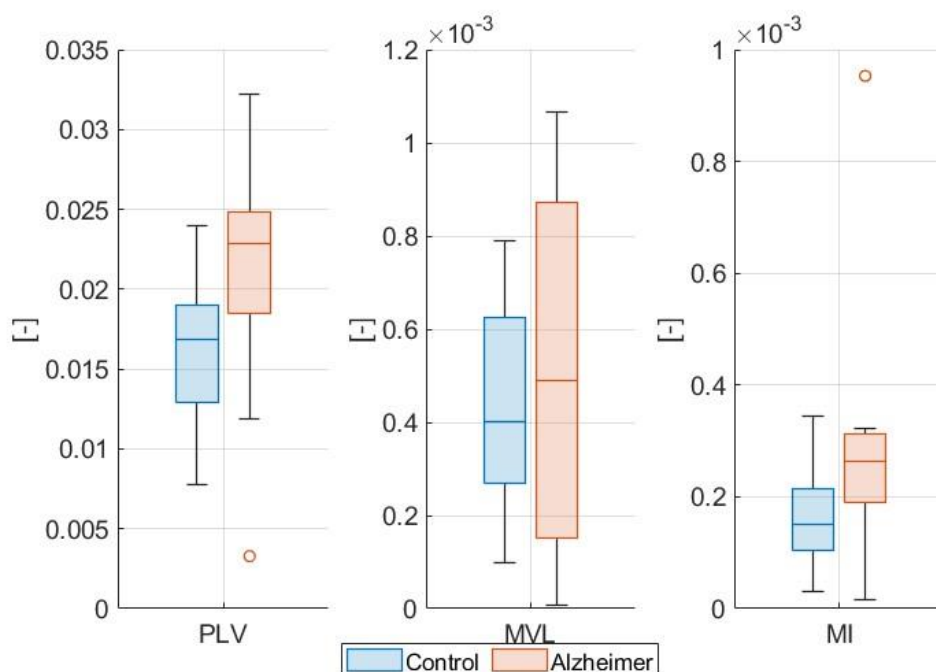
### Théta-vyšší gama

Při hodnocení théta-vyšší gama PAC mezi potkany ze skupiny ACH+ a potkany z ACH- skupiny neodhalil Mannův-Whitneyho U-test žádné statisticky významné rozdíly v metrikách PLV, MVL a MI, což naznačuje podobné rozložení těchto metrik mezi oběma skupinami. Příslušné p-hodnoty jsou zobrazeny v tabulce 5.

| Mann-Whitney U-test – PAC |       | théta-vyšší gama |       |
|---------------------------|-------|------------------|-------|
|                           | PLV   | MVL              | MI    |
| p-hodnota                 | 0,093 | 0,888            | 0,167 |
| Bonferroniho korekce      | 0,279 | 1,000            | 0,501 |

Tabulka 5: Výsledky Mannova-Whitneyho U-testu pro PAC théta-vyšší gama

Průměrné hodnoty PAC théta-vyšší gama pro ACH+ skupinu a ACH- skupinu pro klidové jsou zobrazeny v grafu 10.



Graf 10: PAC théta-vyšší gama pro ACH+ skupinu a ACH- skupinu při záznamu klidové aktivity. Modré sloupce reprezentují ACH- skupinu. Červené sloupce reprezentují ACH+ skupinu. Na grafu je zobrazen medián, sloupce vymezují první a třetí kvartil, ohraničení pod a nad sloupcem definuje minimum a maximum daných dat bez odlehlých hodnot a kolečka reprezentují odlehlé hodnoty. Legenda: Control = ACH-, Alzheimer = ACH+.

### 4.3. První sezení v objektové úloze

Pro výpočet energie a PAC v prvním sezení v objektové úloze bylo použito  $N=3$  ACH+ a  $N=3$  ACH- potkanů, kteří interagovali s objektem po dobu alespoň 7 sekund. Průměrný čas interakce u skupiny ACH+ byl 19,33 s a směrodatná chyba byla 2,4 s. Pro ACH- skupinu byl průměrný čas 18,67 s a směrodatná chyba 2,85 s.

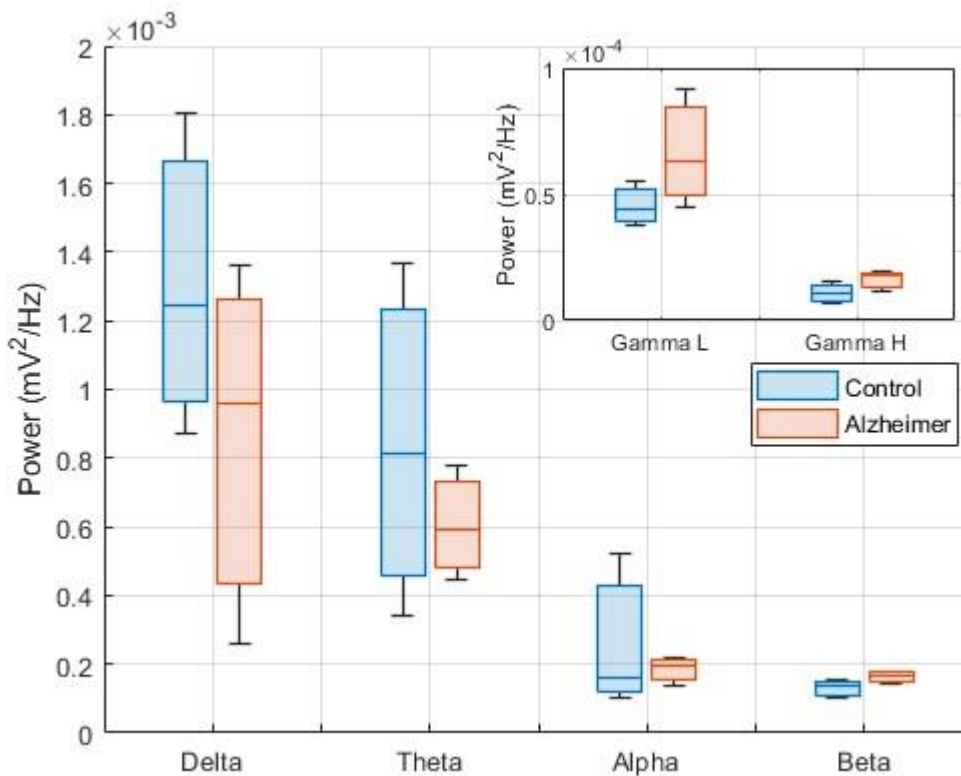
#### 4.3.1. Energie

Při porovnání energie v daných frekvenčních pásmech mezi skupinou ACH+ a ACH- skupinou nebyly pomocí Mannova-Whitneyho U-testu zjištěny žádné statisticky významné rozdíly. P-hodnoty pro pásma delta, théta, alfa, beta, nižší gama a vyšší gama jsou uvedeny v tabulce 6. To naznačuje, že rozložení energie v těchto frekvenčních pásmech je mezi skupinami podobné.

| Mann-Whitney U-test – Energie |       |       |       |       |        |        |
|-------------------------------|-------|-------|-------|-------|--------|--------|
|                               | Delta | Théta | Alfa  | Beta  | N gama | V gama |
| p-hodnota                     | 0,700 | 0,700 | 1,000 | 0,200 | 0,200  | 0,200  |

Tabulka 6: Výsledky Mannova-Whitneyho U-testu pro daná frekvenční pásma pro první sezení v objektové úloze. "N gama" značí frekvenční pásmo nižší gama. "V gama" značí frekvenční pásmo vyšší gama.

Energie v daných frekvenčních pásmech pro ACH+ skupinu a ACH- skupinu pro první sezení v objektové úloze jsou zobrazeny v grafu 11.



Graf 11: Energie pro daná frekvenční pásma při prvním sezení objektové úlohy. Modré sloupce reprezentují ACH- skupinu. Červené sloupce reprezentují ACH+ skupinu. Na grafu je zobrazen medián, sloupce vymezují první a třetí kvartil, ohraničení pod a nad sloupcem definuje minimum a maximum daných dat bez odlehlých hodnot a kolečka reprezentují odlehlé hodnoty. Gamma L reprezentuje nižší gamu a gamma H reprezentuje vyšší gamu. Legenda: Control = ACH-, Alzheimer = ACH+.

#### 4.3.2. Mezifrekvenční vazba

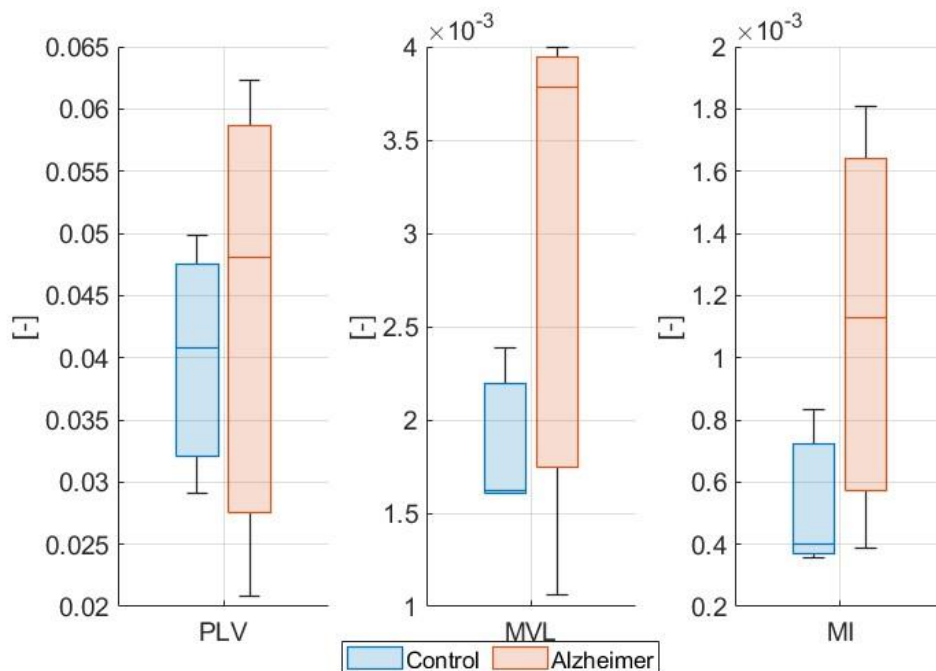
##### Théta-nižší gama

Při hodnocení metrik PAC mezi potkany ze skupiny ACH+ a potkany z ACH- skupiny nebyly pomocí Mannova-Whitneyho U-testu zjištěny žádné statisticky významné rozdíly. Konkrétní p-hodnoty pro PLV, MVL a MI jsou v tabulce 7. To naznačuje, že rozložení PLV, MVL a MI je mezi skupinami podobné. Bonferroniho korekce byla provedena z důvodu mnohočetného testování kdy byla jedna hypotéza testována třemi parametry: PLV, MVL a MI. Bonferroniho korekce byla provedena z důvodu mnohočetného testování kdy byla jedna hypotéza testována třemi parametry: PLV, MVL a MI.

| Mann-Whitney U-test – PAC |       | théta-nižší gama |       |
|---------------------------|-------|------------------|-------|
|                           | PLV   | MVL              | MI    |
| p-hodnota                 | 1,000 | 0,700            | 0,400 |
| Bonferroniho korekce      | 1,000 | 1,000            | 1,000 |

Tabulka 7: Výsledky Mannova-Whitneyho U-testu pro PAC théta-nižší gama

Průměrné hodnoty PAC théta-nižší gama pro ACH+ skupinu a ACH- skupinu pro první sezení v objektové úloze jsou zobrazeny v grafu 12.



Graf 12: PAC théta-nižší gama pro ACH+ skupinu a ACH- skupinu při prvním sezení objektové úlohy. Modré sloupce reprezentují ACH- skupinu. Červené sloupce reprezentují ACH+ skupinu. Na grafu je zobrazen medián, sloupce vymezují první a třetí kvartil, ohraničení pod a nad sloupcem definuje minimum a maximum daných dat bez odlehlých hodnot a kolečka reprezentují odlehlé hodnoty. Legenda: Control = ACH-, Alzheimer = ACH+.

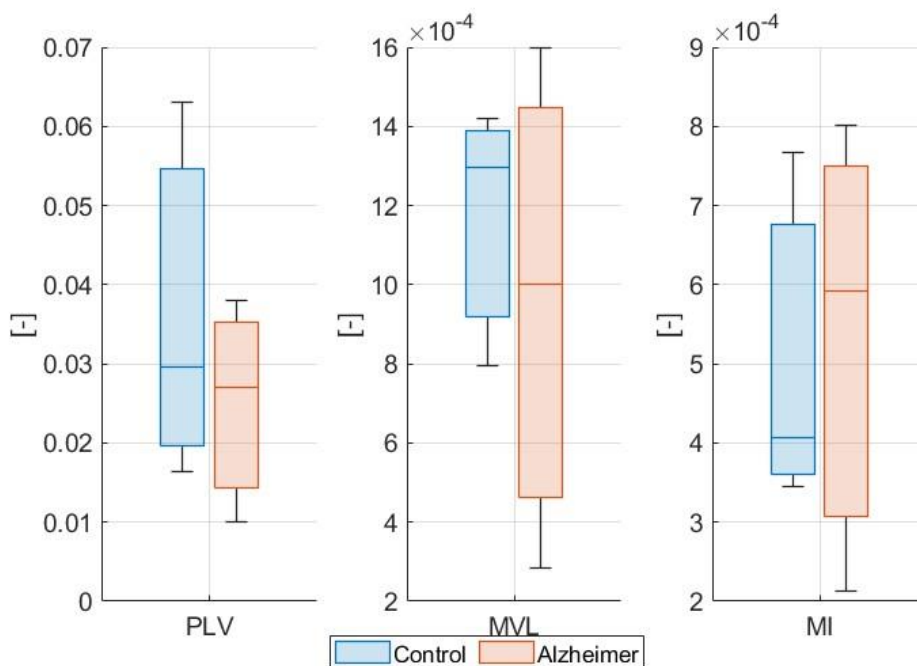
### Théta-vyšší gama

Při zkoumání metrik PAC mezi potkany ze skupiny ACH+ a potkany z ACH- skupiny nebyly pomocí Mannova-Whitneyho U-testu zjištěny žádné statisticky významné rozdíly. Konkrétní p-hodnoty pro PLV, MVL a MI jsou v tabulce 8. To naznačuje, že rozložení PLV, MVL a MI je mezi skupinami podobné. Bonferroniho korekce byla provedena z důvodu mnohočetného testování kdy byla jedna hypotéza testována třemi parametry: PLV, MVL a MI.

| Mann-Whitney U-test – PAC   théta-vyšší gama |       |       |       |
|--|-------|-------|-------|
|  | PLV   | MVL   | MI    |
| p-hodnota                                    | 0,700 | 1,000 | 1,000 |
| Bonferroniho korekce                         | 1,000 | 1,000 | 1,000 |

Tabulka 8: Výsledky Mannova-Whitneyho U-testu pro PAC théta-vyšší gama

Průměrné hodnoty PAC théta-vyšší gama pro ACH+ skupinu a ACH- skupinu pro první sezení v objektové úloze jsou zobrazeny v grafu 13.



Graf 13: PAC théta-vyšší gama pro ACH+ skupinu a ACH- skupinu při prvním sezení objektové úlohy. Modré sloupce reprezentují ACH- skupinu. Červené sloupce reprezentují ACH+ skupinu. Na grafu je zobrazen medián, sloupce vymezují první a třetí kvartil, ohraničení pod a nad sloupcem definuje minimum a maximum daných dat bez odlehlých hodnot a kolečka reprezentují odlehlé hodnoty. Legenda: Control = ACH-, Alzheimer = ACH+.

#### 4.4. Páté sezení v objektové úloze

Pro výpočet energie a PAC v pátém sezení v objektové úloze bylo použito  $N=5$  ACH+ potkanů a  $N=4$  ACH- potkanů. Průměrný čas interakce u skupiny ACH+ byl 21,8 s a směrodatná chyba byla 2,92 s. Pro ACH- skupinu byl průměrný čas 22,5 s a směrodatná chyba 6,93 s.

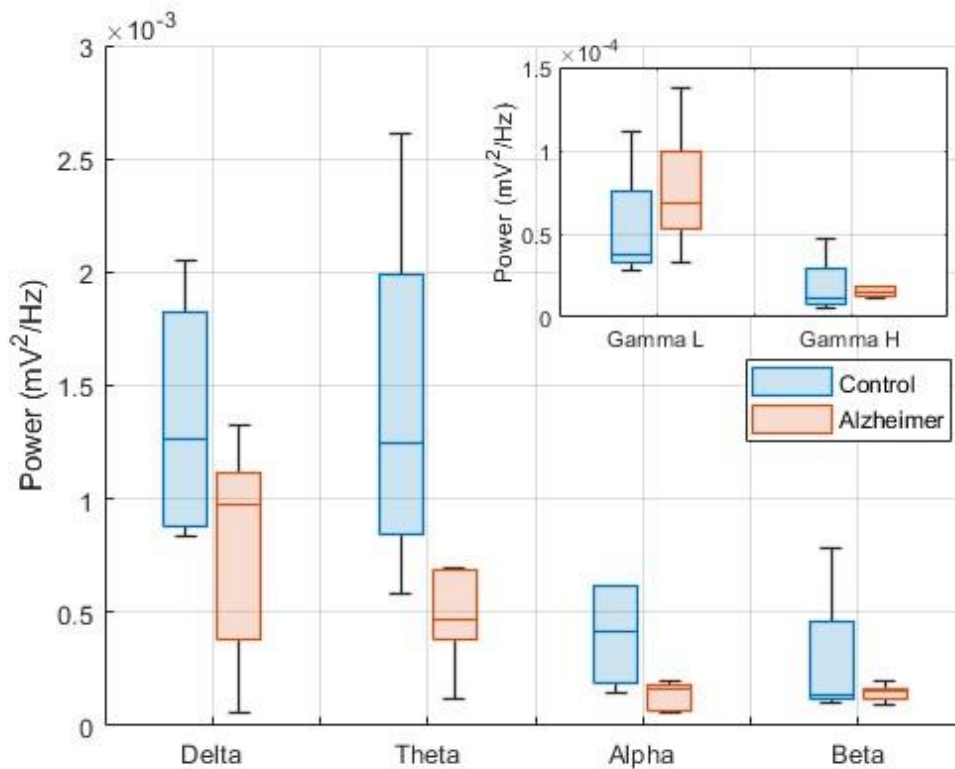
##### 4.4.1. Energie

Při hodnocení energie v různých frekvenčních pásmech mezi potkany z ACH+ skupiny a potkany z ACH- skupiny nebyly pomocí Mannova-Whitneyho U-testu zjištěny žádné statisticky významné rozdíly což naznačuje stejné rozložení energie ve frekvenčních pásmech mezi skupinami ACH+ a ACH-. P-hodnoty pro pásma delta, théta, alfa, beta, nižší gama a vyšší gama jsou v tabulce 9.

| Mann-Whitney U-test – Energie |       |       |       |       |        |        |
|-------------------------------|-------|-------|-------|-------|--------|--------|
|                               | Delta | Théta | Alfa  | Beta  | N gama | V gama |
| p-hodnota                     | 0,413 | 0,063 | 0,111 | 0,905 | 0,413  | 0,413  |

Tabulka 9: Výsledky Mannova-Whitneyho U-testu pro daná frekvenční pásma pro páté sezení v objektové úloze. "N gama" značí frekvenční pásmo nižší gama. "V gama" značí frekvenční pásmo vyšší gama.

Energie v daných frekvenčních pásmech pro ACH+ skupinu a ACH- skupinu pro páté sezení v objektové úloze jsou zobrazeny v grafu 14.



Graf 14: Energie pro daná frekvenční pásma při pátém sezení objektové úlohy. Modré sloupce reprezentují ACH- skupinu. Červené sloupce reprezentují ACH+ skupinu. Na grafu je zobrazen medián, sloupce vymezují první a třetí kvartil, ohrazení pod a nad sloupcem definuje minimum a maximum daných dat bez odlehlých hodnot a kolečka reprezentují odlehlé hodnoty. Gamma L reprezentuje nižší gamu a gamma H reprezentuje vyšší gamu. Legenda: Control = ACH-, Alzheimer = ACH+.

#### 4.4.2. Mezifrekvenční vazba

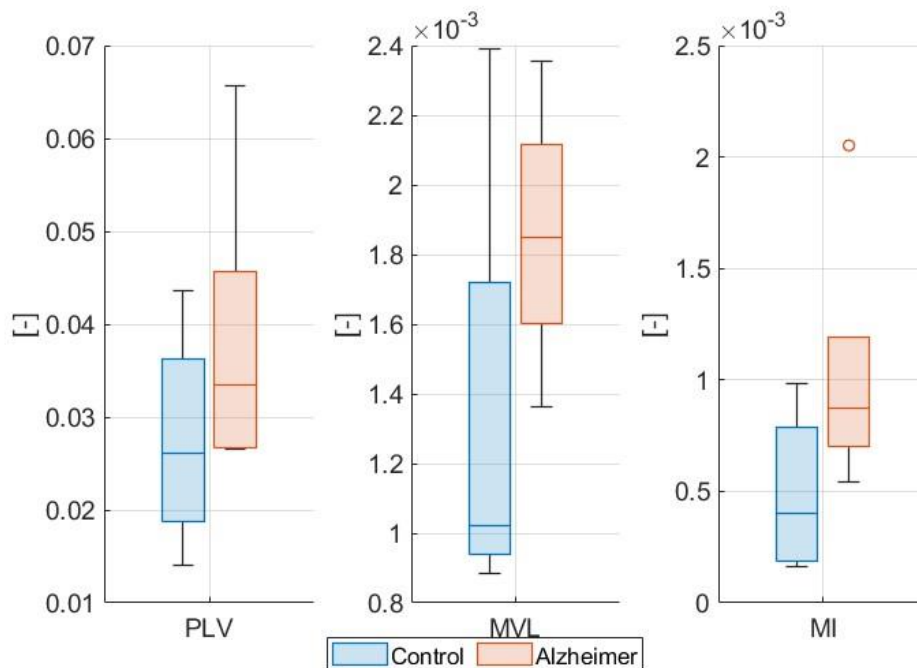
##### Théta-nižší gama

Při hodnocení metrik PAC mezi potkany ze skupiny ACH+ a potkany z ACH- skupiny nebyly pomocí Mannova-Whitneyho U-testu zjištěny žádné statisticky významné rozdíly. Příslušné p-hodnoty pro PLV, MVL a MI jsou v tabulce 10. Bonferroniho korekce byla provedena z důvodu mnohočetného testování kdy byla jedna hypotéza testována třemi parametry: PLV, MVL a MI.

| Mann-Whitney U-test – PAC   théta-nižší gama |       |       |       |
|--|-------|-------|-------|
|  | PLV   | MVL   | MI    |
| p-hodnota                                    | 0,413 | 0,286 | 0,286 |
| Bonferroniho korekce                         | 1,239 | 0,858 | 0,858 |

Tabulka 10: Výsledky Mannova-Whitneyho U-testu pro PAC théta-nižší gama

Průměrné hodnoty PAC théta-nižší gama pro ACH+ skupinu a ACH- skupinu pro páté sezení v objektové úloze jsou zobrazeny v grafu 15.



Graf 15: PAC théta-nižší gama pro ACH+ skupinu a ACH- skupinu při pátém sezení objektové úlohy. Modré sloupce reprezentují ACH- skupinu. Červené sloupce reprezentují ACH+ skupinu. Na grafu je zobrazen medián, sloupce vymezují první a třetí kvartil, ohraničení pod a nad sloupcem definuje minimum a maximum daných dat bez odlehlých hodnot a kolečka reprezentují odlehlé hodnoty. Legenda: Control = ACH-, Alzheimer = ACH+.



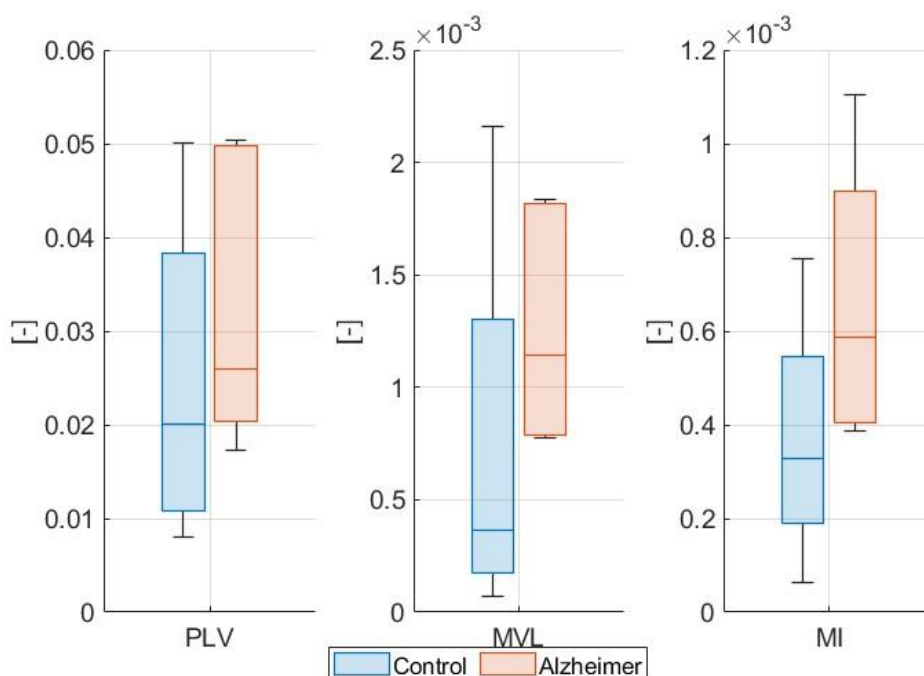
### Théta-vyšší gama

Při zkoumání metrik PAC mezi potkany ze skupiny ACH+ a potkany z ACH- skupiny nebyly pomocí Mannova-Whitneyho U-testu zjištěny žádné statisticky významné rozdíly. Konkrétní p-hodnoty pro PLV, MVL a MI jsou v tabulce 11. To naznačuje, že rozložení PLV, MVL a MI je mezi skupinami podobné. Bonferroniho korekce byla provedena z důvodu mnohočetného testování kdy byla jedna hypotéza testována třemi parametry: PLV, MVL a MI.

| Mann-Whitney U-test – PAC   théta-vyšší gama |       |       |       |
|--|-------|-------|-------|
|  | PLV   | MVL   | MI    |
| p-hodnota                                    | 0,556 | 0,286 | 0,111 |
| Bonferroniho korekce                         | 1,000 | 0,858 | 0,333 |

Tabulka 11: Výsledky Mannova-Whitneyho U-testu pro PAC théta-vyšší gama

Průměrné hodnoty PAC théta-vyšší gama pro ACH+ skupinu a ACH- skupinu pátého sezení objektové úlohy jsou zobrazeny v grafu 16.



Graf 16: PAC théta-vyšší gama pro ACH+ skupinu a ACH- skupinu při pátém sezení objektové úlohy. Modré sloupce reprezentují ACH- skupinu. Červené sloupce reprezentují ACH+ skupinu. Na grafu je zobrazen medián, sloupce vymezují první a třetí kvartil, ohraničení pod a nad sloupcem definuje minimum a maximum daných dat bez odlehlých hodnot a kolečka reprezentují odlehlé hodnoty. Legenda: Control = ACH-, Alzheimer = ACH+.

## 4.5. První sezení v sociální úloze

Pro výpočet energie a metrik PAC v prvním sezení v sociální úloze bylo použito  $N=8$  ACH+ a  $N=7$  ACH- potkanů. Průměrný čas interakce u skupiny ACH+ byl 39,75 s a směrodatná chyba byla 4,05 s. Pro ACH- skupinu byl průměrný čas 27,43 s a směrodatná chyba 1,78 s.

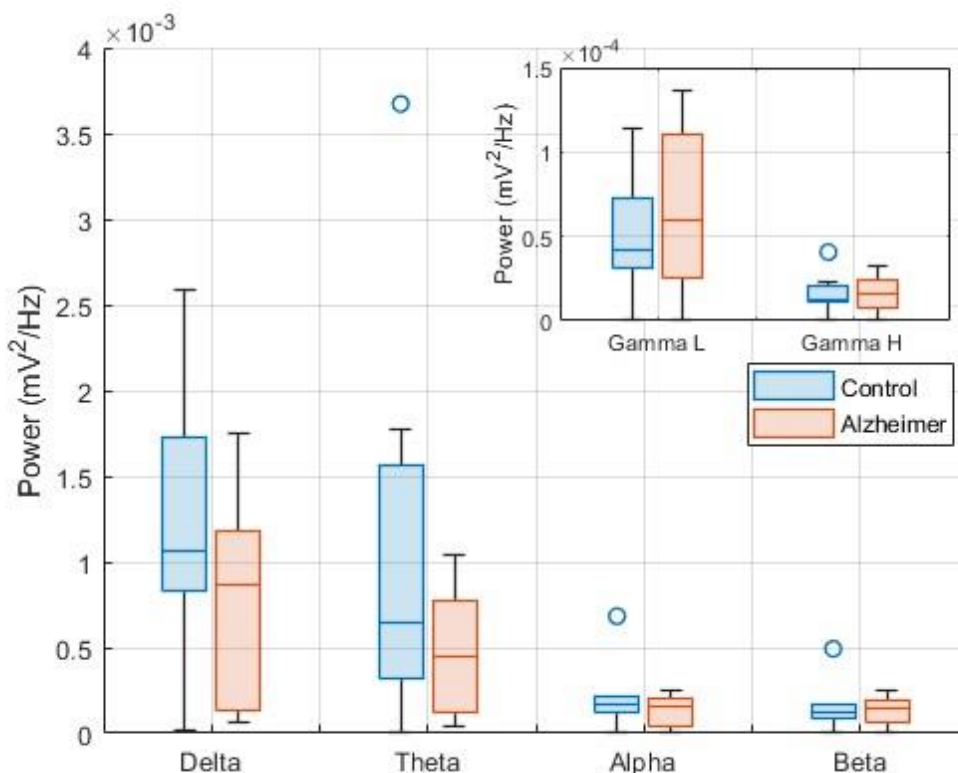
### 4.5.1. Energie

Při analýze energie v různých frekvenčních pásmech mezi potkany ze skupiny s ACH+ a potkany z ACH- skupiny nebyly pomocí Mannova-Whitneyho U-testu zjištěny žádné statisticky významné rozdíly. P-hodnoty pro pásma delta, théta, alfa, beta, nižší gama a vyšší gama jsou v tabulce 12.

| Mann-Whitney U-test – Energie |       |       |       |       |        |        |
|-------------------------------|-------|-------|-------|-------|--------|--------|
|                               | Delta | Théta | Alfa  | Beta  | N gama | V gama |
| p-hodnota                     | 0,416 | 0,463 | 0,779 | 0,955 | 0,694  | 0,955  |

Tabulka 12: Výsledky Mannova-Whitneyho U-testu pro daná frekvenční pásma pro první sezení v sociální úloze. "N gama" značí frekvenční pásmo nižší gama. "V gama" značí frekvenční pásmo vyšší gama.

Energie v daných frekvenčních pásmech pro ACH+ skupinu a ACH- skupinu pro první sezení v sociální úloze jsou zobrazeny v grafu 17.



Graf 17: Energie pro daná frekvenční pásma při prvním sezení sociální úlohy. Modré sloupce reprezentují ACH- skupinu. Červené sloupce reprezentují ACH+ skupinu. Na grafu je zobrazen medián, sloupce vymezují první a třetí kvartil, ohraničení pod a nad sloupcem definuje minimum a maximum daných dat bez odlehlých hodnot a kolečka reprezentují odlehlé hodnoty. Gamma L reprezentuje nižší gamu a gamma H reprezentuje vyšší gamu. Legenda: Control = ACH-, Alzheimer = ACH+.

#### 4.5.2. Mezifrekvenční vazba

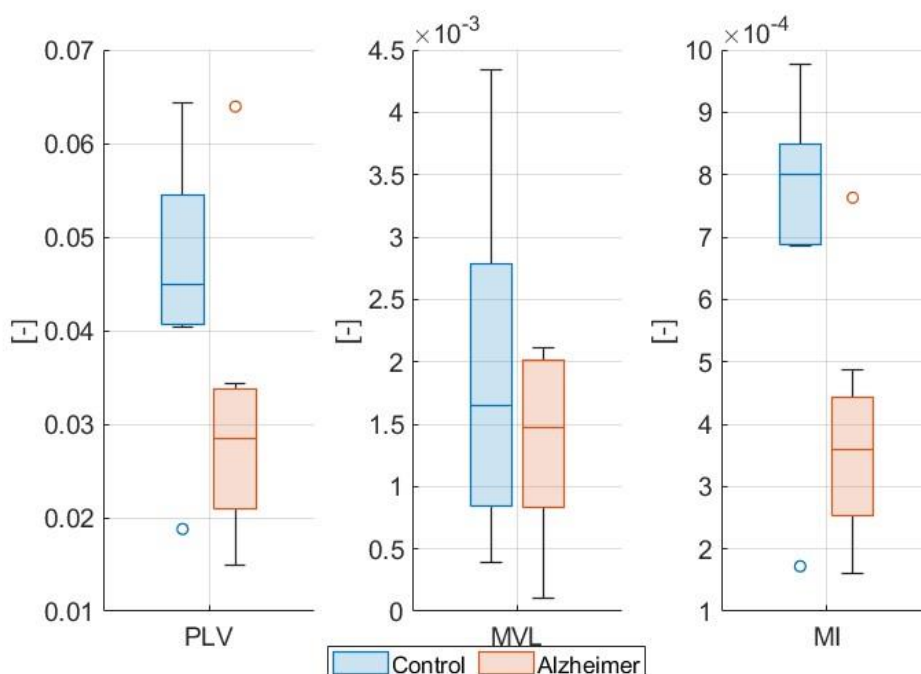
##### Théta-nižší gama

Při hodnocení metrik PAC mezi potkany ze skupiny ACH+ a potkany z ACH- skupiny pomocí Mannova-Whitneyho U-testu nebyly pozorovány statisticky významné rozdíly pro MI, PLV a MVL. Z trendu v krabicovém grafu 18 však lze snížení u PLV a MI u ACH+ skupiny oproti ACH- skupině vidět, což naznačuje i statistické porovnání parametru MI, které po Bonferonniho korekci leží mírně nad hladinou signifikance ( $p=0.087$ , U-test). Kompletní výsledky testů jsou zobrazeny v tabulce 17. Bonferonniho korekce byla provedena z důvodu mnohočetného testování, kdy byla jedna hypotéza testována třemi parametry: PLV, MVL a MI.

| Mann-Whitney U-test – PAC |       | théta-nižší gama |              |
|---------------------------|-------|------------------|--------------|
|                           | PLV   | MVL              | MI           |
| p-hodnota                 | 0,072 | 0,694            | <b>0,029</b> |
| Bonferroniho korekce      | 0,216 | 1,000            | <b>0,087</b> |

Tabulka 13: Výsledky Mannova-Whitneyho U-testu pro PAC théta-nižší gama

Průměrné hodnoty PAC théta-nižší gama pro ACH+ skupinu a ACH- skupinu v prvním sezení sociální úlohy jsou zobrazeny v grafu 18.



Graf 18: PAC théta-nižší gama pro ACH+ skupinu a ACH- skupinu při prvním sezení sociální úlohy. Modré sloupce reprezentují ACH- skupinu. Červené sloupce reprezentují ACH+ skupinu. Na grafu je zobrazen medián, sloupce vymezují první a třetí kvartil, ohraničení pod a nad sloupcem definuje minimum a maximum daných dat bez odlehlých hodnot a kolečka reprezentují odlehlé hodnoty. Legenda: Control = ACH-, Alzheimer = ACH+.

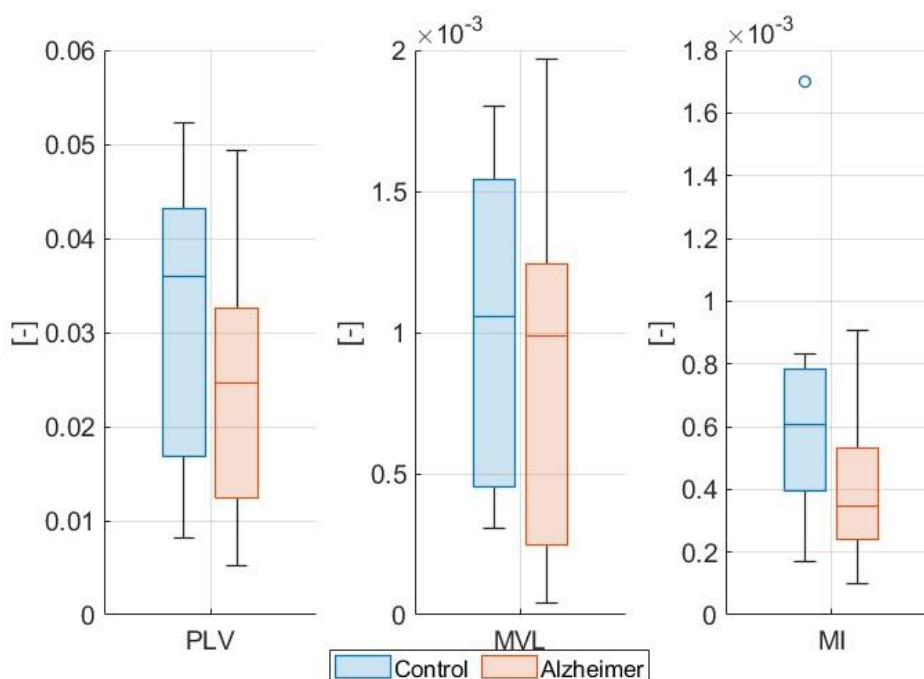
### Théta-vyšší gama

Při hodnocení metrik PAC mezi potkany ze skupiny ACH+ a potkany z ACH- skupiny pomocí Mannova-Whitneyho U-testu nebyly zjištěny žádné statisticky významné rozdíly pro PLV, MVL a MI s příslušnými p-hodnotami v tabulce 14. Bonferroniho korekce byla provedena z důvodu mnohočetného testování kdy byla jedna hypotéza testována třemi parametry: PLV, MVL a MI.

| Mann-Whitney U-test – PAC   théta-vyšší gama |       |       |       |
|--|-------|-------|-------|
|  | PLV   | MVL   | MI    |
| p-hodnota                                    | 0,397 | 0,536 | 0,121 |
| Bonferroniho korekce                         | 1,000 | 1,000 | 0,363 |

Tabulka 14: Výsledky Mannova-Whitneyho U-testu pro PAC théta-vyšší gama

Průměrné hodnoty PAC théta-vyšší gama pro ACH+ skupinu a ACH- skupinu prvního sezení sociální úlohy jsou zobrazeny v grafu 19.



Graf 19: PAC théta-vyšší gama pro ACH+ skupinu a ACH- skupinu při prvním sezení sociální úlohy. Modré sloupce reprezentují ACH- skupinu. Červené sloupce reprezentují ACH+ skupinu. Na grafu je zobrazen medián, sloupce vymezují první a třetí kvartil, ohraničení pod a nad sloupcem definuje minimum a maximum daných dat bez odlehlých hodnot a kolečka reprezentují odlehlé hodnoty. Legenda: Control = ACH-, Alzheimer = ACH+.

#### 4.6. Páté sezení v sociální úloze

Pro výpočet energie a metrik PAC v pátém sezení v sociální úloze bylo použito  $N=3$  ACH+ a  $N=7$  ACH- potkanů. Průměrný čas interakce u skupiny ACH+ byl 28 s a směrodatná chyba byla 2,31 s. Pro ACH- skupinu byl průměrný čas 27,43 s a směrodatná chyba 2,52 s.

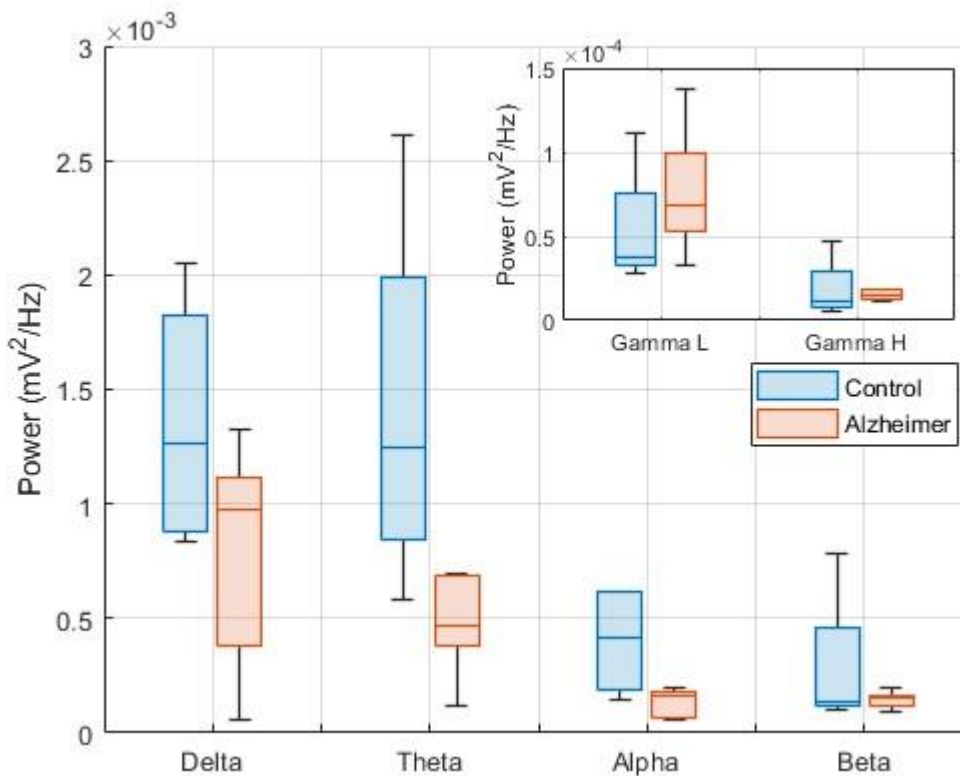
##### 4.6.1. Energie

Při porovnání energie v daných frekvenčních pásmech mezi potkany skupiny ACH+ a potkany z ACH- skupiny nebyly pomocí Mannova-Whitneyho U-testu zjištěny statisticky významné rozdíly v žádném z frekvenčních pásem. Konkrétně p-hodnoty jsou zobrazeny v tabulce 15.

| Mann-Whitney U-test – Energie |       |       |       |       |        |        |
|-------------------------------|-------|-------|-------|-------|--------|--------|
|                               | Delta | Théta | Alfa  | Beta  | N gama | V gama |
| p-hodnota                     | 0,267 | 0,267 | 0,267 | 0,383 | 0,383  | 0,383  |

Tabulka 15: Výsledky Mannova-Whitneyho U-testu pro daná frekvenční pásma pro páté sezení v sociální úloze. "N gama" značí frekvenční pásmo nižší gama. "V gama" značí frekvenční pásmo vyšší gama.

Energie v daných frekvenčních pásmech pro ACH+ skupinu a ACH- skupinu pro páté sezení v sociální úloze jsou zobrazeny v grafu 20.



Graf 20: Energie pro daná frekvenční pásma při pátém sezení sociální úlohy. Modré sloupce reprezentují ACH<sup>-</sup> skupinu. Červené sloupce reprezentují ACH<sup>+</sup> skupinu. Na grafu je zobrazen medián, sloupce vymezují první a třetí kvartil, ohraničení pod a nad sloupcem definuje minimum a maximum daných dat bez odlehlých hodnot a kolečka reprezentují odlehlé hodnoty. Gamma L reprezentuje nižší gamu a gamma H reprezentuje vyšší gamu. Legenda: Control = ACH<sup>-</sup>, Alzheimer = ACH<sup>+</sup>.

#### 4.6.2. Mezifrekvenční vazba

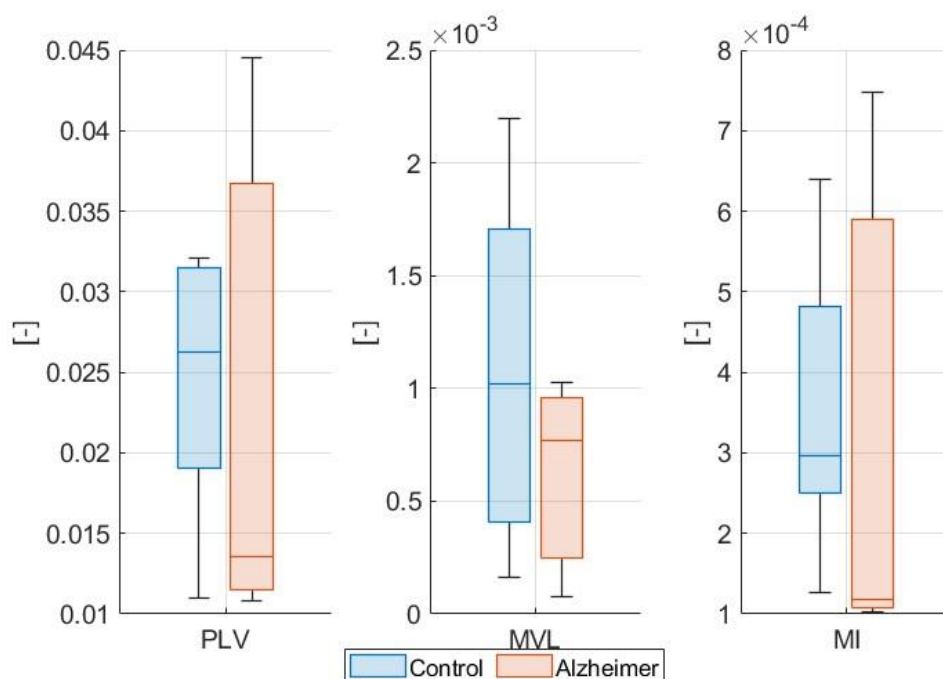
##### Théta-nižší gama

Při hodnocení metrik PAC mezi potkany ze skupiny ACH<sup>+</sup> a potkany z ACH<sup>-</sup> skupiny pomocí Mannova-Whitneyho U-testu nebyly zjištěny žádné statisticky významné rozdíly. Konkrétně u PLV, MVL a MI jsou p-hodnoty zobrazeny v tabulce 16. Bonferroniho korekce byla provedena z důvodu mnohočetného testování kdy byla jedna hypotéza testována třemi parametry: PLV, MVL a MI.

| Mann-Whitney U-test – PAC |       | théta-nižší gama |        |
|---------------------------|-------|------------------|--------|
|                           | PLV   | MVL              | MI     |
| p-hodnota                 | 0,667 | 0,517            | 0,052  |
| Bonferroniho korekce      | 1,000 | 1,000            | 0,1551 |

Tabulka 16: Výsledky Mannova-Whitneyho U-testu pro PAC théta-nižší gama

Průměrné hodnoty PAC théta-nižší gama pro ACH+ skupinu a ACH- skupinu v pátém sezení sociální úlohy jsou zobrazeny v grafu 21.



Graf 21: PAC théta-nižší gama pro ACH+ skupinu a ACH- skupinu při pátém sezení sociální úlohy. Modré sloupce reprezentují ACH- skupinu. Červené sloupce reprezentují ACH+ skupinu. Na grafu je zobrazen medián, sloupce vymezují první a třetí kvartil, ohraničení pod a nad sloupcem definuje minimum a maximum daných dat bez odlehlých hodnot a kolečka reprezentují odlehlé hodnoty. Legenda: Control = ACH-, Alzheimer = ACH+.



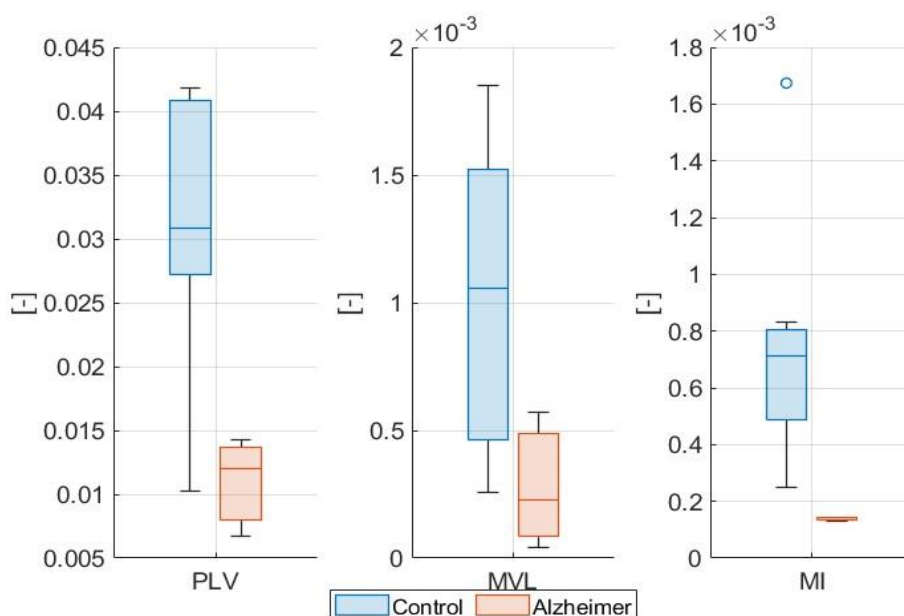
### Théta-vyšší gama

Při hodnocení metrik PAC mezi potkany ze skupiny ACH+ a potkany z ACH- skupiny pomocí Mannova-Whitneyho U-testu nebyly pozorovány statisticky významné rozdíly pro MI, PLV a MVL. Z trendu v krabicovém grafu 22 však lze snížení u metrik PAC u ACH+ skupiny oproti ACH- skupině vidět, což naznačuje i statistické porovnání parametru MI, které po Bonferroniho korekci leží mírně nad hladinou signifikance ( $p=0.051$ , U-test). Kompletní výsledky testování jsou zobrazeny v tabulce 17. Bonferroniho korekce byla provedena z důvodu mnohočetného testování kdy byla jedna hypotéza testována třemi parametry: PLV, MVL a MI.

| Mann-Whitney U-test – PAC |       | théta-vyšší gama |              |
|---------------------------|-------|------------------|--------------|
|                           | PLV   | MVL              | MI           |
| p-hodnota                 | 0,067 | 0,067            | <b>0,017</b> |
| Bonferroniho korekce      | 0,201 | 0,201            | <b>0,051</b> |

Tabulka 17: Výsledky Mannova-Whitneyho U-testu pro PAC théta-vyšší gama

Průměrné hodnoty PAC théta-vyšší gama pro ACH+ skupinu a ACH- skupinu pátého sezení sociální úlohy jsou zobrazeny v grafu 22.



Graf 22: PAC théta-vyšší gama pro ACH+ skupinu a ACH- skupinu při pátém sezení sociální úlohy. Modré sloupce reprezentují ACH- skupinu. Červené sloupce reprezentují ACH+ skupinu. Na grafu je zobrazen medián, sloupce vymezují první a třetí kvartil, ohraničení pod a nad sloupcem definuje minimum a maximum daných dat bez odlehlých hodnot a kolečka reprezentují odlehlé hodnoty. Legenda: Control = ACH-, Alzheimer = ACH+.

## 5. Diskuse

V rámci práce bylo zkoumána neurální aktivita u animálního modelu ACH s cílem odhalit mechanismy zodpovědné za deficity v sociálním chování. Za tímto účelem byly vyvinuty nástroje pro analýzu incidence SWR a nástroje pro časově-frekvenční analýzu.

V rámci práce byl vyvinut detektor SWR založený na minimalizaci falešně pozitivních detekcí skupiny předchozích již používaných detektorů. Zároveň byl tento detektor srovnán pomocí standardních metrik s referenčními detektory SWR (Hilbertův, SLL a STE detektor). Detektorem byla určena incidence SWR ve spánku po objektové a sociální úloze u transgenních potkanů TgF344-AD (reprezentujících skupinu ACH+) a potkanů Fisher344 (reprezentujících skupinu ACH-).

Zároveň byla ve studii vypočtena energie jednotlivých frekvenčních pásem, která také byla porovnána mezi skupinami ACH- a ACH+. Energie byla vypočtena z LFP záznamu klidové aktivity a prvního sezení (pro test sociability, tedy ochoty vstupovat do sociálních interakcí) a pátého sezení (pro test sociální paměti, tedy schopnosti rozpoznat nového potkana od již známého) sociální úlohy. Analogicky byla energie vypočtena pro první a páté sezení objektové úlohy.

V poslední části byla v práci vypočtena mezifrekvenční vazba frekvenčních pásem théta-nižší gama a théta-vyšší gama, která také byla porovnána mezi skupinami ACH- a ACH+. Mezifrekvenční vazba byla rovněž vypočtena z LFP záznamu klidové aktivity a prvního a pátého sezení objektové a sociální úlohy.

### 5.1. Detekce ostrých vln a hrotů

Motivací detekce SWR bylo vyvinutí nové metody detekce SWR a popsání incidence SWR během konsolidace sociální paměti s cílem porozumět potenciálním mechanismům zodpovědným za narušení sociální paměti u ACH (60). Údaje z testování surogátních dat ukazují, že výkonnost detektorů se liší v závislosti na SNR. Námi vyvinutý detektor si i při nižším odstupě SNR (-3 dB) oproti jiným detektorům zachovává vysokou citlivost při zachování specifity. To naznačuje jeho potenciál pro lepší výkon při detekci SWR v měnících se šumových podmínkách.

Vyšší odolnost našeho detektoru vůči šumu z něj činí spolehlivější nástroj pro identifikaci SWR, což je klíčový parametr pro pochopení různých neurálních mechanismů kognitivních procesů. Pozorovaná nižší kvalita záznamu v datech LFP v kritickém frekvenčním pásmu 100-200 Hz však vyvolává obavy o přesnosti detekce SWR, kde se

hypotéza o poklesu incidence SWR ve spánku po sociální úloze u animálního modelu ACH potkanů TgF344-AD oproti kontrolní skupině nepotvrdila, přestože bylo v dřívějších studiích na tomto animálním modelu pozorováno například snížení energie frekvenčního pásma gama při SWR (28) a snížení trvání času SWR (74) v hipokampální oblasti CA1.

Hlavním omezením této studie je právě výše popsaná nižší kvalita záznamu LFP. Toto zkreslení, pravděpodobně způsobené laboratorními podmínkami nebo vybavením, mohlo ohrozit integritu výsledků.

Pro řešení těchto problémů se doporučuje, aby budoucí studie zajistily integritu signálu LFP, zejména v kritickém frekvenčním pásmu pro detekci SWR. To může zahrnovat přezkoumání laboratorního vybavení, procesů sběru dat a filtračních technik.

## 5.2. Změny energie

Motivací pro analýzu energie v rámci specifických frekvenčních pásem signálu mozkových vln byl zisk poznatků o tom, zda a jak ACH v počátečních stádiích mění neurální dynamiku (46; 61).

Při porovnání energie v různých frekvenčních pásmech během klidové aktivity, objektové a sociální úlohy mezi skupinami potkanů s ACH+ a ACH- nebyly zjištěny žádné statisticky významné rozdíly. Protože nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly bez provedení Bonferroniho korekce, nebyla tato korekce následně provedena.

Za daných experimentálních podmínek nebylo pozorováno odlišné rozložení energie mozkové aktivity v daných frekvenčních pásmech u transgenních ACH+ potkanů ve srovnání s kontrolní skupinou ACH-. Oproti tomu se staví výsledky studie (28), kdy byl u TgF344-AD potkanů během uretanové anestezie i volně se pohybujících pokles v pásmu théta pozorován (stáří potkanů 6-12 měsíců, oblast záznamu LFP: hipokampus CA1). Zároveň nebyl pozorován pokles energie v pásmu vyšší gama, který byl pozorován ve studii (74) u potkanů TgF344-AD, kteří byli nahráváni během dvou po sobě jdoucích dnů v otevřeném prostoru (stáří potkanů 4-5 měsíců, oblast záznamu LFP: hipokampus CA1).

Ačkoliv statistická analýza neprokázala signifikantní rozdíly mezi testovanými subjekty, ve výsledcích lze spatřit trend korespondující s výše publikovanými pracemi. Proto lze doporučit navýšení velikosti vzorku souboru, na kterém by mohly být sledované trendy prokázány.

### 5.3. Mezifrekvenční vazba

Motivací pro analýzu mezifrekvenční vazby je, že mechanismus mezifrekvenční vazby je považován za klíčový pro vyšší kognitivní funkce, jako jsou paměť a učení, které jsou u ACH často narušeny (52). Analýza mezifrekvenční vazby může poskytnout cenné poznatky o dopadu nemoci na koordinaci a integraci mozkových činností (51). Zároveň mohou být změny v mezifrekvenční vazbě vhodným parametrem pro včasnou diagnózu ACH (62).

Celkově nebyly neodhaleny žádné statisticky významné rozdíly ve všech metrikách PAC mezi skupinami ACH+ a ACH- během klidové aktivity, objektové úlohy i sociální úlohy, což naznačuje podobné interakce mezi frekvencemi  $\theta$  a  $\gamma$  v těchto podmínkách. V případě prvního a pátého sezení sociální úlohy lze sledovat pokles zejména v parametru MI u skupiny ACH+, což částečně koresponduje s výsledky studie (53), kde byl pozorován signifikantní pokles MI (u obou variant frekvenčních pásem:  $\theta$ -nižší  $\gamma$  a  $\theta$ -vyšší  $\gamma$ ) během klidové aktivity u potkanů TgF344-AD (stáří potkanů 8-9 měsíců, oblast záznamu LFP: hipokampus CA1). Nesignifikance výsledků v této práci může být způsobena nižším zejména věkem testovaných potkanů (věk 6 měsíců) oproti potkanům testovaných ve studii (53) a menším vzorkem dat. Nesignifikantní pokles MI u ACH+ skupiny oproti ACH- skupině, pozorovaný během sociální úlohy naznačuje, že u ACH+ skupiny mohlo být narušené kognitivní zpracování specificky během sociálních interakcí, jelikož toto narušení nebylo patrné během klidového stavu nebo během interakce s objekty.

Tyto výsledky jsou důležité zejména pro pochopení kognitivních procesů a jejich neurálních základů u animálního modelu ACH, potkanů TgF344-AD. Výsledky naznačují, že v rané fázi ACH je specificky narušeno zpracování sociálních stimulů. Zároveň tato zjištění naznačují, že PAC by mohl být vhodnou metrikou k odhalení rané fáze ACH, což je v souladu se studií (28), která ukázala signifikantní pokles MI potkanů TgF344-AD (stáří potkanů 12 měsíců, oblast záznamu LFP: hipokampus CA1) během vysokofrekvenční elektrické stimulace mozkového kmene *nucleus pontis oralis* oproti potkanům Fisher344.

Budoucí výzkum by měl zvážit zvýšení velikosti souboru. Vzhledem k významným zjištěním ve změnách PAC v sociální úloze, by bylo cenné další zkoumání neurálních mechanismů sociálního chování u animálních modelů ACH.

#### 5.4. Budoucí využití a využitelnost v praxi

Na základě dosavadních výsledků bude projekt pokračovat s důrazem na aplikaci a vylepšení vyvinutých nástrojů pro zpracování digitálního signálu. Zjištění o přítomnosti šumu v datech a nižší měřené amplitudy, zvláště ve frekvenčním pásmu 100-200 Hz, představuje významnou limitaci ke korektnímu vyhodnocení výsledků zejména detekce SWR. Proto byly v rámci práce použity i surogátní signály, které byly simulovány z dat ze studie (64). Zároveň díky zjištění nižší kvality záznamu v nahrávkách LFP byla ve výzkumném ústavu, kde byly měřeny záznamy LFP ACH- a ACH+ skupin, požádáno o novou měřicí aparaturu vhodnou pro získání nekontaminovaného LFP záznamu vysokofrekvenčních oscilací. Ačkoli žádné statistické testy neprokázaly signifikantní rozdíly na malé skupině zvířat, práce poskytuje smysluplné a s předchozími studiemi konkordantní předběžné výsledky pokračujícího projektu, ve kterém se čeká na vyhodnocení větší kohorty. Projekt tedy bude pokračovat zopakováním stejného měření na nové aparatuře s následným využitím vyvinutých nástrojů pro detekci SWR, kvantifikaci energie specifických frekvenčních pásem a výpočtu mezifrekvenční vazby. Vyvinuté analytické nástroje bude možné použít i v dalších projektech v laboratoři, ve kterých se budou analyzovat LFP data, jelikož incidence SWR, energie signálu a mezifrekvenční vazba jsou hojně používané metriky.

## 6. Závěr

V rámci práce byly splněny hlavní cíle zadání, ačkoliv s některými omezeními. Detektor vysokofrekvenčních oscilací byl úspěšně vyvinut a jeho funkčnost byla ověřena na surogátních datech, jejichž použití oproti reálným datům bylo nezbytné kvůli nízké kvalitě naměřených dat v kritickém frekvenčním pásmu 100-200 Hz. Nicméně byla prokázána vyšší výkonnost navrženého řešení oproti dříve publikovaným detektorům.

V rámci časově-frekvenční analýzy byly vyvinuty nástroje pro výpočet energetických parametrů signálu ve specifických frekvenčních pásmech a nástroje pro kvantifikaci mezifrekvenční vazby pomocí parametrů PLV, MVL a MI. Použití těchto nástrojů ukázalo schopnost sledování dynamiky mozkové aktivity odrážející kognitivní funkce..

Incidence SWR, energie specifických frekvenčních pásem a metriky mezifrekvenční vazby byly statisticky porovnány mezi transgenními potkany TgF344-AD a kontrolní skupinou. Ačkoli nebyly zjištěny žádné signifikantní rozdíly, pozorované trendy korespondují s dříve publikovanými pracemi a demonstrují vhodnost použitých technik.

Celkově lze konstatovat, že i přes některá omezení a výzvy byly hlavní body zadání splněny. Získané poznatky a vyvinuté nástroje představují významný přínos pro další výzkum v oblasti Alzheimerovy choroby a naznačují směry pro budoucí vylepšení a rozšíření práce.

## 7. Reference

1. **BUSZÁKI, Gyorgy.** *Hippocampal sharp wave-ripples: A cognitive biomarker for episodic memory and planning.* místo neznámé : Hippocampus, 2015.
2. **Fundukian, Laurie J.** *The Gale encyclopedia of medicine.* 2011, (No Title).
3. **Budson, Andrew E. a Solomon, Paul R.** *Memory loss.* místo neznámé : Elsevier, 2016, Alzheimer's disease, and dementia (second edition) Chapter, stránky 5–38.
4. **Mendez, Mario F.** *The relationship between anxiety and Alzheimer's disease.* místo neznámé : IOS Press, 2021, Journal of Alzheimer's disease reports, Sv. 5, stránky 171–177.
5. **Nobis, Lisa a Husain, Masud.** *Apathy in Alzheimer's disease.* místo neznámé : Elsevier, 2018, Current opinion in behavioral sciences, Sv. 22, stránky 7–13.
6. **Hsiao, Ya-Hsin, Chang, Chih-Hua a Gean, Po-Wu.** *Impact of social relationships on Alzheimer's memory impairment: mechanistic studies.* místo neznámé : BioMed Central, 2018, Journal of biomedical science, Sv. 25, stránky 1–8.
7. **Martins, Ralph N., a další.** *Neurodegeneration and Alzheimer's disease: the role of diabetes, genetics, hormones, and lifestyle.* místo neznámé : John Wiley & Sons, 2019.
8. **Leonardi, david a Nathan DALEY.** *Alzheimer's memory loss and MCI: the latest science for prevention % treatment.* místo neznámé : North Chraleston: CreateSpace, 2012.
9. **Tulving, Endel a Markowitsch, Hans J.** *Episodic and declarative memory: role of the hippocampus.* místo neznámé : Wiley Online Library, 1998, Hippocampus, Sv. 8, stránky 198–204.
10. **Broadbent, Nicola J., Squire, Larry R. a Clark, Robert E.** *Spatial memory, recognition memory, and the hippocampus.* místo neznámé : National Acad Sciences, 2004, Proceedings of the National Academy of Sciences, Sv. 101, stránky 14515–14520.
11. **Hitti, Frederick L. a Siegelbaum, Steven A.** *The hippocampal CA2 region is essential for social memory.* místo neznámé : Nature Publishing Group UK London, 2014, Nature, Sv. 508, stránky 88–92.
12. **Schafer, Matthew a Schiller, Daniela.** *The hippocampus and social impairment in psychiatric disorders.* 2018. Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology. Sv. 83, stránky 105–118.
13. **Singleton, Ellen H., a další.** *Social cognition deficits and biometric signatures in the behavioural variant of Alzheimer's disease.* místo neznámé : Oxford University Press US, 2023, Brain, Sv. 146, stránky 2163–2174.
14. **Budson, Andrew E. a Solomon, Paul R.** *New diagnostic criteria for Alzheimer's disease and mild cognitive impairment for the practical neurologist.* místo neznámé : BMJ Publishing Group Ltd, 2012, Practical Neurology, Sv. 12, stránky 88–96.
15. **Shea, Yat-Fung, a další.** *A systematic review of familial Alzheimer's disease: Differences in presentation of clinical features among three mutated genes and potential ethnic differences.* místo neznámé : Elsevier, 2016, Journal of the Formosan Medical Association, Sv. 115, stránky 67–75.

16. **Zetterberg, Henrik a Mattsson, Niklas.** *Understanding the cause of sporadic Alzheimer's disease.* místo neznámé : Taylor & Francis, 2014, Expert review of neurotherapeutics, Sv. 14, stránky 621–630.
17. **Mendez, Mario F.** *Early-onset Alzheimer disease and its variants.* místo neznámé : NIH Public Access, 2019, Continuum (Minneapolis, Minn.), Sv. 25, str. 34.
18. **Lanoiselée, Hélène-Marie, a další.** *APP, PSEN1, and PSEN2 mutations in early-onset Alzheimer disease: A genetic screening study of familial and sporadic cases.* místo neznámé : Public Library of Science San Francisco, CA USA, 2017, PLoS medicine, Sv. 14, str. e1002270.
19. **Lee, Yen-Ti a Pai, Ming-Chyi.** *Recognition of personally familiar scenes in patients with very mild Alzheimer's disease: effects of spatial frequency and luminance.* místo neznámé : IOS Press, 2012, Journal of Alzheimer's Disease, Sv. 29, stránky 441–448.
20. **Zhang, Yun-wu, a další.** *APP processing in Alzheimer's disease.* místo neznámé : Springer, 2011, Molecular brain, Sv. 4, stránky 1–13.
21. **Larner, A. J.** *Presenilin-1 mutations in Alzheimer's disease: an update on genotype-phenotype relationships.* místo neznámé : IOS Press, 2013, Journal of Alzheimer's Disease, Sv. 37, stránky 653–659.
22. **Fedeli, Chiara, a další.** *PSEN2 (presenilin 2) mutants linked to familial Alzheimer disease impair autophagy by altering Ca<sup>2+</sup> homeostasis.* místo neznámé : Taylor & Francis, 2019, Autophagy, Sv. 15, stránky 2044–2062.
23. **Andrade-Guerrero, Jesús, a další.** *Alzheimer's Disease: An Updated Overview of Its Genetics.* místo neznámé : MDPI, 2023, International Journal of Molecular Sciences, Sv. 24, str. 3754.
24. **Duara, R., a další.** *A comparison of familial and sporadic Alzheimer's disease.* místo neznámé : Lippincott Williams & Wilkins, 1993, Neurology, Sv. 43, stránky 1377–1377.
25. **Mckean, Natasha Elizabeth, Handley, Renee Robyn a Snell, Russell Grant.** *A review of the current mammalian models of Alzheimer's disease and challenges that need to be overcome.* místo neznámé : MDPI, 2021, International Journal of Molecular Sciences, Sv. 22, str. 13168.
26. **Saré, Rachel Michelle, a další.** *Behavioral phenotype in the TgF344-AD rat model of Alzheimer's disease.* místo neznámé : Frontiers Media SA, 2020, Frontiers in neuroscience, Sv. 14, str. 601.
27. **Bishay, J., a další.** *Venular amyloid accumulation in transgenic Fischer 344 Alzheimer's disease rats.* místo neznámé : Nature Publishing Group UK London, 2022, Scientific Reports, Sv. 12, str. 15287.
28. **Stoiljkovic, Milan, a další.** *Altered cortical and hippocampal excitability in TgF344-AD rats modeling Alzheimer's disease pathology.* místo neznámé : Oxford University Press, 2019, Cerebral Cortex, Sv. 29, stránky 2716–2727.
29. **Proskauer Pena, Stephanie L., a další.** *Early spatial memory impairment in a double transgenic model of Alzheimer's disease TgF-344 AD.* místo neznámé : MDPI, 2021, Brain Sciences, Sv. 11, str. 1300.



30. **Bernaud, Victoria E., a další.** *Task-dependent learning and memory deficits in the TgF344-AD rat model of Alzheimer's disease: three key timepoints through middle-age in females.* místo neznámé : Nature Publishing Group UK London, 2022, Scientific reports, Sv. 12, str. 14596.
31. **Shen, Ling-Xiao, a další.** *Social isolation, social interaction, and Alzheimer's disease: a Mendelian randomization study.* místo neznámé : IOS Press, 2021, Journal of Alzheimer's Disease, Sv. 80, stránky 665–672.
32. **Pentkowski, Nathan S., a další.** *Anxiety-like behavior as an early endophenotype in the TgF344-AD rat model of Alzheimer's disease.* místo neznámé : Elsevier, 2018, Neurobiology of aging, Sv. 61, stránky 169–176.
33. **Friston, Karl J., a další.** *LFP and oscillations—what do they tell us?* místo neznámé : Elsevier, 2015, Current opinion in neurobiology, Sv. 31, stránky 1–6.
34. **Herreras, Oscar.** *Local field potentials: myths and misunderstandings.* místo neznámé : Frontiers Media SA, 2016, Frontiers in neural circuits, Sv. 10, str. 101.
35. **Teleńczuk, Bartosz, a další.** *Local field potentials primarily reflect inhibitory neuron activity in human and monkey cortex.* místo neznámé : Nature Publishing Group UK London, 2017, Scientific reports, Sv. 7, str. 40211.
36. **Guest, Amy C., Kevin J. O'NEIL, Dylan GRAHAM, Zahra MIRYADEH, Francisco A. PONCE, Bradley GREGER.** *Microscale electrophysiological functional connectivity in a human costico-basal ganglia network.* místo neznámé : Clinical Neurophysiology, 2022.
37. **Fabietti, Marcos, a další.** *Early Detection of Alzheimer's Disease from Cortical and Hippocampal Local Field Potentials using an Ensembled Machine Learning Model.* místo neznámé : IEEE, 2023, IEEE Transactions on Neural Systems and Rehabilitation Engineering.
38. **Singh, Balbir, a další.** *Plasticity after cognitive training reflected in prefrontal local field potentials.* místo neznámé : Elsevier, 2022, Iscience, Sv. 25.
39. **da Silva, Fernando Lopes.** *Neural mechanisms underlying brain waves: from neural membranes to networks.* místo neznámé : Elsevier, 1991, Electroencephalography and clinical neurophysiology, Sv. 79, stránky 81–93.
40. **Roux, Lisa, a další.** *Sharp wave ripples during learning stabilize the hippocampal spatial map.* místo neznámé : Nature Publishing Group US New York, 2017, Nature neuroscience, Sv. 20, stránky 845–853.
41. **Fernández-Ruiz, Antonio, a další** *Long-duration hippocampal sharp wave ripples improve memory..* místo neznámé : American Association for the Advancement of Science, 2019, Science, Sv. 364, stránky 1082–1086.
42. **Joo H.R., Frank L.M.** *The hippocampal sharp wave-ripples in memory retrieval for immediate use and consolidation.* místo neznámé : Nature Reviews, Neuroscience, 2018.
43. **Oliva A, Fernandez-Ruiz A, Leroy F, Siegelbaum SA.** *Hippocampal CA2 sharp-wave ripples reactive and promote social memory.* místo neznámé : Nature, 2020.
44. **STAHL. Stephen M., Debbi Ann MORRISSETTE.** *Alzheimer's disease and other dementias.* místo neznámé : Cambridge: Cambridge University Press, 2019.

45. **Monica van den Berg, Daniëlle Toen, Marleen Verhoye, Georgios A. Keliris.** *Alternations in theta-gamma coupling and sharp wave-ripples, signs of prodromal hippocampal network impairment in the TgF344-AD rat model.* místo neznámé : Front. Aging Neurosci, 2023.
46. **Baik, Kyoungwon, a další.** *Implication of EEG theta/alpha and theta/beta ratio in Alzheimer's and Lewy body disease.* místo neznámé : Nature Publishing Group UK London, 2022, Scientific reports, Sv. 12, str. 18706.
47. **Cheah, Christine S., a další.** *Sharp-wave ripple frequency and interictal epileptic discharges increase in tandem during thermal induction of seizures in a mouse model of genetic epilepsy.* místo neznámé : Frontiers Media SA, 2021, Frontiers in Cellular Neuroscience, Sv. 15, str. 751762.
48. **Aguilera, Alberto a Quintanilla, Juan P.** *Sharp wave ripples in Alzheimer's disease: in search of mechanisms.* **Sanchez-** místo neznámé : Soc Neuroscience, 2021, Journal of Neuroscience, Sv. 41, stránky 1366–1370.
49. **Jones, Emily A and Gillespie, Anna K and Yoon, Seo Yeon and Frank, Loren M and Huang, Yadong.** *Jones, Emily A and Gillespie, Anna K and Yoon, Seo Yeon and Frank, Loren M and Huang, Yadong.* místo neznámé : Cell reports, 2019.
50. **Kreuzer, Matthias, a další.** *Sleep/wake behavior and EEG signatures of the TgF344-AD rat model at the prodromal stage.* místo neznámé : MDPI, 2020, International journal of molecular sciences, Sv. 21, str. 9290.
51. **Sacks, Dashiell D., a další.** *Phase–amplitude coupling, mental health and cognition: implications for adolescence.* místo neznámé : Frontiers Media SA, 2021, Frontiers in Human Neuroscience, Sv. 15, str. 622313.
52. **Chen, Xi, a další.** *Multiple cross-frequency coupling analysis of resting-state EEG in patients with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease.* místo neznámé : Frontiers Media SA, 2023, Frontiers in Aging Neuroscience, Sv. 15.
53. **Bazzigaluppi, Paolo, a další.** *Early-stage attenuation of phase-amplitude coupling in the hippocampus and medial prefrontal cortex in a transgenic rat model of Alzheimer's disease.* místo neznámé : Wiley Online Library, 2018, Journal of neurochemistry, Sv. 144, stránky 669–679.
54. **Joo, Illsung L and Lai, Aaron Y and Bazzigaluppi, Paolo and Koletar, Margaret M and Dorr, Adrienne and Brown, Mary E and Thomason, Lysie AM and Sled, John G and McLaurin, JoAnne and Stefanovic, Bojana.** *Early neurovascular dysfunction in a transgenic rat model of Alzheimer's disease.* místo neznámé : Scientific reports, 2017.
55. **Murphy, M. Paul a LeVine III, Harry.** *Alzheimer's disease and the amyloid- $\beta$  peptide.* místo neznámé : IOS Press, 2010, Journal of Alzheimer's disease, Sv. 19, stránky 311–323.
56. **Liu, Wu a Zagzebski, James A.** *Trade-offs in data acquisition and processing parameters for backscatter and scatterer size estimations.* místo neznámé : IEEE, 2010, IEEE transactions on ultrasonics, ferroelectrics, and frequency control, Sv. 57, stránky 340–352.
57. **Press, William H., a další.** *Numerical recipes in C++.* 2007, The art of scientific computing, Sv. 2, str. 1002.

58. **Hülsemann, Mareike J., Naumann, Ewald a Rasch, Björn.** *Quantification of phase-amplitude coupling in neuronal oscillations: comparison of phase-locking value, mean vector length, modulation index, and generalized-linear-modeling-cross-frequency-coupling.* místo neznámé : Frontiers Media SA, 2019, Frontiers in neuroscience, Sv. 13, str. 573.
59. **Jurkiewicz, Gabriela J., Hunt, Mark J. a Żygierewicz, Jarosław.** *Addressing pitfalls in phase-amplitude coupling analysis with an extended modulation index toolbox.* místo neznámé : Springer, 2021, Neuroinformatics, Sv. 19, stránky 319–345.
60. **Zhen, Zhi-Hang, a další.** *Normal and abnormal sharp wave ripples in the hippocampal-entorhinal cortex system: implications for memory consolidation, Alzheimer's disease, and temporal lobe epilepsy.* místo neznámé : Frontiers Media SA, 2021, Frontiers in Aging Neuroscience, Sv. 13, str. 683483.
61. **Musaeus, Christian Sandøe, a další.** *EEG theta power is an early marker of cognitive decline in dementia due to Alzheimer's disease.* místo neznámé : IOS Press, 2018, Journal of Alzheimer's Disease, Sv. 64, stránky 1359–1371.
62. **Victorino, Daniella B., a další.** *Toward the Identification of Neurophysiological Biomarkers for Alzheimer's Disease in Down Syndrome: A Potential Role for Cross-Frequency Phase-Amplitude Coupling Analysis.* místo neznámé : JKL International LLC, 2023, Aging and Disease, Sv. 14, str. 428.
63. **Donos, Cristian, Mîndruță, Ioana a Barborica, Andrei.** *Unsupervised detection of high-frequency oscillations using time-frequency maps and computer vision.* místo neznámé : Frontiers Media SA, 2020, Frontiers in neuroscience, Sv. 14, str. 183.
64. **Kudlacek, Jan, a další.** *Lacosamide and levetiracetam have no effect on sharp-wave ripple rate.* místo neznámé : Frontiers Media SA, 2017, Frontiers in Neurology, Sv. 8, str. 687.
65. **WORNELL, Gregory W.** *Wavelet-based representations for the 1/f family of fractal processes.* místo neznámé : Proceedings of the IEEE, 1993. 1428-1450.
66. **Miyakoshi, Makoto, a další.** *Automated detection of cross-frequency coupling in the electrocorticogram for clinical inspection.* 2013. 2013 35th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (Embc). stránky 3282–3285.
67. **Semple-Rowland, S. L. a Dawson, W. W.** *Retinal cyclic light damage threshold for albino rats.* 1987, Laboratory animal science, Sv. 37, stránky 289–298.
68. **Paxinos, G. a Watson, Ch.** *The rat brain in stereotaxic coordinates: compact sixth edition.* 2009, New York: Academic Press, stránky 143–149.
69. **Navarrete, Miguel, a další.** *RIPPLELAB: A comprehensive application for the detection, analysis and classification of high frequency oscillations in electroencephalographic signals.* místo neznámé : Public Library of Science San Francisco, CA USA, 2016, PloS one, Sv. 11, str. e0158276.
70. **Gardner, Andrew B., a další.** *Human and automated detection of high-frequency oscillations in clinical intracranial EEG recordings.* místo neznámé : Elsevier, 2007, Clinical neurophysiology, Sv. 118, stránky 1134–1143.
71. **Staba, Richard J., a další.** *Quantitative analysis of high-frequency oscillations (80–500 Hz) recorded in human epileptic hippocampus and entorhinal cortex.* místo neznámé :

American Physiological Society Bethesda, MD, 2002, Journal of neurophysiology, Sv. 88, stránky 1743–1752.

72. **Tort, Adriano B. L., a další.** *Measuring phase-amplitude coupling between neuronal oscillations of different frequencies.* místo neznámé : American Physiological Society Bethesda, MD, 2010, Journal of neurophysiology, Sv. 104, stránky 1195–1210.

73. **Mishra, Prabhaker, a další.** *Descriptive statistics and normality tests for statistical data.* místo neznámé : Wolters Kluwer–Medknow Publications, 2019, Annals of cardiac anaesthesia, Sv. 22, str. 67.

74. **Monica van den Berg, Daniëlle Toen, Marleen Verhoye, Georgios A. Keliris.** *Alterations in theta-gamma coupling and sharp wave-ripple, signs of prodromal hippocampal network impairment in the TgF344-AD rat model.* místo neznámé : Front. Aging Neurosci, 2023.

75. **Van Deursen, J. A., a další.** *Increased EEG gamma band activity in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment.* místo neznámé : Springer, 2008, Journal of neural transmission, Sv. 115, stránky 1301–1311.

76. **Joo, Iilsung L., a další.** *Early neurovascular dysfunction in a transgenic rat model of Alzheimer's disease.* místo neznámé : Nature Publishing Group UK London, 2017, Scientific reports, Sv. 7, str. 46427.

77. **Jones, Emily A., a další.** *Early hippocampal sharp-wave ripple deficits predict later learning and memory impairments in an Alzheimer's disease mouse model.* místo neznámé : Elsevier, 2019, Cell reports, Sv. 29, stránky 2123–2133.

78. **Van Deursen, JA and Vuurman, EFPM and Verhey, FRJ and van Kranen-Mastenbroek, VHJM and Riedel, WJ.** *Increased EEG gamma band activity in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment.* místo neznámé : Journal of neural transmission, 2008.