



**ČESKÉ VYSOKÉ
UČENÍ TECHNICKÉ
V PRAZE**

F3

**Fakulta elektrotechnická
Katedra teorie obvodů**

Diplomová práce

Detekční systém epileptických záchvatů myši bez využití EEG

**System for mouse epileptic seizures detection without EEG
measurement**

Štěpán Hetych

Lékařská elektronika a bioinformatika

Květen 2024

Vedoucí práce: Mgr. Ondřej Novák, Ph.D., Ústav fyziologie 2.LF UK Praha

I. OSOBNÍ A STUDIJNÍ ÚDAJE

Příjmení: **Hetych** Jméno: **Štěpán** Osobní číslo: **483429**
Fakulta/ústav: **Fakulta elektrotechnická**
Zadávající katedra/ústav: **Katedra teorie obvodů**
Studijní program: **Lékařská elektronika a bioinformatika**
Specializace: **Lékařská technika**

II. ÚDAJE K DIPLOMOVÉ PRÁCI

Název diplomové práce:

Detekční systém epileptických záchvatů myši bez využití EEG

Název diplomové práce anglicky:

System for Mouse Epileptic Seizures Detection without EEG Measurement

Pokyny pro vypracování:

Cílem práce je optimalizovat a doplnit zařízení, kam bude možné umístit myš ve standardní chovné nádobě a které bude zaznamenávat signály umožňující detekovat epileptické záchvaty myši. Mezi snímané signály budou patřit drobné pohyby klece (případně i zvuk pásma 2-40 kHz) a video. Bude poskytnut materiál pro kompletní konstrukci: multikanálové I/O zařízení s 100kHz vzorkovací frekvencí, senzory a další technika. Pohyby klece budou snímány pomocí piezoelektrických senzorů pod nožičkami klece. Hlavní částí projektu bude signálové zpracování signálů, návrh detekčního algoritmu a aplikace pro prohlížení a eliminaci falešně pozitivních detekcí.

1. Seznamte se s dostupnými senzory (piezoelektrické, mikrofon, kamera) a I/O kartou NI USB6003.
2. Vytvořte měřicí systém a zaznamenejte jím signály myši různých hmotností v průběhu jejich přirozeného pohybu a průběhy chemicky indukovaných tonicko-klonických epileptických záchvatů.
3. Navrhněte případné hardwarové úpravy (předzesilovače, konfigurace, 3D tisk) zachycující kinematické a zvukové projevy epileptických záchvatů.
4. Navrhněte detekční algoritmus s využitím zpracování signálů a strojového učení, optimalizujte jej na změřených datech animálních modelů epilepsie a kontrolních zvířat, stanovte senzitivitu a chybovost detekce.
5. Navrhněte aplikaci pro manuální zhodnocení selektovaných záchvatů expertem.

Seznam doporučené literatury:

- [1] Carreño-Muñoz M I, Medrano M C, Da Silva A F G, Gestreau C, Menuet C, Leinekugel T, Bompard M, Martins F, Subashi E, Aby F, Frick A, Landry M, Grana M and Leinekugel X 2022 Detecting fine and elaborate movements with piezo sensors provides non-invasive access to overlooked behavioral components *Neuropsychopharmacology* 47 933-43
- [2] Mandhane S N, Aavula K and Rajamannar T 2007 Timed pentylenetetrazol infusion test: A comparative analysis with s.c.PTZ and MES models of anticonvulsant screening in mice *Seizure-European Journal of Epilepsy* 16 636-44
- [3] Van Erum J, Van Dam D and De Deyn P P 2019 PTZ-induced seizures in mice require a revised Racine scale *Epilepsy & Behavior* 95 51-5
- [4] Gschwind T, Zeine A, Raikov I, Markowitz J E, Gillis W F, Felong S, Isom L L, Datta S R and Soltesz I 2023 Article Hidden behavioral fingerprints in epilepsy *Neuron* 111 1440-+

Jméno a pracoviště vedoucí(ho) diplomové práce:

Mgr. Ondřej Novák, Ph.D. Ústav fyziologie 2.LF UK 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: **02.02.2024**

Termín odevzdání diplomové práce: _____

Platnost zadání diplomové práce: **21.09.2025**

Mgr. Ondřej Novák, 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

Poděkování / Prohlášení

Chtěl bych poděkovat panu magistrovi Ondřeji Novákovi Ph.D., za vedení, poskytování materiálů a prostředí při tvorbě diplomové práce. Panu inženýrovi Radku Jančovi Ph.D., za umožnění vytvořit mou diplomovou práci na jiné univerzitě. Magistře Janě Populové, která mi velmi pomáhala s měřením a získáním dat pro tvorbu a testování mého zařízení. A nakonec bych chtěl poděkovat mé rodině, která mě finančně a psychicky podporovala a pomáhala mi při mém studiu.

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

.....
Podpis autora práce

Abstrakt / Abstract

Tato diplomová práce se zabývá návrhem a optimalizací zařízení pro detekci epileptických záchvatů bez použití EEG. Epilepsie je jednou z nejrozšířenějších neurologických poruch. Léčba epilepsie bývá náročná a ne vždy úspěšná. Výzkum, ke kterému bylo zařízení vyvinuto, se právě tímto problémem zabývá.

První polovina praktické části se zabývá popisem použitých součástek a návrhem zařízení. Druhá polovina praktické části se zabývá návrhem a optimalizací aplikace, která detekuje tonicko-klonické záchvaty z naměřených dat.

Poslední část se zabývá statistickým vyhodnocením dat vybraných do validačního datasetu.

Klíčová slova: epilepsie, piezosenzory, diplomová práce, detekce záchvatů, matlab, NI DAQ

This diploma thesis deals with design and optimization of device for epileptic seizure detection without EEG measurement. Epilepsy is one of the most prevalent neurological disorders. The treatment of epilepsy tends to be challenging and not always fully successful. The research to which this device was developed deals with this issue.

The first half of practical part deals with description of components used and the design of the device. The second half of practical part tries to approach the development and optimization of an application that detects tonic-clonic seizures from measured data.

The last part shows statistical evaluation of the data selected for the validation dataset.

Keywords: epilepsy, piezosensors, diploma thesis, seizure detection, matlab, NI DAQ

Obsah /

1 Úvod	1		
2 Teoretický rozbor	3		
2.1 Získ signálů ze záchvatů	6		
2.2 Rešerše zařízení pro snímání činností myši	8		
3 Zařízení pro měření a zpracování signálů	10		
3.1 Měření a získání signálu	10		
3.1.1 Tvorba chovné nádoby	10		
3.1.2 Senzory vibrací	12		
3.1.3 Snímání zvuku	13		
3.1.4 Nahrávání video záznamu	14		
3.1.5 Časová synchronizace záznamů	15		
3.2 Zaznamenávání signálů	16		
3.2.1 Signál ze senzorů vibrací	17		
3.2.2 Signál z mikrofonů a časových pulzů	17		
3.3 Zpracování signálů	18		
3.3.1 Obrazový záznam	18		
3.3.2 Signálový záznam	20		
4 Zpracování dat a tvorba aplikace pro detekci záchvatů	21		
4.1 Předzpracování získaných signálů	21		
4.2 Parametry pro určení záchvatu	23		
4.2.1 Amplituda signálu z piezo-měníčů	23		
4.2.2 Dominantní frekvence v segmentu	25		
4.2.3 Prominence vrcholů u autokorelační funkce	26		
4.2.4 Energie signálu při středních kmitočtech	28		
4.2.5 Vyhodnocení signálu z mikrofonu	29		
4.2.6 Vyhodnocení výsledku z vypočtených parametrů	31		
4.2.7 Úprava aplikace pro umístění více myši do nádoby	33		
4.2.8 Nastavení limitů parametrů od uživatele	33		
5 Vyhodnocení a diskuse výsledků	35		
		5.1	Validační dataset 35
		5.2	Použití aplikace na validační dataset 36
		5.3	Vyhodnocení výsledků validačního datasetu 38
		5.3.1	Metody statického vyhodnocení 38
		5.3.2	Výsledky statistického vyhodnocení 39
6 Závěr	50		
Literatura	51		
A Seznam použitých zkratk	55		
B Kód aplikace pro detekci záchvatů	56		

Tabulky / Obrázky

5.1 Přehled naměřených dat s jednou myší umístěnou do nádoby	35
5.2 Přehled naměřených dat s dvěma myšmi umístěnými do nádoby	36
5.3 Výsledky detekce záchvatů pro jednu myš umístěnou do nádoby	37
5.4 Výsledky detekce záchvatů pro dvě myši umístěné do nádoby	38
1.1 Celosvětový výskyt epilepsie z roku 2016	1
2.1 Nákres běžné mozkové kůry	3
2.2 Nákres mozkové kůry při FCD typu II	5
2.3 Závislost intenzity záchvatu na množství aplikovaného pentylentetrazolu	7
2.4 Zařízení Laboras	9
3.1 Zařízení pro nahrávání signálů .	10
3.2 Návrh chovné nádoby	11
3.3 Model distančního sloupku pro umístění do piezo-měničů .	11
3.4 Model horního dílu nádoby	12
3.5 Piezo-měnič PT2728-WQ	13
3.6 Modul s mikrofonom a zesilovačem	14
3.7 Webkamera Ausdom AW635 ..	15
3.8 Naznačení průběhů pulsací pro časovou synchronizaci	16
3.9 Zapojení časového modulu DS3231 a vývojové desky Arduino	16
3.10 DAQ zařízení NI USB-6001	17
3.11 DAQ zařízení NI USB-6003	18
3.12 Ukázka obrazu nahrávky během denní doby	19
3.13 Ukázka obrazu nahrávky během noční doby	19
3.14 Schéma celého zapojení zařízení	20
4.1 Signál z piezo-měničů	21
4.2 Naznačení segmentace signálu .	22
4.3 Zvukový signál z mikrofону ...	23
4.4 Nalezení maxima a minima v segmentu signálu	23
4.5 Nalezení maxima a minima v segmentu signálu podle omezení maximálního rozdílu	24
4.6 Spektrum signálu ze běžného segmentu	25
4.7 Spektrum signálu ze záchvatového segmentu	26
4.8 Průběhy autokorelačních funkcí	27

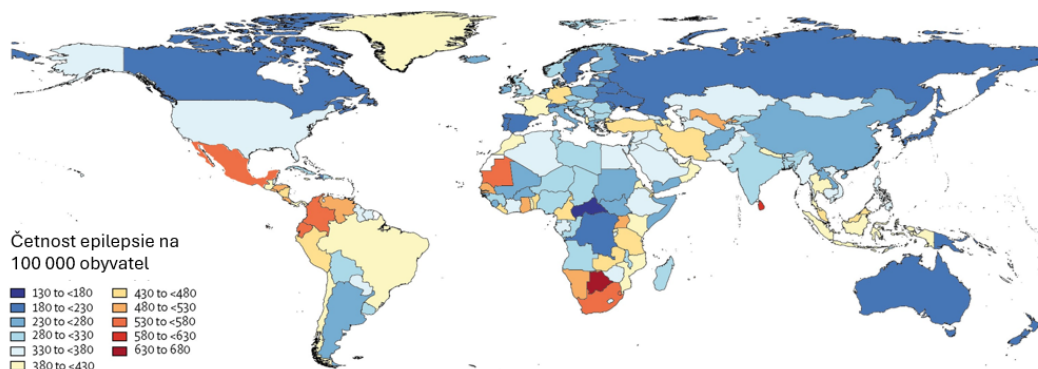
4.9	Průběhy autokorelačních funkcí - záchvat	28
4.10	Energetické spektrum úseku ...	29
4.11	Energetické spektrum segmentu - záchvat	29
4.12	Průběh signálu z mikrofonu ...	30
4.13	Frekvenční průběh horní propusti	30
4.14	Spektrum signálu z mikrofonu - záchvat	31
4.15	Tabulka s body vypočtených podle limitů pro parametry z běžného segmentu	32
4.16	Tabulka s body vypočtených podle limitů pro parametry	32
5.1	Přehled hmotností jednotlivých myší. Růžový kroužek je u myši, kterým aplikován pentylentetrazol	36
5.2	Výsledky metody ANOVA pro běžné segmenty jedné myši v nádobě	40
5.3	Výsledky metody lineární regrese pro běžné segmenty u jedné myši v nádobě	40
5.4	Grafické výsledky lineární regrese pro běžné segmenty u jedné myši v nádobě	41
5.5	Výsledky metody ANOVA pro falešně pozitivně hodnocené segmenty	41
5.6	Výsledky metody lineární regrese pro falešně pozitivně hodnocené segmenty	42
5.7	Výsledky metody lineární regrese pro falešně pozitivně hodnocené segmenty	42
5.8	Výsledky metody ANOVA pro záchvaty jedné myši v nádobě	43
5.9	Výsledky lineární regrese pro záchvaty jedné myši	43
5.10	Grafický výsledek lineární regrese pro záchvaty jedné myši	44

5.11	Výsledky metody ANOVA pro spontánní chování při umístění dvou myší do nádoby .	44
5.12	Výsledky metody lineární regrese pro spontánní chování při umístění dvou myší do nádoby	45
5.13	Grafické výsledky metody lineární regrese pro spontánní chování při umístění dvou myší do nádoby	45
5.14	Výsledky metody ANOVA pro falešně pozitivní segmenty při umístění dvou myší do nádoby	46
5.15	Výsledky metody lineární regrese pro falešně pozitivní segmenty při umístění dvou myší do nádoby	46
5.16	Grafické výsledky metody lineární regrese pro falešně pozitivní segmenty při umístění dvou myší do nádoby	47
5.17	Výsledky metody ANOVA pro záchvaty při umístění dvou myší do nádoby	47
5.18	Výsledky lineární regrese pro záchvaty při umístění dvou myší do nádoby	48
5.19	Výsledky lineární regrese pro záchvaty při umístění dvou myší do nádoby	49

Kapitola 1

Úvod

Epilepsie je neurologické onemocnění, které je charakteristické výskytem záchvatů. Tyto záchvaty se projevují změnami chování, vnímání či hybnosti, nebo náhlými ztrátami svalového napětí, či nekontrolovatelnými rychlými a krátkými záškuby. Jedná se o jedno z nejrozšířenějších neurologických onemocnění postihujících všechna pohlaví, etniky i věkové kategorie. Podle Světové zdravotnické organizace (WHO), postihuje v roce 2024 toto onemocnění celosvětově až 50 milionů lidí, přičemž až 80% z tohoto počtu žije v zemích s nízkými nebo středními příjmy. Pravděpodobná vyšší četnost tohoto onemocnění v rozvojových zemích může být způsobena porodními traumaty, či přítomností infekce vlivem horší zdravotní péče.[1] [2]



Obrázek 1.1. Celosvětový výskyt epilepsie z roku 2016. Převzato z [3]; Figure n.1

Ačkoliv diagnóza a následná léčba bývá často poměrně obtížná, podle WHO se až 70% nemocných dokáže plně zbavit záchvatů, pokud je dostatečně včas a správně zavedena léčba.

Podle definice Mezinárodní ligy proti epilepsii z roku 2014 je u pacienta diagnostikována epilepsie pokud splňuje alespoň jednu z následujících podmínek: [4]

- Dva nevyprovokované záchvaty v časovém rozestupu delším než 1 den
- Jeden nevyprovokovaný záchvat s pravděpodobností výskytu dalšího záchvatu vyšší než 60% (pravděpodobnost se odvíjí od epileptogeního nálezu v EEG, magnetické rezonanci nebo výpočetní tomografii)
- V minulosti definovaný epileptický syndrom

Epileptický syndrom je specifický typ nálezu, který je identifikován typem záchvatu nebo nálezem v EEG. Ne každý pacient s epilepsií musí mít nutně tento syndrom. Záleží například i na věku, kdy se záchvaty začaly objevovat. [5]

Výzkum a studie epilepsie je zásadní pro pochopení vzniku a rozvoje této nemoci a může posloužit k vývoji nových léčebných metod. Součástí výzkumu je tvorba modelu

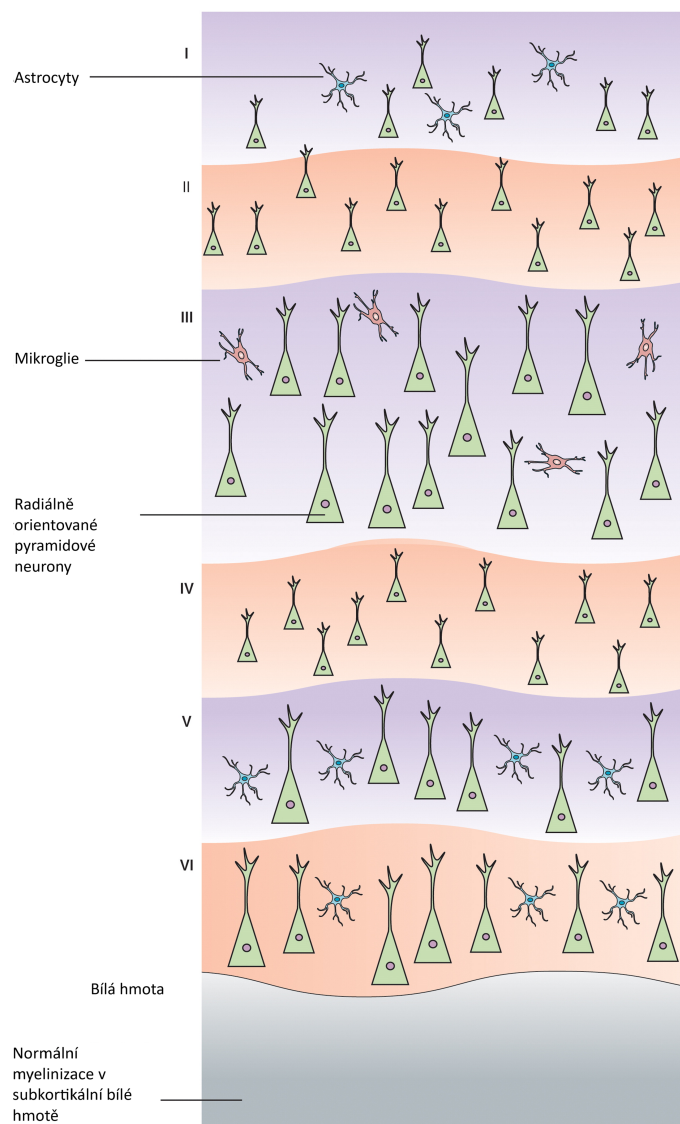
epilepsie. V těchto modelech se vyžadují spontánní záchvaty u zkoumaných objektů. Detekce těchto záchvatů je dělána pomocí EEG. Zavedení EEG je dlouhá a náročná operace spojená s dalšími úkony. Možnost zjištění přítomnosti záchvatů, bez nutnosti této operace, by finančně a zejména časově urychlila výzkum. To byla hlavní motivace k tomu vyvinout zařízení k detekci záchvatů bez nutnosti aplikace EEG. Návrh a optimalizace tohoto zařízení je tématem této diplomové práce.

Kapitola 2

Teoretický rozbor

Studie, pro kterou bylo vyvinuto zařízení pro detekci záchvatů, se zaměřuje na tvorbu modelu epilepsie a jeho následným výzkumem za účelem vytvoření funkčních medikamentů a vysvětlením příčin této poruchy.

Gravidním myším je v děloze („In utero“) vyvolána fokální kortikální dysplázie (FCD) pomocí injektování směsi plazmidů obsahujících geny s upravenou sekvencí. Plazmidy jsou injektovány do mozkových komor embryí s následnou elektroporací. Dceřinné buňky vzniklé z injektovaných buněk by v ideálním případě měly zajistit vznik lézí. Jde o pokus vyvolání umělé fokální kortikální dysplázie.



Obrázek 2.1. Nákres běžné mozkové kůry. Převzato z [6]; Figure n.1

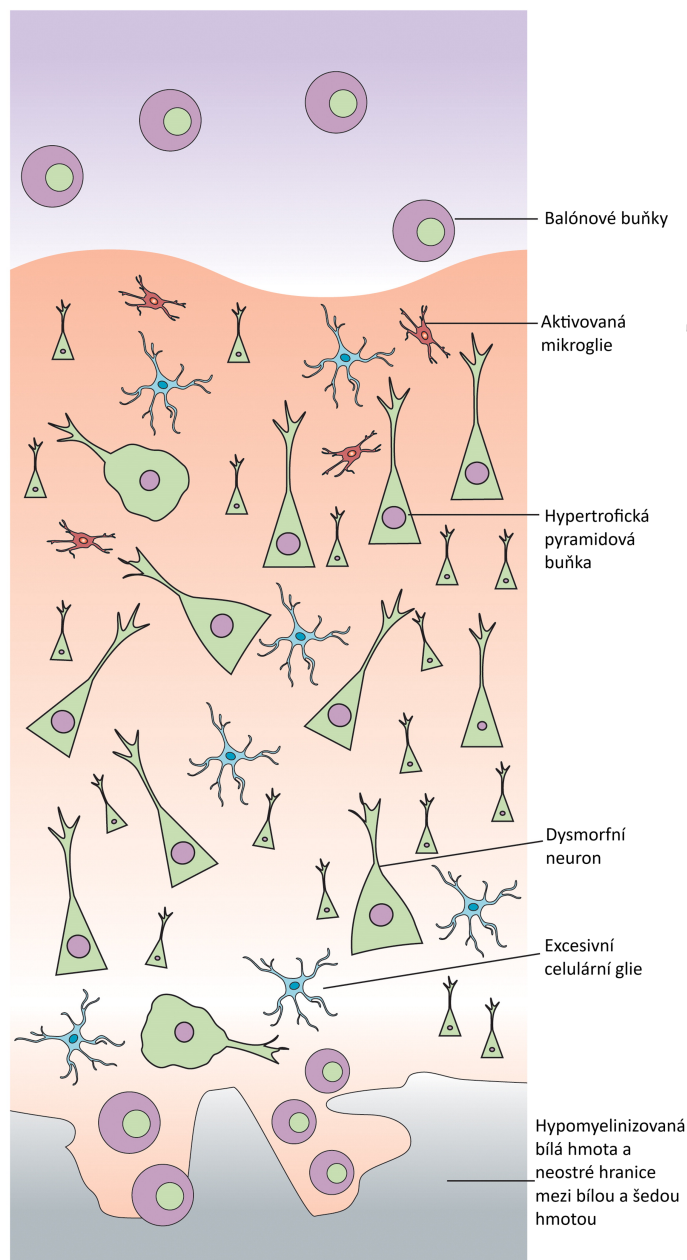
Fokální kortikální dysplázie je vrozená neurovývojová porucha, která vzniká již během prenatálního vývoje. Podle článku Mezinárodní ligy proti epilepsii (ILAE) [7] se fokální kortikální dysplázie dělí do tří druhů, které se dále dělí na poddruhy. Jednotlivé druhy se dělí zejména abnormálním vrstvením buněk v kortexu, přítomností dysmorfních neuronů (neurony s abnormální strukturou), či fokálními změnami v mozkové kůře. Dysmorfní neurony se kromě abnormální struktury projevují abnormálními: sekrecí, dendrickým větvením a synaptickou hustotou. Všechny tyto změny vedou k ovlivnění neuronální sítě a následným neurologickým problémům. [7] [8]

U fokální kortikální dysplázie typu I, která se projevuje abnormálním vrstvením kortexu, je zpravidla náročnější diagnostika. Zejména na snímcích z magnetické rezonance je velmi těžké léze najít, kvůli nedostatečnému kontrastu mezi šedou a bílou mozkovou hmotou. Proto se poté nejčastěji zavádí stereo elektroencefalogram (SEEG) k lokalizaci problémové tkáně. Bohužel ani diagnostika pomocí SEEG není zcela průkazná, jelikož neexistuje jasně daný specifický vzorec, který by dokázal jednoznačně odlišit FCD typu I od ostatních důvodů vzniku epilepsie. K záchvatům dochází poprvé přibližně v kojeneckém či batolecím věku. U FCD typu I je častá farmakorezistence. Zároveň je u tohoto typu statisticky nejmenší šance na absenci pooperačních problémů, tedy že po odstranění tkáně pomocí chirurgického zákroku dojde i k odstranění záchvatů. [8]

Fokální kortikální dysplázie typu II se projevuje abnormálním buněčným složením, zejména změnami ve vývoji a tvaru neuronů. Tento typ FCD může být bez nálezu až přibližně do předškolního věku. Začátek bývá poměrně rychlý s vysokým počtem záchvatů. U tohoto typu FCD je ovšem jednodušší diagnostika, kdy zejména u starších dětí lze léze lépe nalézt pomocí magnetické rezonance (MRI). Nález pomocí SEEG se liší podle lokalizace léze a věku pacienta. U tohoto typu je mnohem vyšší pravděpodobnost absence pooperačního přetrvávání epilepsie než u typu I.[8]

Přítomnost abnormálních, v tomto případě balonových buněk, je vidět na obrázku 2.2. Tyto buňky jsou charakteristické svou oválnou morfologií a vyskytují se často v přítomnosti jiných abnormálních buněk. Vyskytují se pouze u lidí a jsou důležitým faktorem při diagnostice FCD typu II. Samy se nepodílejí na elektrické aktivitě mozku a jsou v podstatě neškodné. Nebezpečnější jsou dysmorfní neurony.

FCD typu III je charakterizována abnormální architektonickou organizací v bezprostřední blízkosti léze a další přidruženou komorbiditou jako například vývojové nádory mozku nebo cévní léze. Konkrétně u tohoto typu je velmi těžké určit přesnou diagnózu a podtyp. Na druhou stranu pacienti s tímto typem FCD mají velmi dobré pooperační výsledky.[8]



Obrázek 2.2. Nákres mozkové kůry při FCD typu II. Převzato z [6]; Figure n.1

V dříve zmíněné studii, dojde po narození mláďat dojde k výběru pouze myši s lézí, která je dostatečně velká a zároveň správně umístěná. Následně je důležité zjistit, zda se u myši vyskytuje FCD indukující epilepsii, tedy jestli jsou u myši přítomny záchvaty. K tomuto zjištění je nutná operace, mimo jiné, s implantací elektrod pro měření EEG. Z EEG se později určuje jestli má myš záchvaty. Nutnost této operace a její časová náročnost byla jedním z důvodů k vytvoření zařízení, které dokáže detekovat záchvaty i bez nutnosti invazivních zákroků. Myši, u kterých nedojde k záchvatům, nemohou být zapojeny do studie a nemohou být dále zkoumány. Pokud se tedy po měření v zařízení ukáže, že k záchvatům u myši dochází, bude pokračovat do studie. Výroba a optimalizace tohoto zařízení jsou předmětem této diplomové práce.

2.1 Zisk signálů ze záchvatů

Pro vývoj a optimalizaci vyvinutého zařízení byly vybrány myši, u kterých se však spontánní záchvaty neobjevovaly. Důvodem bylo, že myši se spontánními záchvaty jsou zapojeny do studie a již nebyly k dispozici pro testování. Přesto signály z průběhu tonicko-klonických záchvatů jsou zásadní pro trénink a optimalizaci aplikace či samotného nahrávacího zařízení. Bylo nutné tedy u myši vyvolat záchvaty uměle.

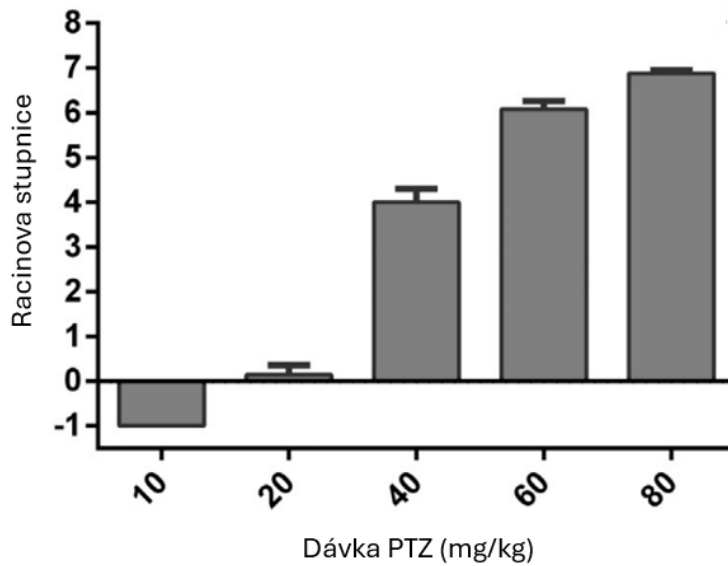
Vyvolání umělých záchvatů lze provést více způsoby. Jedním z takových způsobů je aplikování kyseliny kainátové přímo do hipokampu. Kyselina kainátová je látka, která působí jako agonista (stejně působící činitel) na kainátové receptory, což jsou receptory, které jsou podtypy glutamátových receptorů. Tyto receptory jsou typem iontových kanálů citlivých na glutamát, což je hlavní excitační neurotransmitter v centrálním nervovém systému. Aktivace těchto kanálů způsobí depolarizaci neuronů, zvýší excitabilitu, a to vede k nárůstu aktivity v dané oblasti. Četnost těchto kanálů je velmi vysoká právě v hipokampu, kde jsou umístěny jak presynapticky tak postsynapticky. Vysoká afinita receptorů a glutamátu právě v místě hipokampu, činí tuto oblast velmi náchylnou k záchvatům a bývá často používána právě pro výzkumy spojené s vyvoláváním záchvatů. [9] [10].

Další možností je aplikace pentylentetrazolu (PTZ). Narozdíl od kyseliny kainátové, která působí na iontové kanály a zvyšuje excitaci, pentylentetrazol funguje jako antagonist GABA receptorů. GABA, neboli kyselina γ -aminomáselná, je hlavní inhibiční mediátor v centrálním nervovém systému. Pentylentetrazol blokuje GABA receptory, a tím snižuje inhibici neuronu. Tato nedostatečná inhibice neuronů má pravděpodobně za následek zvýšenou excitaci, a tím i možnost vzniku uměle vyvolaného epileptického záchvatu, který se projevuje křečemi. Dříve byla tato látka rovněž používána během konvulzivní terapie, zejména pro onemocnění depresivního charakteru. Později byla nahrazena elektrokonvulzivní terapií. Pro získání signálů ze záchvatů byl zvolen právě pentylentetrazol. [11] [12]

Možnosti aplikování pentylentetrazolu jsou především tři, a to intravenózně (aplikace přímo do žíly) a subkutánně (aplikace do podkožní vrstvy) a intraperitoneálně (aplikace do břišní dutiny). Aplikace intravenózně probíhá nejčastěji zavedením katetru buď do ocasní nebo jugulární žíly. Při aplikaci PTZ intravenózně při kontinuálním toku se dá množstvím látky poměrně přesně nastavit intenzita záchvatu a čas, za který k záchvatu dojde. Zároveň, podle výsledků studie, která se tímto zabývala, stačí menší, přibližně poloviční dávka na kilogram váhy myši, aby došlo k záchvatu. [13]

Žádný z těchto parametrů ovšem nebyl důležitý pro získání signálu pro tuto práci. V případě aplikace subkutánně nelze přesně zařídit, kdy dojde k záchvatu, a zároveň hraniční dávka pro téměř jistou přítomnost záchvatu je v podstatě dvojnásobná. Velká výhoda tohoto způsobu aplikace je výrazná jednoduchost. Není potřeba žádný kontinuální tok ani speciální zařízení, ale stačí pouze jednoduchá injekce látky do podkožní vrstvy. Tato aplikace byla zvolena pro získání dat u této práce.

Aplikace intraperitoneálně má podobné vlastnosti jako subkutánní aplikace. Při vysokých dávkách PTZ dochází k silným záchvatům končícím smrtí myši. Intraperitoneální metoda má výhodu rychlejší distribuce a vstřebání PTZ. Je zde ovšem větší riziko infekce, poškození vnitřních orgánů nebo peritoneálního podráždění. [14]



Obrázek 2.3. Závislost intenzity záchvatu (upravená Racineova stupnice) na množství aplikovaného pentylenetetrazolu. Převzato z [15]. Figure n.2.

Co se týče množství aplikované látky, vycházeli jsme z experimentu, který se zaměřoval na hodnocení intenzity záchvatu na základě podané hmotnosti látky na kilogram hmotnosti myši. [15] V tomto experimentu byly aplikovány dávky celkem 10, 20, 40, 60, 80 miligramu PTZ na kilogram váhy myši. Dataset se skládal z myši různého typu a věku. Zaměřili se zde zejména na hodnocení záchvatů pomocí Racineovy stupnice na základě záznamu EEG signálu během záchvatu. Výslednou závislost intenzity záchvatů na aplikované dávce je možné vidět na obrázku 2.3. Z výsledků vyplývá, že nejnižší dávka pro záchvaty s klonickou fází byla 40 miligramů na kilogram. Jelikož v případě zisku dat pro náš dataset nebylo podstatné, do jaké fáze tonicko-klonických záchvatů myš dojde, ale zejména jestli k němu vůbec dojde, zvolili jsme minimální dávku 100 miligramů na kilogram váhy. V předchozím zmíněném experimentu již při podání 60 a 80 miligramů na kilogram, došlo k vysoké intenzitě záchvatů a v 75% případů i k následné smrti.

V předchozím odstavci byla zmíněna Racineova stupnice intenzity záchvatů. Tato stupnice byla zavedena v 1972 Gillesem Racinem a založena na pozorování a rozlišení různých motorických projevů a fází záchvatu. K těmto fázím jsou zároveň přiděleny konkrétní vzorce EEG signálu. Původní stupnice má celkem 5 stupňů.

Dnes lze nalézt několik modifikovaných stupnic, které přidávají další stupně či mezistupně pro přesnější rozlišení záchvatů. Důvodem je nedostatečná definice jednotlivých stupňů, a tedy následná možnost špatné klasifikace záchvatu. Jako nejvhodnější se jeví stupnice, která byla použita v dříve zmíněném článku. [15] Zde přidávají celkem dva další stupně, a výsledná stupnice má tedy 7, respektive 8 stupňů. Na začátek byl ještě přidán stupeň označen jako „-1“. Stupeň „-1“ je spontánní chování myši. Dále rozdělují stupeň v tabulce označený jako „1“ na 3 další podstupně, přesně jak jsou uvedeny v tabulce 2.1. Projevy „1A“, „1B“ a „1C“ byly rozděleny na stupně 1, 2 a 3.

Stupeň záchvatu	Fyzické projevy
0	Žádné projevy (je považováno za spontánní chování)
1	Pohyby fousků (1A), nehybné zírání (1B), pohyby úst a obličeje připomínající tiky (1C)
2	Křečovité pohyby hlavou, kývání
3	Klonické záškuby předních končetin, lordotické držení těla
4	Tonicko-klonické křeče ve stoje na zadních končetinách, často doprovázené pády
5	Generalizované tonicko-klonické křeče doprovázené skoky, křečemi na boku s možným následkem smrti

Tabulka 2.1. Základní Racineova stupnice

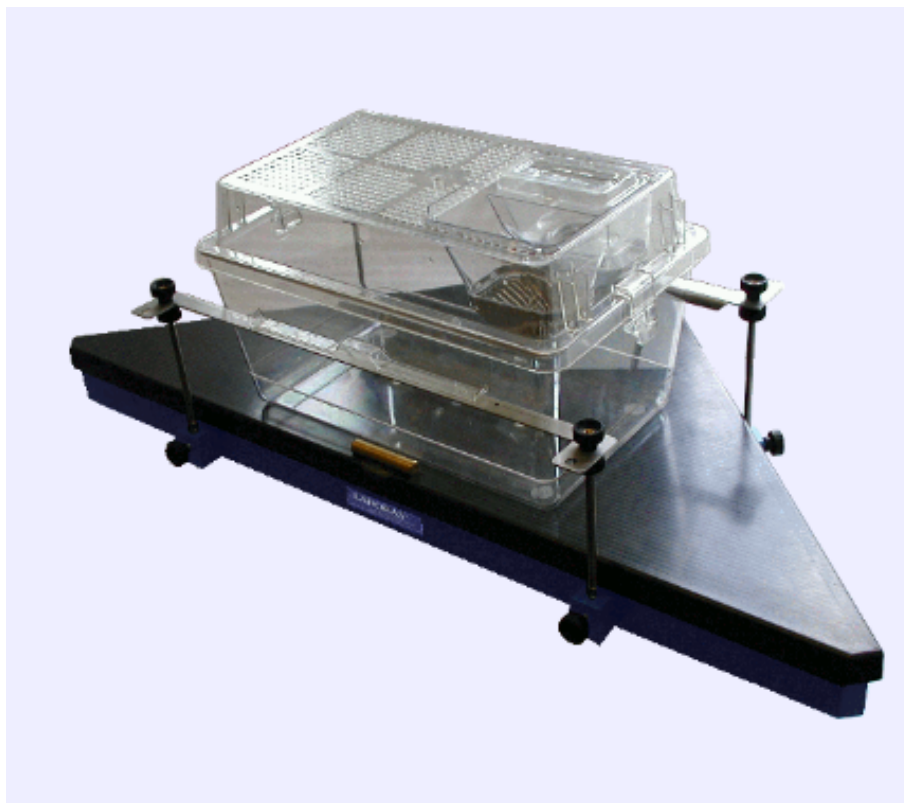
2.2 Rešerše zařízení pro snímání činností myši

Pro vývoj aplikace a následnou detekci záchvatů bylo nutné zvolit parametry vhodné pro detekci. Při volbě těchto parametrů jsme se spolehnuli na experimentální pozorování a zároveň jsme vycházeli z článku, ve kterém se zabývali rozpoznáváním běžného spontánního chování a zaměřili se především na rozlišení pohybů na vyšších frekvencích. Šlo konkrétně o rozlišení klepání myši na základě strachu, stresu či mrazení, chladu. V této studii pracovali s vyhodnocením činnosti myši rozdílným způsobem než v této diplomové práci. A to především ve zpracování signálu z piezo-měničů. Signály z piezo-měničů byly filtrovány různými pásmovými propustmi a byly normalizovány. Pokud signál po zpracování překonal prahovou hodnotu, bylo vyhodnoceno, že došlo k dané činnosti. U myši byl zároveň sledován a vyhodnocován pohyb po kleci. K získání signálu byl použit Phenotypix systém. Tento systém pracuje s nádobou umístěnou na piezo-senzorech, jejíž prostředí je neustále snímáno kamerou. Záznam z kamery rovněž slouží k vyhodnocování výsledků. [16]

Další podobné zařízení, které zaznamenává činnost myši pomocí piezo-měničů a zároveň nahrává prostředí klece pomocí videokamery, je zařízení Laboras od firmy Metris. Toto zařízení dokáže rozpoznat celkem 14 činností a dokáže rozlišit činnosti pro myš a krys v nádobě. Zároveň dokáže poskytovat informace o pohybu myši jako například: průměrnou rychlost, minimální a maximální rychlost, pozici a hustotu pozice v průběhu měření. Ovládání a zpracování dat je zajištěno uživatelskou aplikací. [17]

V roce 2006 byla vyvinuta druhá verze tohoto zařízení, která přináší další vylepšení, jako například: noční režim, rychlejší zpracování dat a umožnění detekce více speciálních činností najednou. [18]

V rámci této diplomové práce jsme se zaměřili na vývoj vlastního zařízení určeného pro detekci záchvatů. Z dostupných informací vyplývá, že žádné z těchto zařízení neumožňuje detekci záchvatů. Zároveň neumožňuje žádné individuální přizpůsobení či nastavení parametrů. Rovněž z důvodu úspory financí, času a místa bylo cílem této práce uzpůsobit zařízení pro umístění více myši do nádoby. Žádné z uvedených zařízení není uzpůsobeno k detekci při umístění více myši do chovné nádoby. Všechny tyto důvody vedly k rozhodnutí o vývoji vlastního zařízení.



Obrázek 2.4. Zařízení Laboras. Převzato z [17].

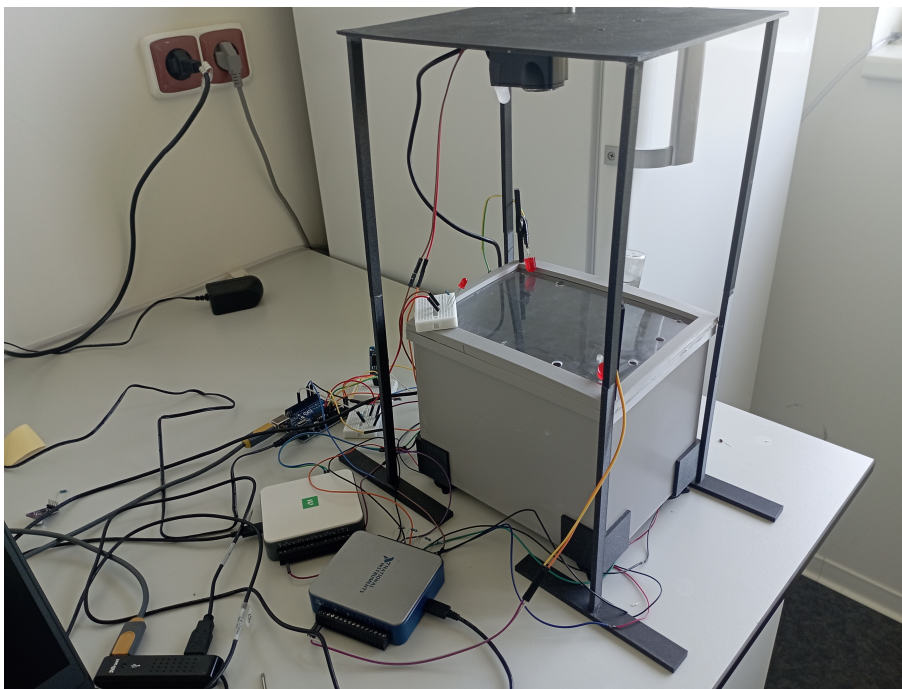
Kapitola 3

Zařízení pro měření a zpracování signálů

Tato kapitola diplomové práce se bude zabývat popisem částí a součástek, které byly použity k sestavení zařízení pro měření signálu. Samotné zařízení tvoří: chovná nádoba, piezo-měniče, mikrofon, kamera, NI DAQ zařízení a vývojová deska Arduino s časovým modulem.

3.1 Měření a získání signálu

Návrh a výběr vhodných součástek je podstatná část tvorby každého zařízení. Všechny části byly navrženy tak, aby současně po dostatečně dlouhou dobu bez toho, aniž by se navzájem ovlivňovaly nebo vytvářely významné odchylky, byly schopné dodávat spolehlivé výsledky. Zároveň, jelikož se předpokládá hromadnější nasazení daného zařízení, byla rozhodujícím faktorem i cena. Výběr daných součástí je tedy kompromisem mezi těmito dvěma parametry.

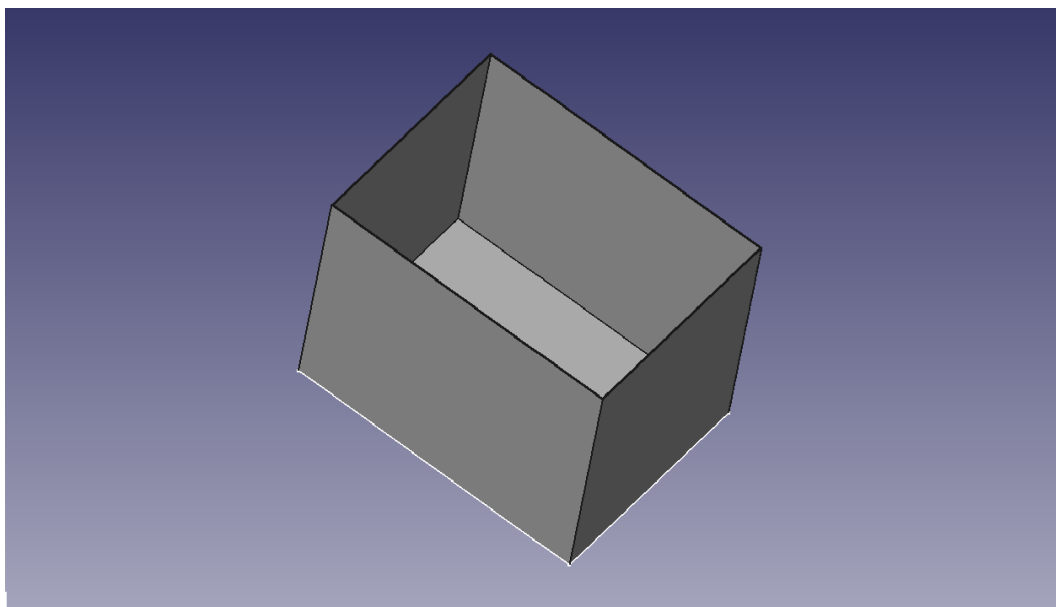


Obrázek 3.1. Zařízení pro nahrávání signálů

3.1.1 Tvorba chovné nádoby

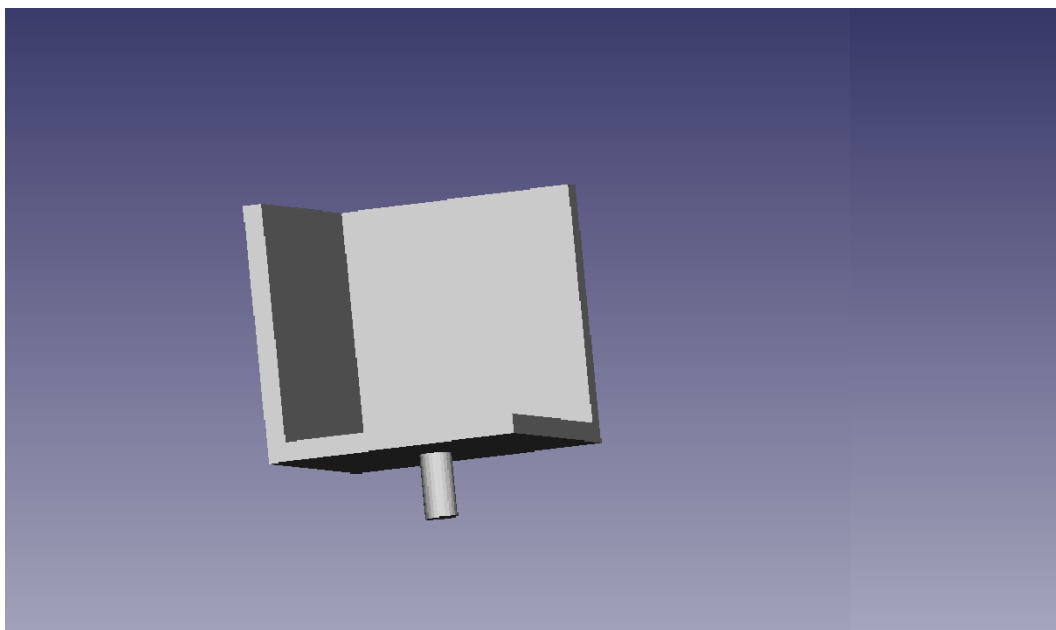
Jako první krok bylo nutné navrhnout a vyrobit chovnou nádobu, která splňuje podmínky pro chov experimentálních myší a zároveň bude vhodná pro měření a získání signálů. Návrh této nádoby proběhl v programu FreeCAD 0.21. Nádoba byla vyrobena pomocí metody 3D tisku. Jako materiál pro tuto nádobu byl zvolen polykarbonát, který

byl zvolen jako vhodný z důvodu nízké hmotnosti a mechanické odolnosti vůči poškození způsobeného myší. Nádoba má rozměry 20x15x15 centimetrů s tloušťkou 1,5 milimetru. Pouze u dna byla použita tloušťka 3 milimetry. Nízká hmotnost nádoby je podstatný parametr. Musí být zajištěno, že pohyby myši, umístěné do nádoby a vážící od 15 do 40 gramů, půjdou detekovat s dostatečnou citlivostí.



Obrázek 3.2. Návrh chovné nádoby

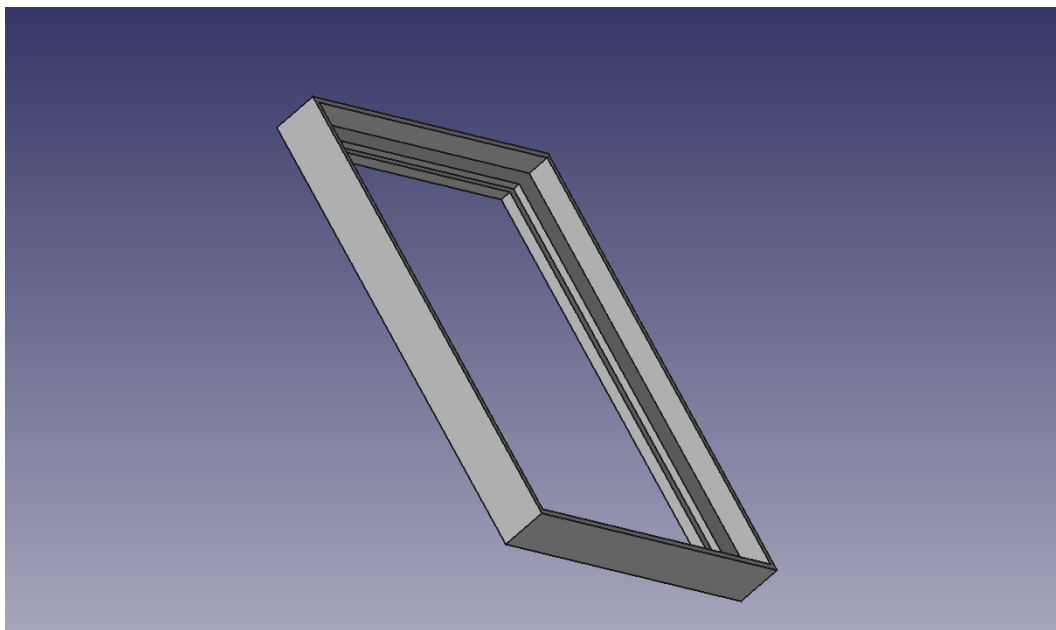
K nádobě byly dále připevněny distanční sloupky, které byly navrženy rovněž v programu FreeCAD. Tyto sloupky slouží k uzpůsobení nádoby pro umístění do piezo-měničů, které snímají vibrace nádoby způsobené myší umístěnou uvnitř. Distanční sloupky byly rovněž vyrobeny pomocí 3D tisku z PLA filamentu, jelikož zde není nutné předcházet výrazné mechanické deformaci.



Obrázek 3.3. Model distančního sloupku pro umístění do piezo-měničů

Při výběru polykarbonátu pro tisk je nutné vzít v úvahu jeho odlišné vlastnosti v porovnání s PLA filamentem. V případě polykarbonátu trvá chladnutí při tisku výrazně déle a projevuje se následnou mechanickou deformací objektu. Konkrétně tedy může dojít k deformaci stěn a znehodnocení výsledné nádoby. Jako řešení se nabízí snížení rychlosti tisku nebo rozdělení nádoby do více částí. Jelikož doba tisku by se v našem případě pohybovala v rámci jednotek dnů, byla zvolena druhá možnost. Nádoba byla vytištěna po jednotlivých plochách, které byly následně sestaveny dohromady.

K chovné nádobě byl vytisknut horní díl, aby se zamezilo uniknutí zkoumané myši z nádoby. Horní díl byl rovněž vytisknut z polykarbonátu a byl do něj zatištěno plexisklo, aby mohl být prostor nádoby vizuálně přístupný a mohl být nahráván kamerou umístěnou nad nádobou.



Obrázek 3.4. Model horního dílu nádoby

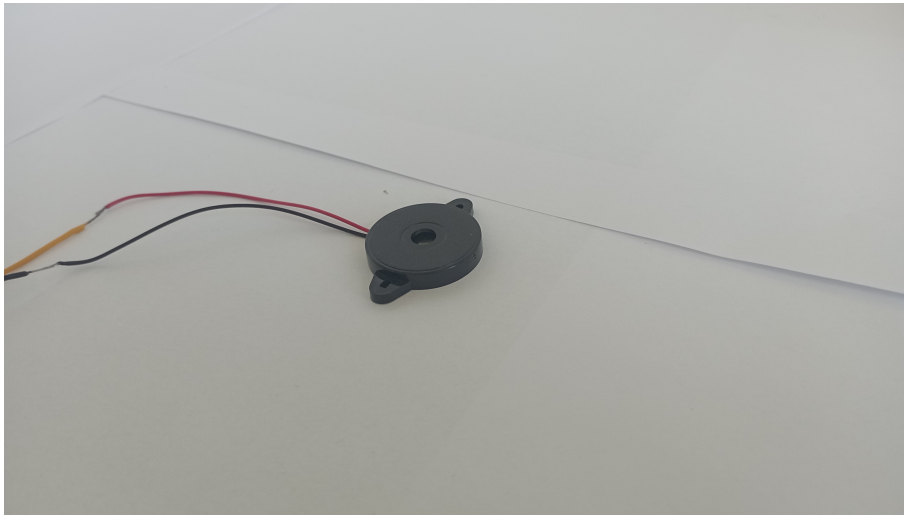
Nádoba byla upravena tak, aby bylo možné dovnitř umístit a nahrávat myš po dobu dvaceti čtyř hodin a déle.

Pro zajištění stálého časového režimu myši jsou k zařízení přidány LED. Při nedostatku venkovního světla je prostor nádoby osvětlen bílou LED řízenou Arduino hodinovým modulem. A zároveň je prostředí nepřetržitě osvětlováno dvěma červenými LED pro zajištění dostatečné viditelnosti pro vizuální kontrolu v nočních hodinách. Pro výběr červených LED jsme vycházeli z předpokladu, že červená barva se nenachází ve viditelném spektru myši, a neměla by tedy myš žádným způsobem ovlivnit.

■ 3.1.2 Senzory vibrací

Jako senzory pro snímání vibrací byly vybrány měniče využívající piezoelektrického jevu. Při tomto jevu dochází při deformaci krystalu ke vzniku elektrické polarizace a lze poté mezi určitými částmi krystalu změřit rozdíl potenciálů. Důležité parametry pro správný výběr piezo-měničů byly v tomto případě zejména: kapacita senzoru, jmenovité napětí a frekvenční rozsah. Na základě těchto parametrů byl pro tento účel vybrán piezo-měnič PT2728-WQ od firmy HITPOINT.

Podle údajů, které udává výrobce [19], by tento typ piezo-měníčů měl vyhovovat ve všech parametrech. K potlačení parazitní kapacity senzorů, byly paralelně na svorky piezo-měníče dodatečně připojeny rezistory o velikosti 20 kilohmů. Potlačení parazitní kapacity senzorů se projevuje snížením vlivu stejnosměrné složky a vybíjením reziduálního náboje. Je to tedy zkrácení doby návratu k reziduálnímu napětí. Reziduální napětí lze naměřit na svorkách piezo-měníče, pokud zrovna nedochází k mechanickému namáhání senzoru a lze ho tedy označit za „nulové napětí“.



Obrázek 3.5. Piezo-měníč PT2728-WQ

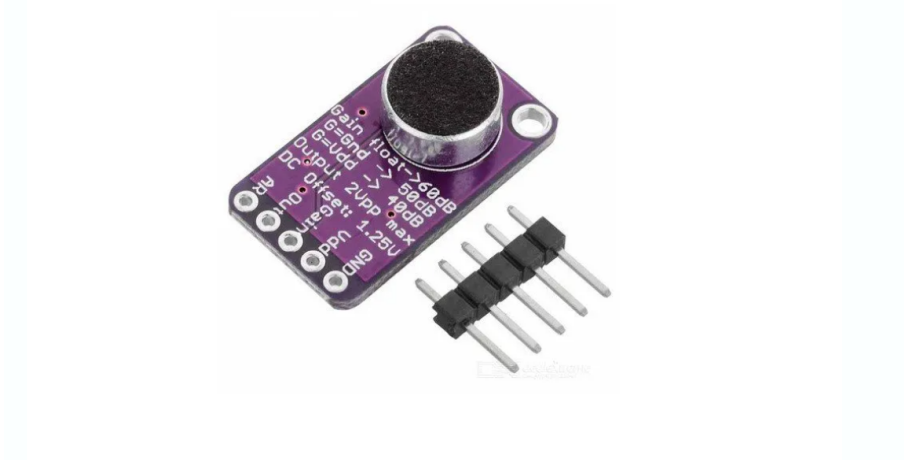
Vibrace do těchto senzorů jsou přenášeny, přes distanční sloupky umístěné do rohu chovné nádoby. Distanční sloupky byly popsány v kapitole zabývající se tvorbou chovné nádoby (3.1.1). Distanční sloupky byly přímo navrženy pro tento typ piezo-měníčů.

■ 3.1.3 Snímání zvuku

Jako další zdroj signálu byl zvolen mikrofon. Vycházíme z předpokladu, že během tonicko-klonického záchvatu by myš mohla vokalizovat a zároveň lze zaznamenat interakce myši s nádobou.

Pro tento účel byl vybrán modul MAX9814 CMA-4544PF-W, který v jednom čipu obsahuje mikrofon CMA-4544PF-W a zesilovač MAX9814. Podle údajů udávaných výrobcem [20] [21] mají obě zařízení frekvenční rozsah 20-20 000 hertzů. Přestože vokalizace myši se pohybuje na vysokých kmitočtech, konkrétně od 30 kilohertzů do 100 kilohertzů, vokalizace myši při bolesti a stresu nedosahuje kmitočtu vyššího než 5 kilohertzů. Proto je maximální kmitočet mikrofону dostačující pro účely této práce. Modul dále disponuje automatickou regulací zesílení a THD (celkovým harmonickým zkreslením) pouze 0,04%.

Tento modul má analogový výstup, a získaný signál tedy odpovídá nahranému zvukovému záznamu. Zesilovač rovněž umožňuje nastavit tři úrovně zesílení. Hodnota zesílení se nastaví podle hodnoty, kterou zapojíme na výstup „Gain“. Modul k naměřenému signálu ještě přidává offset 1,25 voltů. Ten je později odstraněn při následném zpracování signálu.



Obrázek 3.6. Modul s mikrofonem a zesilovačem. Převzato z [22].

■ 3.1.4 Nahrávání video záznamu

Pro rozpoznání zdroje a typu signálu bylo do měření začleněno nahrávání prostředí chovné nádoby pomocí kamery. Obraz je nahráván zejména kvůli přiřazení konkrétního typu signálu k činnosti myši. Rovněž když aplikace na vyhodnocení signálu dojde k výsledku, že v daném časovém úseku pravděpodobně došlo k tonicko-klonickému záchvatu, uživatel může podle záznamu určit, zda detekce proběhla správně. Jelikož tématem této práce není detekce záchvatů pomocí kamerového záznamu, bude jediný účel nahrávání pouze kontrola pro uživatele a optimalizace detektoru v rámci této diplomové práce.

Nahrávání kamerového záznamu je realizováno pomocí kamery Ausdom AW635. Tato webkamera umožňuje Full HD záznam, má 60° zorné pole a umožňuje manuální nastavení vzdálenosti, na kterou má kamera zaostřit. Manuální nastavení ohniskové vzdálenosti kamery je zásadní kvůli ostrosti obrazu. V případě automatického ostření je možnost, že zejména v nočních hodinách by kamera mohla měnit svou ohniskovou vzdálenost a pomocí obrazu by nebylo možné provádět kontrolu. Činnost myši by poté nešla dobře rozpoznat a kvalita záznamu by se mohla lišit podle denní doby.

Ačkoliv tento model umožňuje nahrávání ve Full HD (1920x1080 pixelů), kvůli paměťové náročnosti bylo zvoleno rozlišení 640x480 pixelů. Toto nastavení se ukázalo jako dostačující pro potřeby našeho použití. Na záznamu s tímto rozlišením je dobře patrná činnost myši, a to i v nočních hodinách. Obraz je pořizován skrze víko, do kterého byla zatištěna destička z plexiskla.



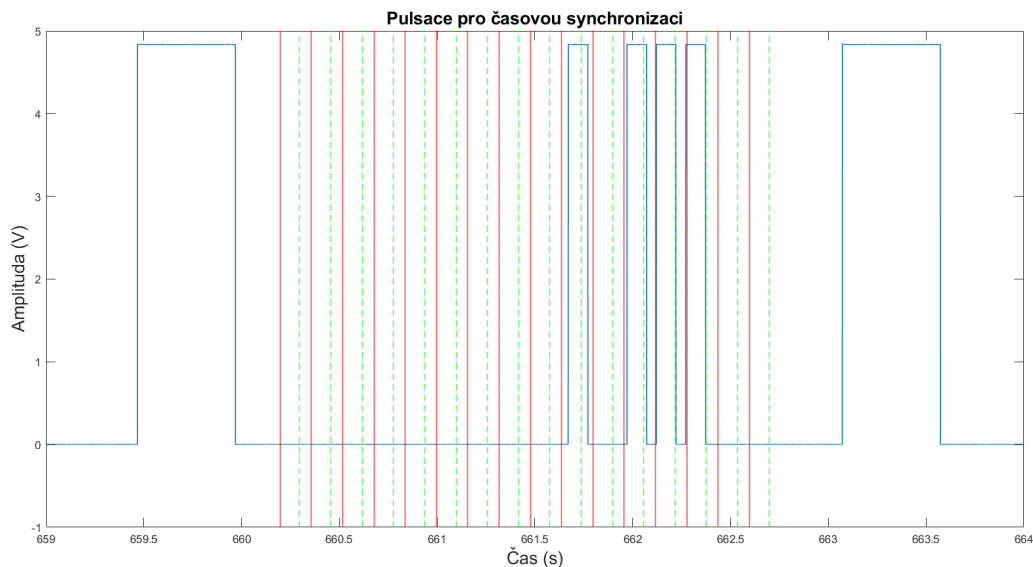
Obrázek 3.7. Webkamera Ausdom AW635. Převzato z [23]

■ 3.1.5 Časová synchronizace záznamů

Časová synchronizace záznamů je důležitá v projektech, kde dochází k nahrávání signálů pomocí, mezi sebou, nekomunikujících zařízení. V případě této práce jsou to obrazový a elektromechanický záznam vibrací z piezo-měničů a mikrofonu. Synchronizace záznamů je v tomto případě realizována externě pomocí vývojové desky Arduino a časového modulu DS3231.

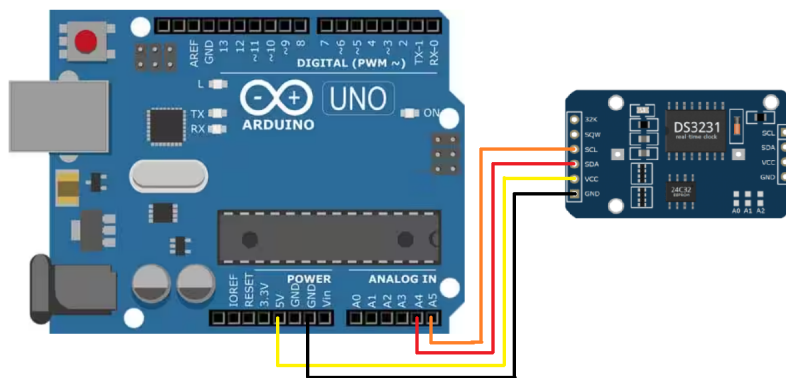
Tento modul se prezentuje skvělou přesností a jednoduchým ovládním pomocí desky Arduino, se kterou komunikuje pomocí I2C sériové sběrnice. Modul obsahuje rovněž paměťový čip AT24C32 o kapacitě 32 kilobajtů. Čas je generován pomocí integrovaného teplotně kompenzovaného krystalového oscilátoru s přesností 2 ppm (parts per millions, odchylka v počtu tiknutí na jeden milion tiků).

Na obrázku 3.8 můžeme vidět časový průběh pulzací sloužících k časové synchronizaci signálů. Červené čáry značí začátky jednotlivých bitů, zelené čáry pak jejich konce. Je možné si všimnout určité nepřesnosti, která je pravděpodobně způsobena časovým zpožděním desky Arduino.



Obrázek 3.8. Naznačení průběhů pulsačí pro časovou synchronizaci

Časová synchronizace probíhá na konci každého úseku, v tomto případě dlouhého deset minut. Každých celých deset minut zabliká LED dioda umístěna na víko nádoby, která je zároveň v záběru kamery. Počet bliknutí se odvíjí od toho, kolik celých úseků uplynulo od začátku měření. Počet úseků je převeden do binární soustavy o osmi bitech a počet a čas bliknutí LED závisí na počtu a pozici „1“ v binárním čísle, která zde znamená „HIGH“ hodnotu. Binární blikání je ohraničeno dvěma delšími „HIGH“ hodnotami (bliknutími LED), aby byl jasně patrný úsek kódující časový údaj. Stejný signál poté mří do USB-6001, zařízení zaznamenávajícího signál z piezo-měničů a tak dochází k časové synchronizaci všech signálů.



Obrázek 3.9. Zapojení časového modulu DS3231 a vývojové desky Arduino

Jelikož časový modul měří reálný čas, byl použit i pro dodržování denního režimu. Podle času z modulu se rozsvěcí LED osvětlující prostor nádoby.

3.2 Zaznamenávání signálů

Z předchozích sekcí je patrné, že senzorů a ostatních zdrojů signálů bude poměrně hodně. Proto bylo nutné zvolit vhodná zařízení pro snímání a prvotní zpracování dat.

Pro toto byla zvolena multifunkční I/O zařízení USB-6001 a USB-6003 od firmy National Instruments.

■ 3.2.1 Signál ze senzorů vibrací

Tato DAQ zařízení (Data acquisition) umožňují zaznamenávat analogové signály z několika vstupů najednou. Podle údajů od výrobce, USB-6001 disponuje osmi analogovými vstupy s rozlišením 14 bitů a vzorkovací frekvencí 20 000 vzorků za sekundu. [24] Tento počet vzorků za sekundu ovšem platí pro všechny používané kanály dohromady. Z tohoto důvodu bylo zařízení USB-6001 zvoleno pro zaznamenávání signálů z piezoměničů a zároveň signálu kódujícího pulzace pro časovou synchronizaci. Do tohoto zařízení byly tedy zapojeny všechny čtyři piezoměniče pro měření vibrací a výstup z časového modulu a snímkovací frekvence byla zvolena maximální možná, tedy 4000 vzorků za sekundu.



Obrázek 3.10. DAQ zařízení NI USB-6001

■ 3.2.2 Signál z mikrofónů a časových pulzů

Zařízení USB-6003 je novější typ s lepšími parametry. Podle údajů, které uvádí výrobce, disponuje zařízení 8 analogovými vstupy s přesností 16 bitů a možným vzorkováním až 100 000 vzorků za sekundu pro všechny kanály dohromady.[25] Zejména z důvodu vyšší možné vzorkovací frekvence bylo toto zařízení zvoleno pro nahrávání zvuku. Původně byl do tohoto zařízení zapojen rovněž výstup z časového modulu, ovšem snímání pulzů s frekvencí 30 000 vzorků za sekundu, které bylo zvoleno pro mikrofón, se ukázalo zbytečně vysoké a pro paměť náročné. Jako výchozí zesílení signálu bylo experimentálně zvoleno 40 decibelů. Toto zesílení se ukázalo jako nejvhodnější pro naše použití, protože zvuky, které jsme chtěli zaznamenat, byly dostatečně hlasité a nebylo nutné je dodatečně zesilovat. Zároveň se toto zesílení ukázalo jako nejlepší v odstupu signál-šum.

Ačkoliv maximální možná frekvence by mohla být 50 000 vzorků za sekundu, tato frekvence se ukázala jako zbytečně vysoká. Zaprvé předpokládáme, že zvuky, které nás budou zajímat, tedy pískot nebo interakce myši s chovnou nádobou, budou o nižším kmitočtu než 15 000 hertzů. Snímkovací frekvence 30 000 vzorků za sekundu by tedy měla splňovat Nyquistův vzorkovací teorém. Druhý důvod snížení vzorkovací frekvence byly paměťové nároky.



Obrázek 3.11. DAQ zařízení NI USB-6003

Pro ovládání a konfiguraci obou zařízení slouží přidružená aplikace DAQ max od výrobce, firmy National Instruments. Zpracování dat získaných těmito zařízeními rovněž umožňuje: „Data Acquisition toolbox“ v programu Matlab. Pro zaznamenávání, zpracování a zároveň analýzu dat byl zvolen Matlab.

3.3 Zpracování signálů

Pro konfiguraci zařízení, ukládání a prvotní zpracování dat byl zvolen program Matlab. Matlab byl také zvolen i pro zaznamenávání obrazového záznamu pomocí „Image Acquisition toolboxu“.

Délka nahrávaných úseků byla zvolena třicet minut, což se ukázalo jako ideální kompromis mezi dostatečnou délkou záznamu a následnou velikostí souborů a dobou ukládání. Pro lepší časovou přehlednost bylo u všech záznamů vloženo do názvu přesné datum a čas zahájení nahrávání daného úseku.

3.3.1 Obrazový záznam

V případě ukládání, bylo opět nutné řešit synchronizaci začátků nahrávání daných úseků. Toolbox pro nahrávání obrazového záznamu umožňuje přímo ukládat záznam na pevné úložiště, a nenahrává tedy záznam do RAM paměti počítače. K uložení záznamu z kamery tedy dojde prakticky okamžitě po dosažení času k ukončení nahrávání.



Obrázek 3.12. Ukázka obrazu nahrávky během denní doby

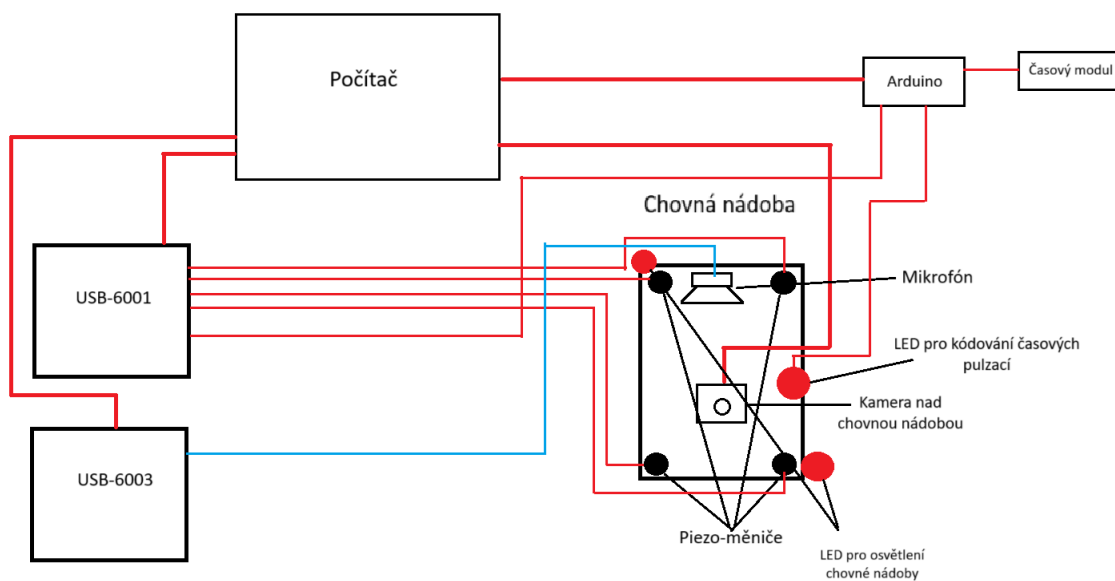
U obrazového záznamu se objevil problém s nastavením snímkovací frekvence. Snímkovací frekvence nelze pevně nastavit a během nahrávání výrazně kolísá v závislosti na okolním osvětlení. Není jasné, zda je problém v toolboxu ovládajícím kameru, či v kameře samotné. Délka výsledného obrazového záznamu se tedy většinou liší vzhledem k záznamu z mikrofonu a piezo-měničů a závisí zejména na denní době, kdy byl záznam pořízen. Pro zmírnění tohoto problému se snímkovací frekvence uloženého záznamu mění podle denní doby. A pro úplnou synchronizaci je zde ještě kódování doby záznamu pomocí blikání LED a posíláním pulzů ve stejný čas do zařízení USB-6001.



Obrázek 3.13. Ukázka obrazu nahrávky během noční doby

3.3.2 Signálový záznam

U Data Acquisition toolboxu, který je použit v Matlabu pro komunikaci s DAQ zařízeními, ovšem možnost přímého zápisu na disk chybí. Při ukládání záznamů signálů z piezo-měničů a především z mikrofonu, docházelo k výraznému časovému zpoždění. Během nahrávání dvacetičtyřhodinového záznamu bylo již zpoždění v řádu hodin i při zvolení nejrychlejšího způsobu ukládání. I za cenu ztráty určité informace bylo zvoleno, že nový úsek záznamu započne až po uložení všech nahrávek z předchozího úseku. Po každém nahrávacím úseku tedy sice dojde k prodlevě v řádu desítek sekund, kdy nelze nahrávat a probíhá ukládání, ale není zde téměř žádný rozdíl mezi časy, kdy došlo k začátku nahrávání daného úseku.



Obrázek 3.14. Schéma celého zapojení zařízení

Kapitola 4

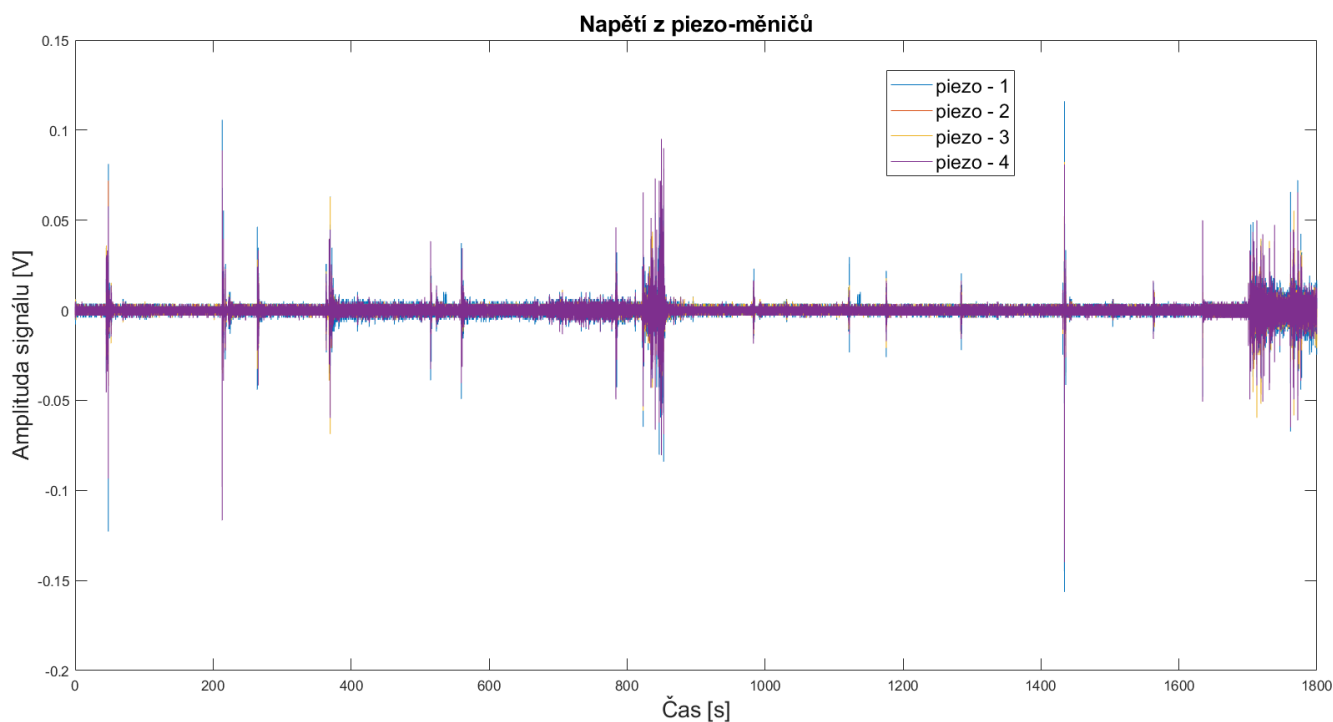
Zpracování dat a tvorba aplikace pro detekci záchvatů

Tato kapitola se bude zabývat zpracováním dat a následným aplikováním výsledků pro tvorbu aplikace, která by dokázala detekovat tonicko-klonické záchvaty.

Data byla získána umístěním jedné nebo více myší do nádoby po dobu dvaceti čtyř hodin, aby bylo zaznamenáno běžné spontánní chování myší. Simulování spontánního záchvatu byl do myší vpraven pentylentetrazol, který pokusným myším způsobí záchvat o stejném průběhu, jako jsou záchvaty spontánní.

4.1 Předzpracování získaných signálů

V této části se blíže zaměříme na předzpracování signálů získaných z piezo-měníčů a mikrofonu. Jak bylo uvedeno v kapitole o získání signálů 3.3.1, signály byly zaznamenány z DAQ zařízení pomocí „Data Acquisition toolbox“. Tento toolbox poskytuje aplikace a funkce pro konfiguraci hardwaru při sběru dat, načítání dat do prostředí MATLAB a Simulink a zároveň zápis dat do analogových a digitálních výstupních kanálů DAQ zařízení.



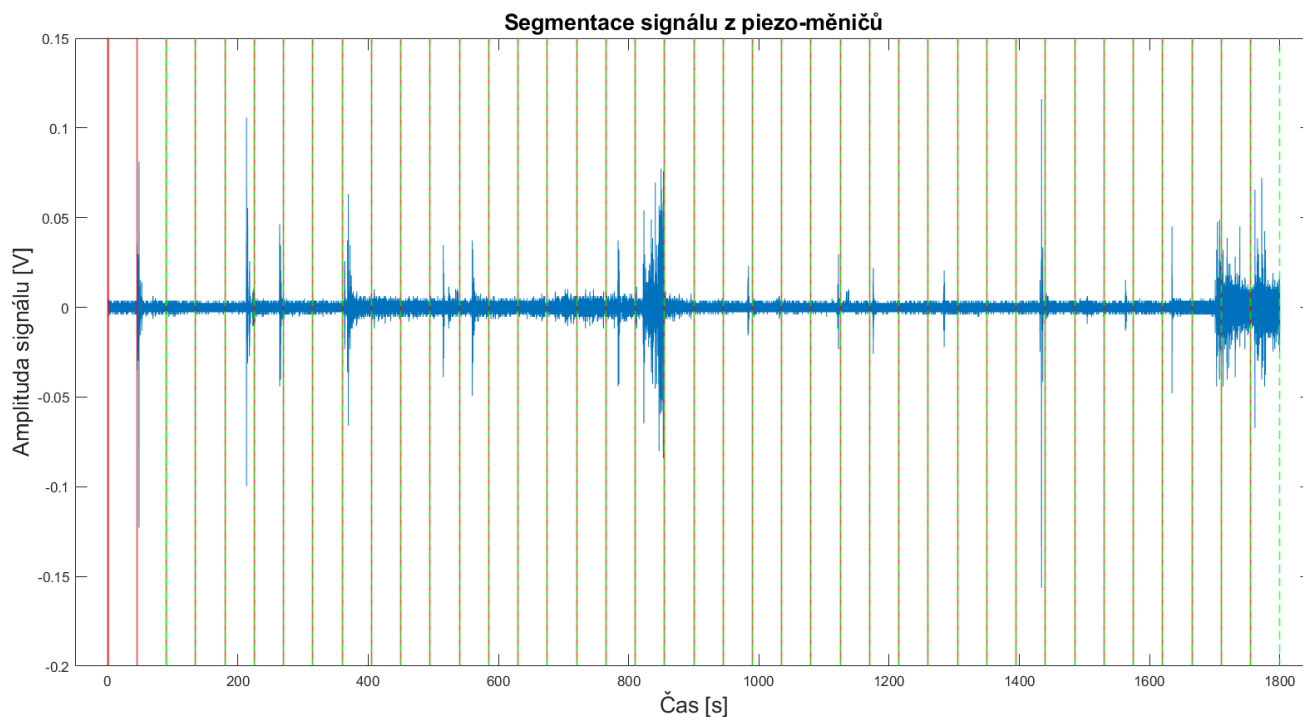
Obrázek 4.1. Signál z piezo-měníčů

Data, která jsme získali z měření, byla načtena ve formátu „timetable“. Tento formát obsahuje jednotlivé kanály a zároveň časový vektor, tedy časový údaj pro každý

jednotlivý snímek. Od signálů získaných z piezo-měničů bylo ještě potřeba odstranit stejnosměrnou složku pomocí odečtení průměrné hodnoty signálu. Dále nebylo nutné nijak upravovat signály z piezo-měničů ani signál z pulzací.

Signál získaný z mikrofonu je rovněž ve formátu „timetable“. U signálu získaného z mikrofonu bylo nutné odečíst offset 1,25 voltů, který uvádí výrobce.

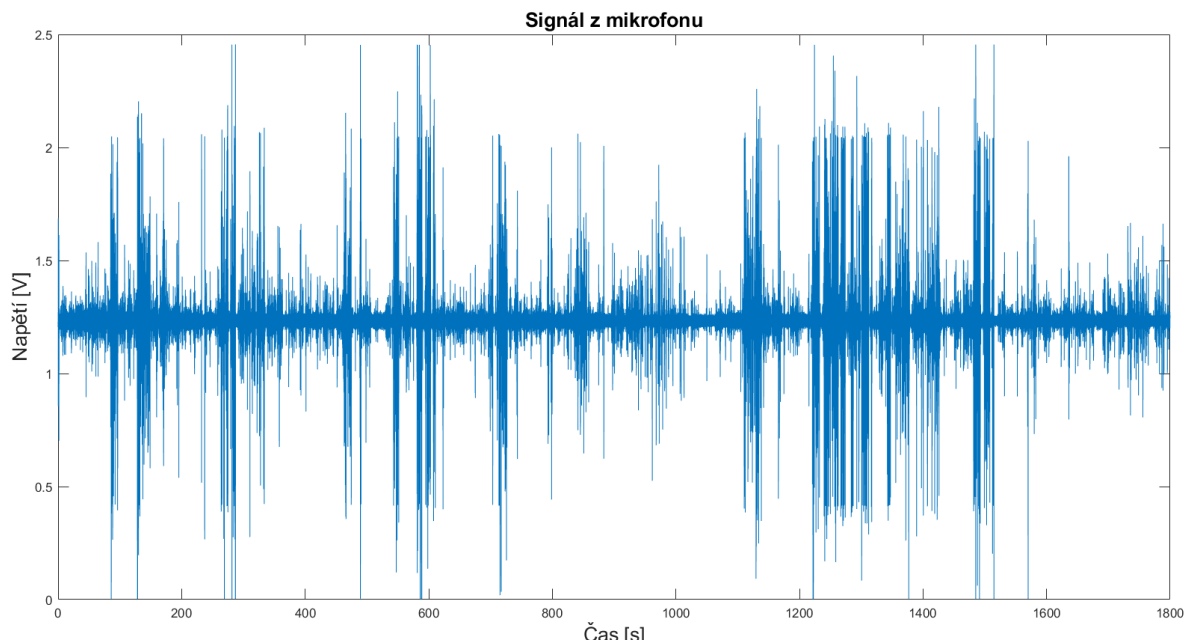
Jako další krok pro předzpracování signálu bylo rozdělení signálů do jednotlivých snímků (framing, segmentování). Zde byla použita uživatelská funkce: „Framing“. Délka okna byla zvolena 90 vteřin s padesátiprocentním, tedy 45 vteřinovým, překryvem. Detekce záchvatů bude probíhat pouze v těchto oknech, segmentech. Důvodem segmentování signálu je menší výpočetní náročnost a lepší vzhled do dat. Zároveň když aplikace vyhodnotí, že došlo k záchvatu, výstupem bude začátek a konec segmentu.



Obrázek 4.2. Naznačení segmentace signálu

Jako poslední úprava byla filtrace signálu z mikrofonu. Zpracováním tohoto signálu bylo zjištěno, že nezávisle na interakci myši v chovné nádobě byla frekvence s největší energií zhruba 120 hertzů. Bylo proto nutné signál odfiltrovat horní propustí s mezním kmitočtem 125 hertzů. Postup filtrace je blíže popsán v části zabývající se zpracováním signálu z mikrofonu. 4.2.5

Signál mikrofonu před zpracováním je možné vidět na obrázku 4.3. Signál po předzpracování je možné vidět na obrázku 4.12.



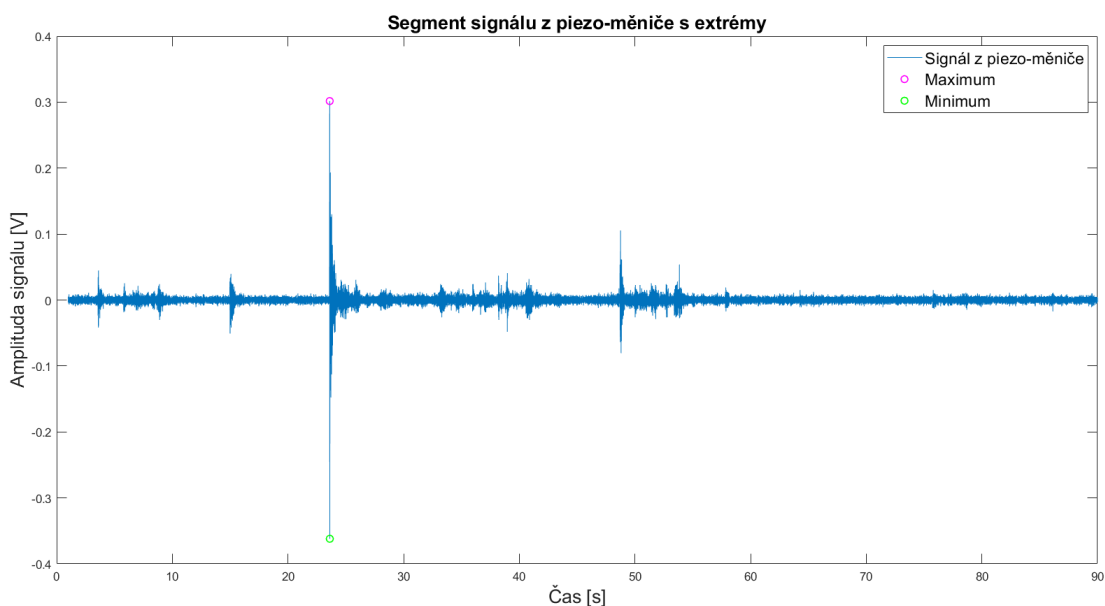
Obrázek 4.3. Zvukový signál z mikrofonu před předzpracování

4.2 Parametry pro určení záchvatu

4.2.1 Amplituda signálu z piezo-měníčů

Jako první parametr se nabízí velikost amplitudy ze signálu z piezo-měníčů. Nalezení a vyhodnocení maxima a minima v daném segmentu signálu se ukázalo jako nejjednodušší a zároveň jeden z nejužitečnějších parametrů pro detekci záchvatů. Pro zvýraznění větších odchylek byl přidán ještě parametr rozdíl maxima a minima.

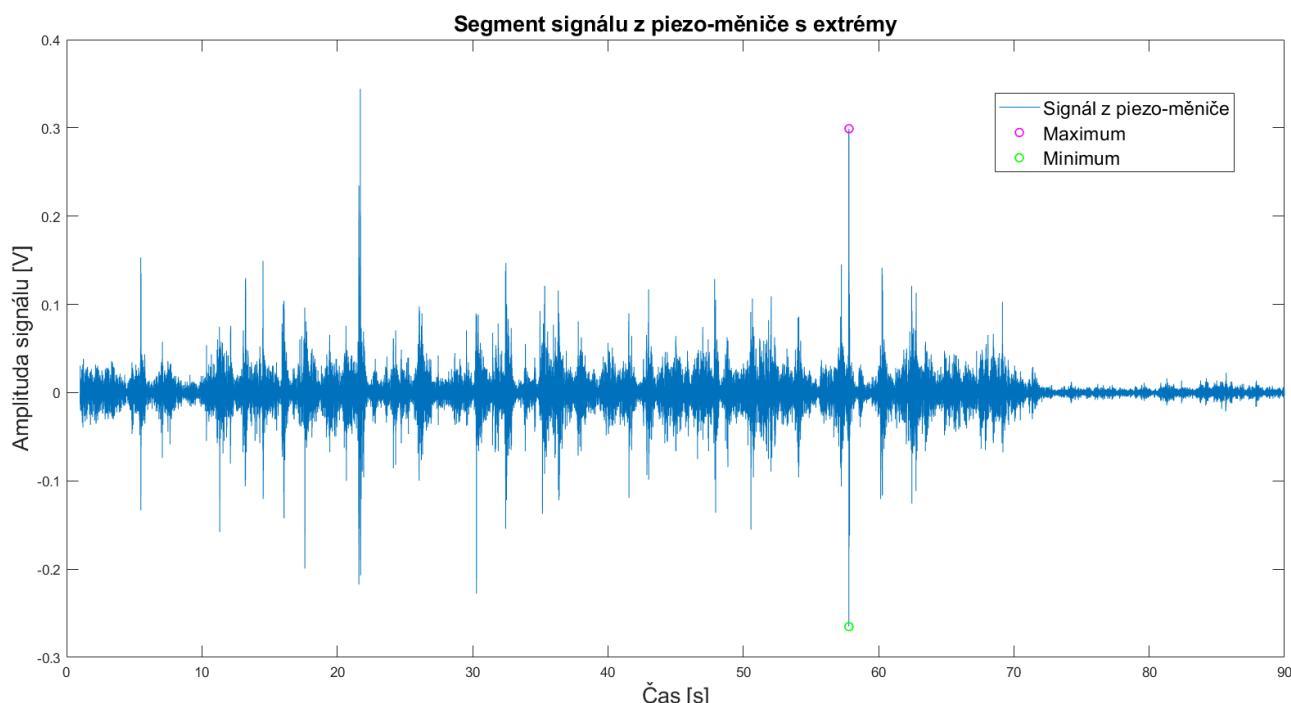
V programu Matlab k tomu slouží příkazy „max“ a „min“, kde jako vstupní parametr je náš signál a výstupem je hodnota maxima a index, kde v signálu se extrém nachází.



Obrázek 4.4. Ukázka nalezení maxima a minima v segmentu signálu

V naměřených trénovacích datech se vzácně objevuje významný nárůst amplitudy, ale bez následné výchylky v opačném směru. Počítání s parametrem rozdílu maxima a minima v daném úseku potlačuje vliv těchto náhodných výchylek nad běžný limit. Všechny tyto parametry jsou samozřejmě spočteny pro signály ze všech čtyř piezo-měničů nezávisle na sobě.

Jak již bylo zmíněno, je zde možnost, že dojde k případu, kdy v daném segmentu bude maximum a minimum na sobě nezávislé, tedy že se obě hodnoty budou nacházet na různých místech segmentu. Pro zamezení tohoto případu je vždy nalezeno minimum a maximum, poté se vezme úsek signálu dlouhý vteřinu před a vteřinu po minimum, respektive maximum, a v tomto úseku je nalezen opačný extrém k minimum, respektive maximum. Větší z rozdílů extrémů v těchto dvou úsecích je poté použit jako parametr rozdílu extrémů pro daný segment. Pokud je extrém blíže ke konci, respektive začátku segmentu, než jedna vteřina, je délka úseku omezena koncem, respektive začátkem daného segmentu.



Obrázek 4.5. Ukázka nalezení maxima a minima v segmentu signálu podle omezení maximálního rozdílu

Omezení nalezení extrémů je nejlépe patrné z obrázku 4.5. Zde, ačkoliv se nabízí výběr maxima přibližně ve třetině segmentu, bylo vybráno jiné maximum na základě podmínky o maximální výchylce.

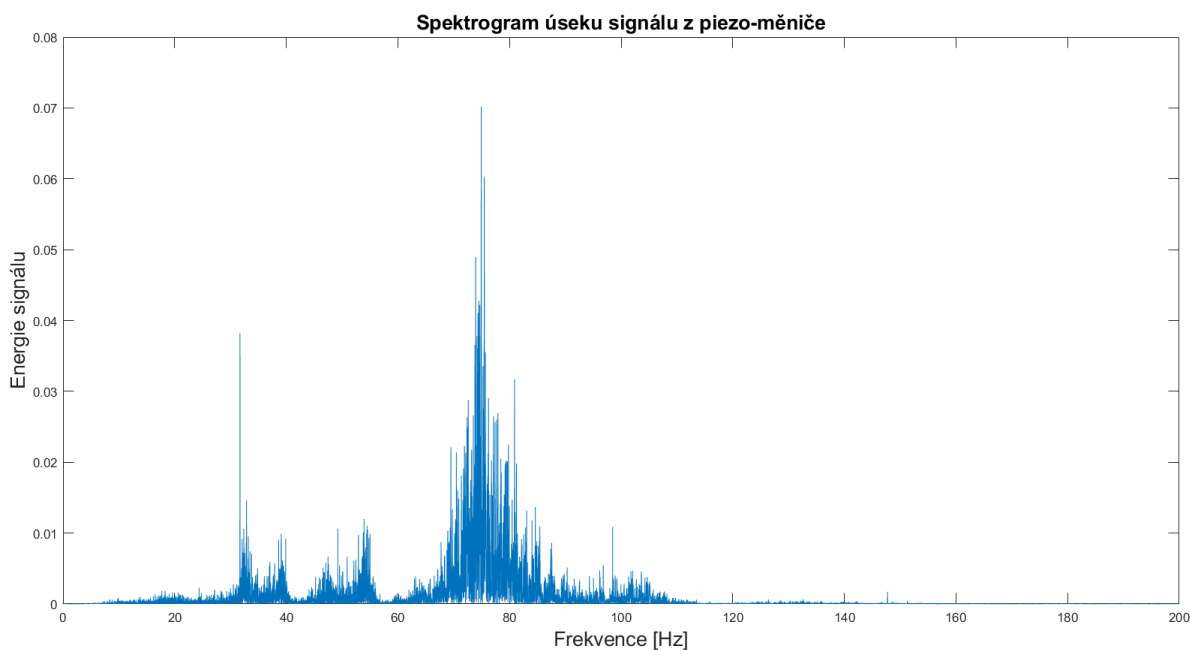
Při běžném spontánním chování se signál pohybuje nejvýše v rozmezí ± 300 milivoltů. Signál pohybující se nad touto úroveň již může naznačovat přítomnost abnormálního chování myši. Naměření signálu nad tuto hladinu ovšem v žádném případě nutně neznamená přítomnost záchvatu v daném segmentu. Přesto, pokud se objeví signál přesahující tuto úroveň, daný segment dostane bod na stupnici pro pravděpodobnost záchvatu. Pro zvýraznění vyšších výchylek, konkrétně nad 500 milivoltů, jsou i po překročení této hodnoty segmentu uděleny další 2 body. Obdobné to je i v případě rozdílu minima a maxima signálu, kde spodní prahová hodnota je 500 milivoltů a horní prahová hodnota 900 milivoltů. Maximálně může segment za tento parametr dostat 12 bodů.

4.2.2 Dominantní frekvence v segmentu

Jako další parametr pro detekci tonicko-klonických záchvatů byla zvolena frekvence s největší energií v daném segmentu. Tu zjistíme pomocí rychlé Fourierovy transformace. Rychlá Fourierova transformace vychází z definice diskrétní Fourierovy transformace, která je definována jako:

$$X_k = \sum_{n=0}^{N-1} x_n e^{-\frac{2\pi i}{N}nk} \quad k = 0, \dots, N-1 \quad (1)$$

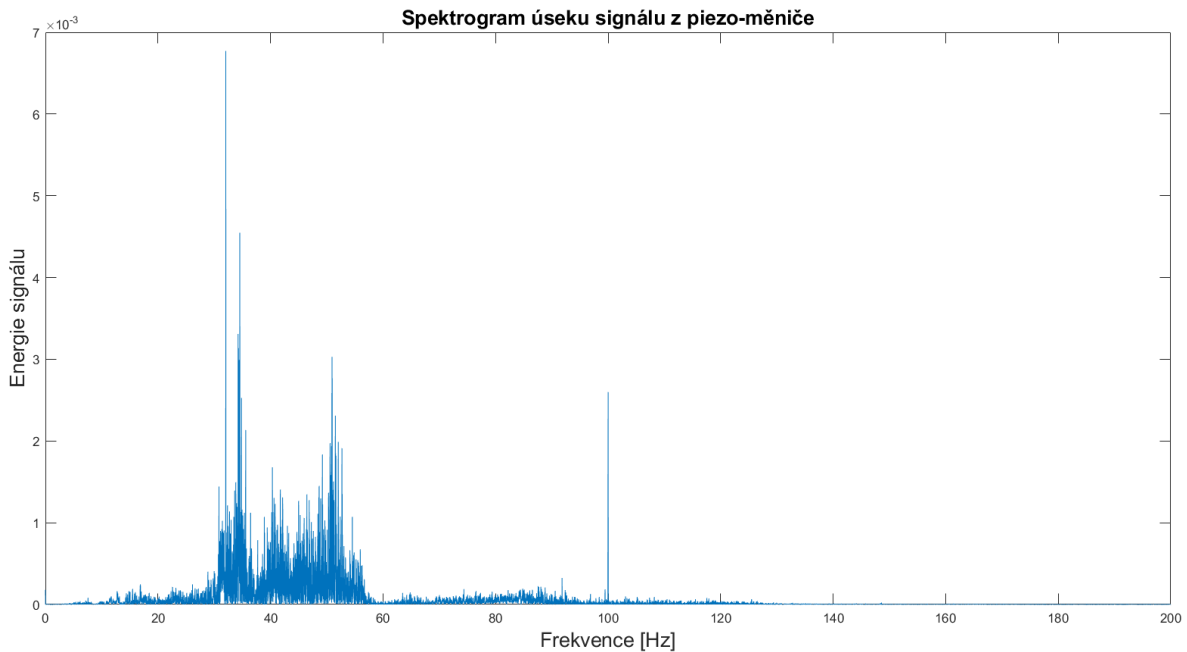
kde $e^{-\frac{2\pi i}{N}n}$ je primitivní n -tá odmocnina z 1, tedy takové komplexní číslo, které umocněné na „ n “ dává jedničku. A x_0, \dots, x_{N-1} jsou komplexní čísla, respektive vzorky našeho signálu. A N je délka vektoru x . MATLAB poté pomocí Cooley-Tukey algoritmu výrazně urychlí výpočet diskrétní Fourierovy transformace.



Obrázek 4.6. Spektrum signálu z běžného segmentu

V programu Matlab k tomu použijeme příkaz „fft“, jenž spočte rychlou Fourierovu transformaci signálu, který zadáme jako vstupní parametr a výstupem je spektrum signálu. Pro přehlednost je lepší absolutní spektrum. Z výstupu tedy vezmeme absolutní hodnotu a umocníme na druhou, čímž získáme energii. Nakonec ještě podělíme délkou signálu, abychom spektrum normalizovali. Normalizací zajistíme, že energie ve spektru nebude závislá na délce signálu, segmentu.

Experimentálním pozorováním bylo zjištěno, že v případě tonicko-klonického záchvatu se frekvence s maximální energií pohybuje v rozmezí 30 až 45 hertzů. V případě běžného spontánního chování bývá zpravidla vyšší.



Obrázek 4.7. Spektrum signálu ze záchvatového segmentu

U tohoto parametru je nutné zmínit, že jeho přesnost určitě nedosahuje přesnosti vyhodnocování amplitudy signálu. Tedy, že i v případě spontánního chování je rovněž v určitých případech frekvence s maximální energií v rozmezí 30 až 45 hertzů a zároveň v případě záchvatu může být frekvence vyšší. Stále to ovšem zůstává jedním z signifikantních parametrů.

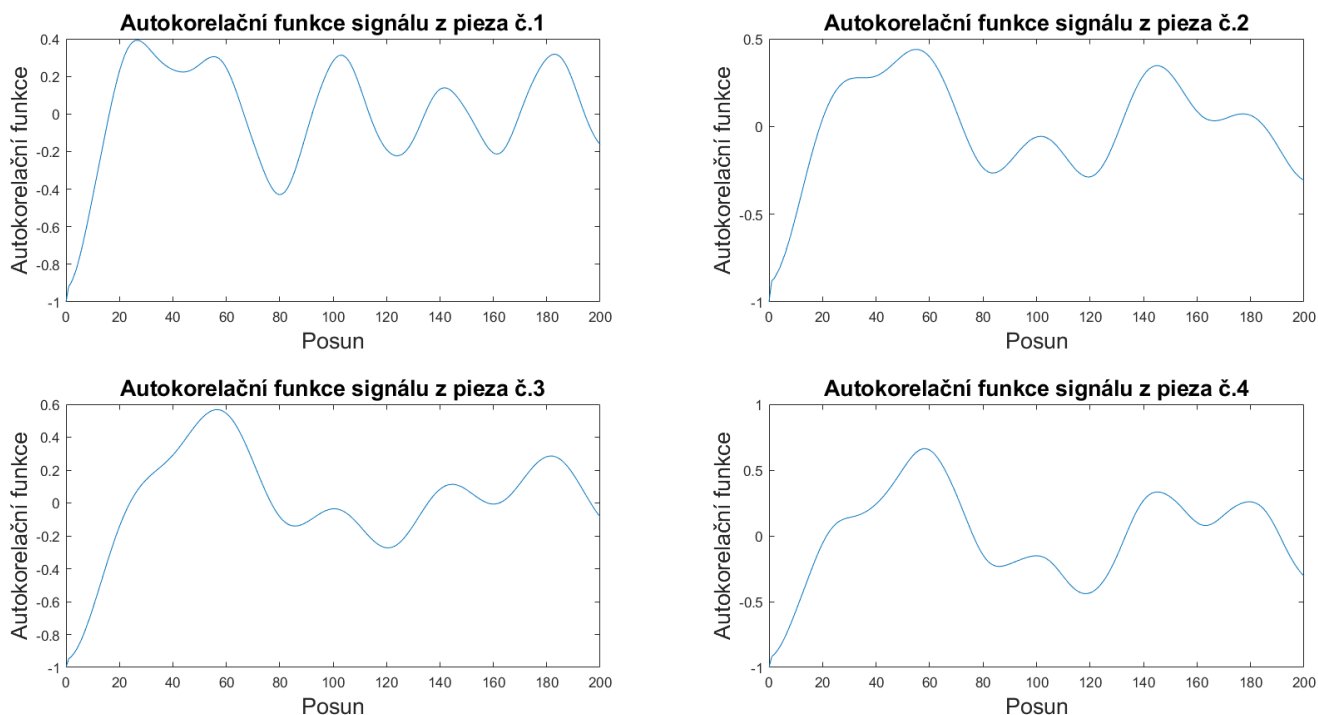
Bodování u tohoto parametru je děláno odlišným způsobem. Pokud alespoň ve třech signálech z piezo-měničů je dominantní frekvence v rozmezí 30 až 45 hertzů, jsou segmentu uděleny 2 body.

4.2.3 Prominence vrcholů u autokorelační funkce

Dalším parametrem, který byl zvolen, je prominence vrcholů u autokorelační funkce. Autokorelační funkce je funkce, která slouží k analýze signálu, u nichž je podstatné porozumění, nebo nalezení určitých vzorů v čase. Autokorelační funkci spočítáme podle vzorce:

$$R(k) = \frac{\sum_{t=1}^{n-k} (X(t) - \bar{X})(X(t+k) - \bar{X})}{\sum_{t=1}^n (X(t) - \bar{X})^2} \quad (2)$$

kde k je určitý časový interval, $R(k)$ je autokorelační funkce pro posun k , $X(t)$ je vzorek našeho signálu v čase t , \bar{X} je průměrná hodnota z celého segmentu signálu a n je délka segmentu. Jak tedy vyplývá z rovnice pro autokorelační funkci (2), výpočet spočívá ve výpočtu kovariance signálu a signálu stejného, ale posunutého o úsek k . Poté se ještě kovariance normalizuje. Obecně lze říci, že autokorelační funkci stačí spočítat pouze pro poloviční délku signálu. Funkce pro druhou půlku signálu bude totožná, pouze bude zrcadlově otočená podle osy Y . V tomto použití se výpočtu prominence vrcholů použila pouze první půlka autokorelační funkce.



Obrázek 4.8. Průběhy autokorelačních funkcí když je v segmentu není záchvat

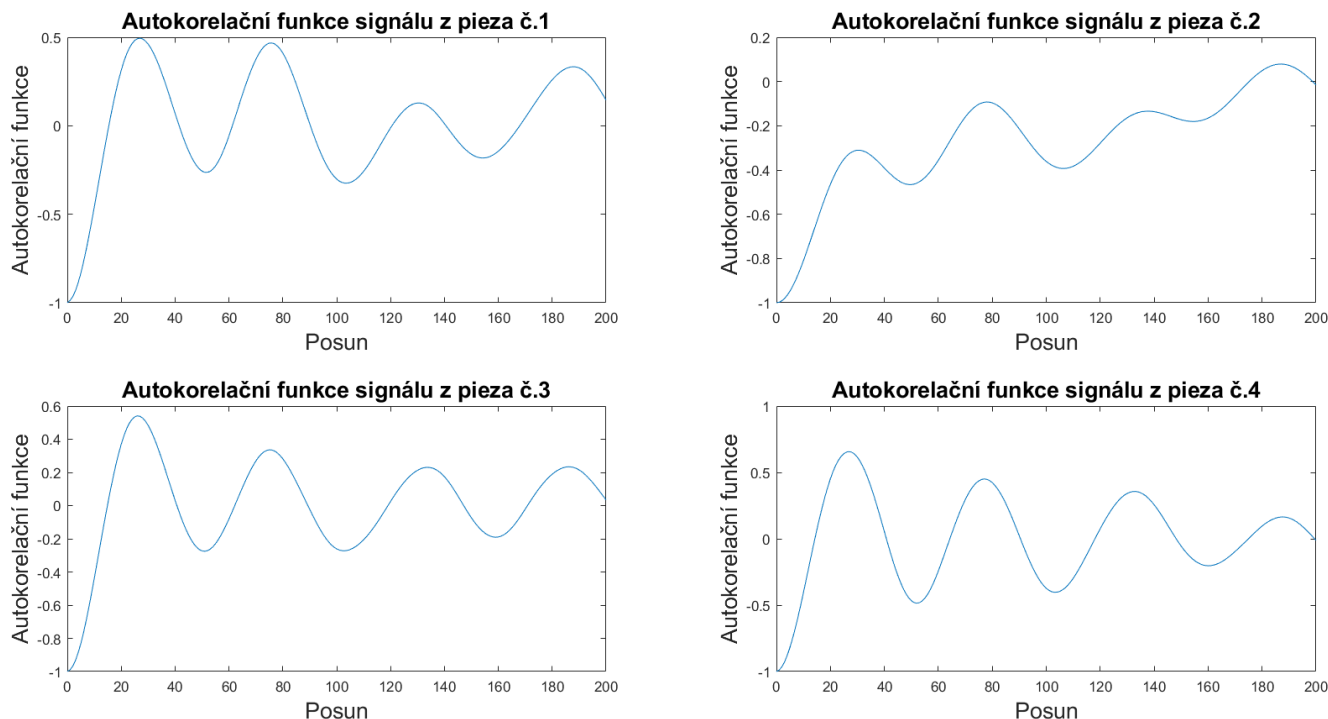
V programu Matlab se spočte autokorelační funkce pomocí příkazu „autocorr“ a jako vstupní parametry jsou zadány: vstupní signál a počet úseků (lags), o který chceme signál posunout. V našem případě jsme použili 200 úseků. Tento parametr se experimentálním pozorováním ukázal jako ideální kompromis mezi kvalitou výsledku a výpočetní náročností.

V tomto případě bude využití autokorelační funkce probíhat odlišným způsobem. Experimentálním pozorováním bylo zjištěno, že pokud se v segmentu nachází záchvat, absolutní rozdíl funkčních hodnot prvních dvou minim autokorelační funkce se pohybuje v rozmezí 0,11 až 0,2. Pro zjištění prominence prvních dvou vrcholů je autokorelační funkce zrcadlově otočena podle osy X. Autokorelační funkce ze segmentu, ve kterém se nachází tonicko-klonický záchvat, má vzdálenou podobu sinusoidy. Pokud se v daném segmentu záchvat nenachází, absolutní rozdíl hodnot minim bývá zpravidla vyšší nebo v některých případech je detekován vrchol pouze jeden. Druhý zmíněný případ je poté vyhodnocen jako nesplňující podmínky. Vyhodnocení autokorelační funkce probíhá pro signál z každého piezo-měniče zvlášť.

Na obrázku 4.9 jsou průběhy autokorelační funkce ze segmentu, kde je přítomný záchvat. Podle nastavených hranic splňují podmínky všechny průběhy až na průběh z pieza číslo dvě.

Na druhou stranu tento parametr, ačkoliv patří stále k významným a vykazuje lepší přesnost než například určení frekvence s maximální energií v daném segmentu, rozhodně není stoprocentní. U tohoto parametru častěji dochází k situaci, že v případě přítomného záchvatu v segmentu se prominence prvních dvou vrcholů pouze těsně liší v porovnání s rozmezím 0,11 až 0,2.

Bodování u tohoto parametru probíhá podobně jako u dominantní frekvence v segmentu. Pokud alespoň 2 signály mají prominenci vrcholů v rozmezí 0,11 až 0,2, jsou segmentu uděleny 2 body.



Obrázek 4.9. Průběhy autokorelačních funkcí když je v segmentu přítomný záchvat

4.2.4 Energie signálu při středních kmitočtech

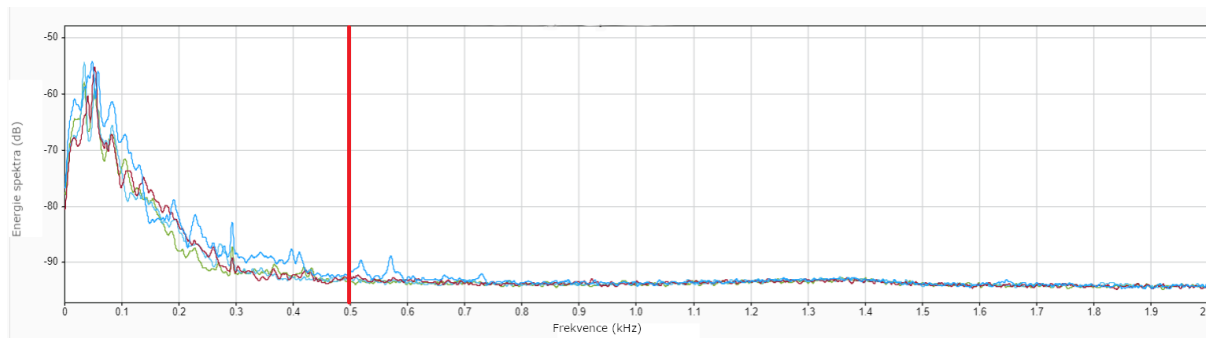
Dalším parametrem, který byl zvolen pro detekci, je hodnota spektrální energie signálu pro kmitočty vyšší než 500 hertzů. Při experimentálním pozorování bylo zjištěno, že pokud je energie signálu ve spektru od 500 hertzů vyšší než určitá hodnota, je velmi pravděpodobné, že se v daném segmentu nachází tonicko-klonický záchvat.

Metoda je podobná metodě určení dominantní frekvence v segmentu (4.2.2), ale stále se od této metody v několika krocích liší. V Matlabu pro to použijeme příkaz „pspectrum“, kde vstupními parametry jsou náš signál a vzorkovací frekvence, se kterou byl signál zaznamenán. Výstupem je poté energetické spektrum signálu a k němu příslušný frekvenční vektor.

Při výpočtu tohoto parametru dojde nejprve k vlastní segmentaci signálu, která se liší v závislosti na délce signálu. Poté dojde k výpočtu DFT podle rovnice (1). Spektrum se umocní na druhou, aby došlo k výpočtu energie. Nakonec dojde k průměrování přes segmenty a normalizaci signálu, aby nebyla závislá na délce segmentu. Nakonec pro lepší přehlednost převedeme výsledné spektrum z energie na decibely. Převod se provede pomocí příkazu „pow2db“. Převod se provede pomocí rovnice:

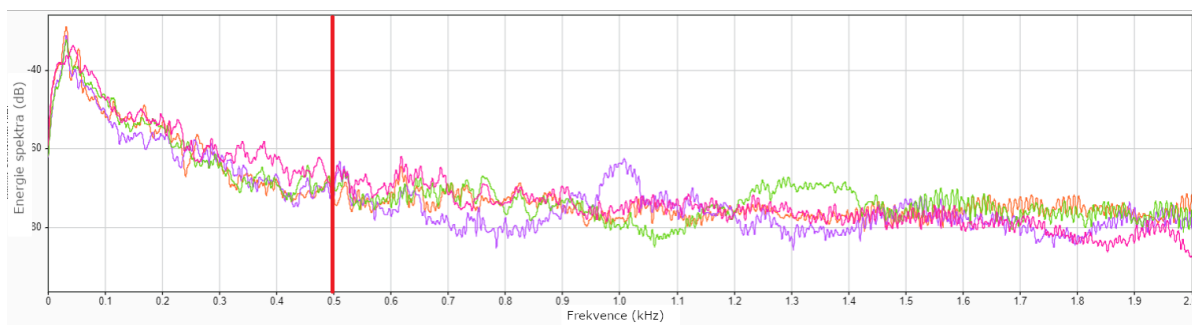
$$y_{db} = 10 \log_{10}(y) \quad (3)$$

kde y je vstupní hodnota, tedy signál, který chceme zobrazit v decibelech a y_{db} je poté výstupní signál v decibelech.



Obrázek 4.10. Energetické spektrum úseku bez výskytu záchvatu s naznačenou hranicí pro 500 Hertzů

Bylo zjištěno, že pokud se v daném segmentu signálu nachází maximum energie ve spektru, pro kmitočty nad 500 hertzů, nad hodnotou -85 decibelů, s velkou pravděpodobností v daném segmentu došlo k záchvatu. Pokud je tato hodnota ještě vyšší, konkrétně stoupne nad -70 decibelů, jsou segmentu uděleny další dva body. Maximálně může tedy segment za tento parametr získat znovu 12 bodů



Obrázek 4.11. Energetické spektrum segmentu s výskytem záchvatu s naznačenou hranicí pro 500 Hertzů

Ačkoliv tento parametr působí až přehnaně jednoduše, ukázal se jako velice spolehlivý a robustní. Dokáže detekovat záchvaty s vysokou přesností, a proto mu byla tedy náležitě zvýšena váha pro vyhodnocování záchvatů.

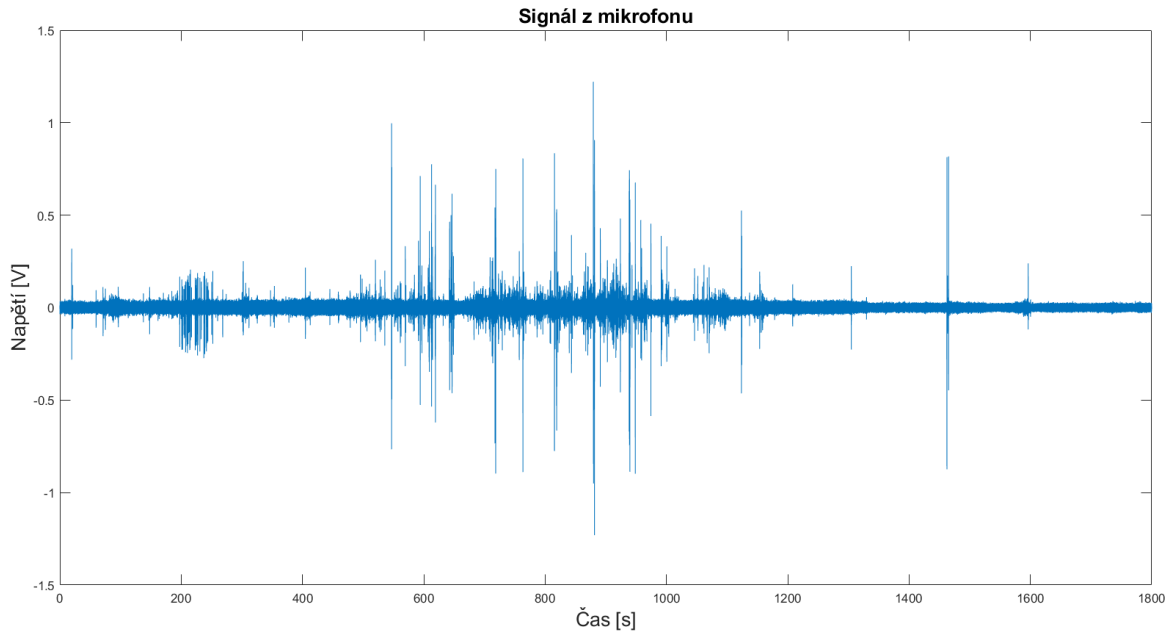
4.2.5 Vyhodnocení signálu z mikrofону

Jako poslední parametry sloužící k detekování záchvatů v daných segmentech bude různé porovnání parametrů ze signálu nahraného z mikrofónu umístěného do chovné nádoby. Po pozorování a vyzkoušení několika parametrů byly nakonec zvoleny pouze jednodušší parametry, a to nalezení maxima a minima v daném úseku a poté nalezení frekvence s maximální energií v daném segmentu.

Pro nalezení maximální a minimální hodnoty jsme postupovali stejně jako v případě nalezení maximální a minimální hodnoty v amplitudě ze signálu z piezo-měníčů (4.2.1). Nejprve jsme tedy našli extrémní hodnoty v segmentu, a poté vzali určitý úsek, ve kterém jsme hledali opačný extrém pro určení rozdílu extrémních hodnot.

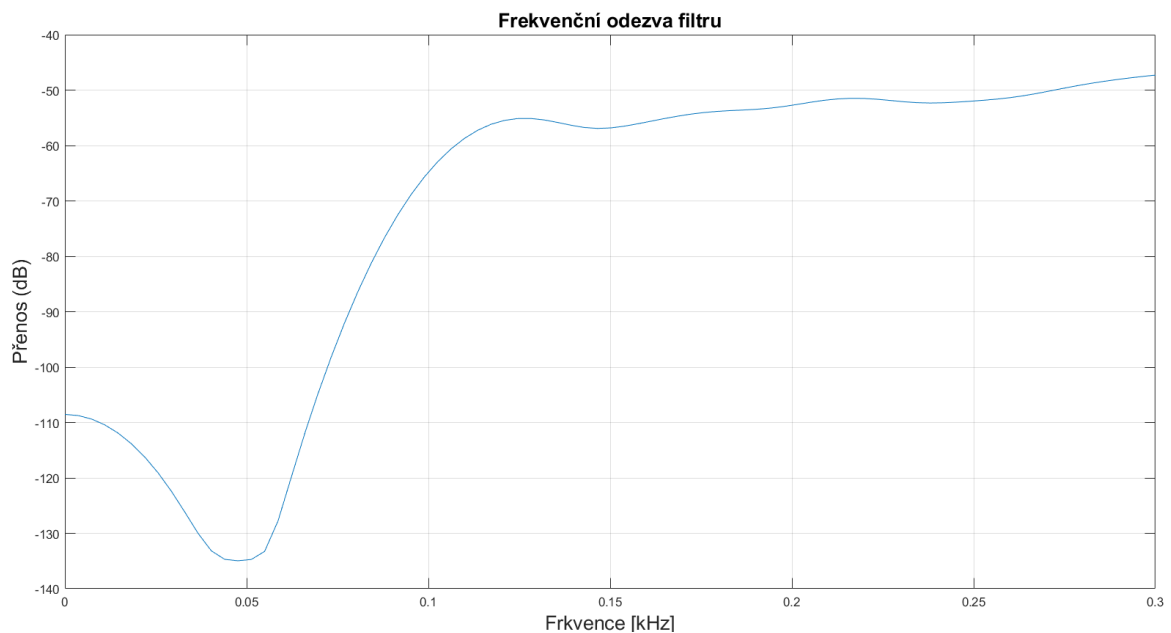
Na rozdíl od určení extrémních hodnot ze signálu z vibračních senzorů jsme zde museli zvolit mnohem kratší úsek, jelikož v případě zvukového signálu dochází k výchytkám amplitudy mnohem frekventovaněji. Opět jsme tedy navrhli limity pro minimum, maximum a rozdíl extrémních hodnot v daném segmentu. Limity byly navrženy na základě

experimentálního pozorování. Bodování zde probíhá stejně jako u amplitudy signálu z piezo-měníčů. 4.2.1 Spodní prahové hodnoty byly zvoleny ± 800 milivoltů. Vyšší prahové hodnoty byly zvoleny ± 1 volt. Pro rozdíl amplitudy signálu byly prahové hodnoty zvoleny 1,6 a 1,9 voltů.



Obrázek 4.12. Průběh signálu z mikrofonu

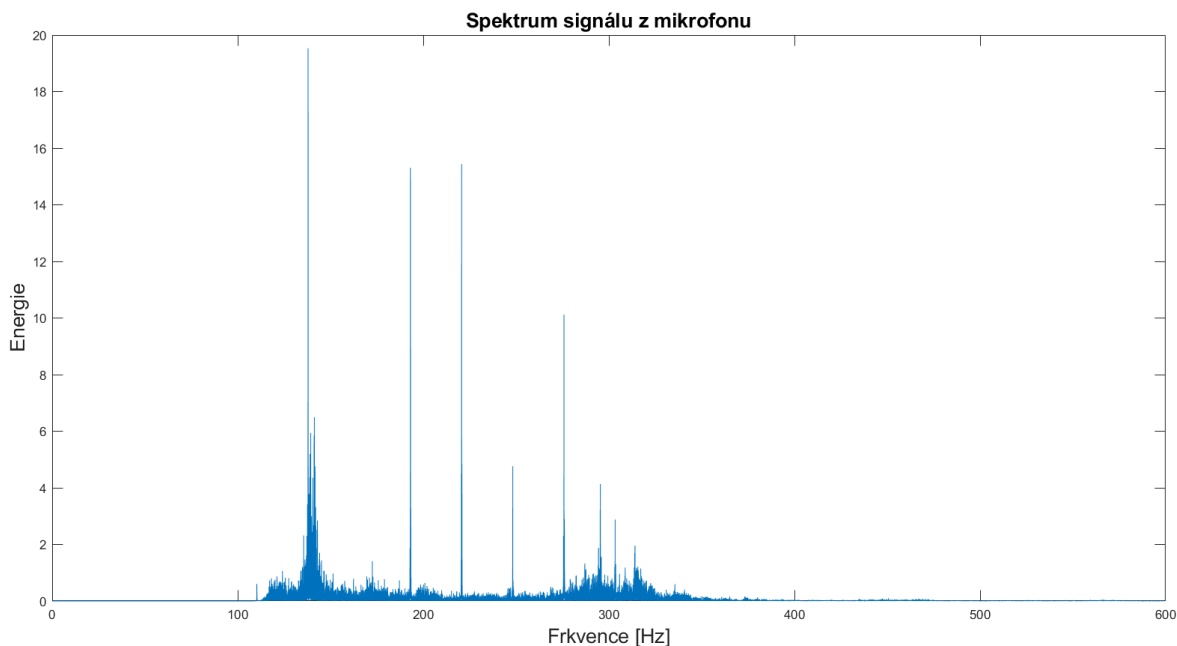
Jako další informaci ze zvukového signálu jsme zvolili frekvenci s maximální energií. Zde se objevil problém, jelikož zde nezávisle na přítomnosti záchvatu byla dominantní frekvence kolem 120 hertzů, což se ukázalo jako frekvence šumu. Bylo nutné tedy signál filtrovat. Pro filtraci byla zvolena horní propust s mezní frekvencí 125 hertzů.



Obrázek 4.13. Frekvenční průběh horní propusti použité na signál z mikrofonu

U horní propusti, jako v našem případě, je mezní frekvence definována jako frekvence ve které výstupní signál klesne o -3 decibely oproti maximální hodnotě, kterou má v pro-

pustném pásmu. Pro filtraci jsme použili Matlabu implementovanou funkci „highpass“. Vstupními parametry této funkce je vstupní signál a mezní frekvence filtru. Ve výchozím nastavení funkce sama, podle délky signálu, rozhodne zda je výhodnější navrhnout FIR filtr (Finite Impulse Response), nebo IIR filtr (Infinite Impulse Response). Funkce se nejprve pokusí navrhnout FIR filtr s nejmenším možným řádem tak, aby splňoval stanovené podmínky. Pokud to není ve výpočetních možnostech, přistoupí k návrhu IIR filtru. Podmínky zde jsou: míra potlačení signálu v nepropustném pásmu (v našem případě 60 decibelů) a strmost přechodu z nepropustného do propustného pásma (v našem případě 0,85).



Obrázek 4.14. Spektrum signálu z mikrofonu při přítomnosti záchvatu v segmentu

Po filtraci se ukázalo, že pokud v segmentu došlo k záchvatu, frekvence s největší energií se nachází pod hodnotou 200 hertzů. Pokud byla maximální frekvence pod touto úrovní, byl segmentu udělen bod. Bohužel nelze přesně určit bližší hranice s minimální a maximální frekvencí. Zároveň pokud je frekvence takto nízká, lze předpokládat že jde o interakce myši s nádobou a ne o vokalizaci. Jak následně lze vidět z výsledků v následující kapitole, parametr frekvence zvukového záznamu byl několikrát vynechán z důvodu zavádějících výsledků.

4.2.6 Vyhodnocení výsledku z vypočtených parametrů

Po segmentaci signálu, dostane každý segment svoje vlastní pole parametrů, do kterého se zapisují jednotlivé vypočtené výsledky. Hned první hodnota v tomto poli však nesouvisí s žádným výpočtem, ale je to skóre. Toto skóre se mění podle toho, zda daný segment splňuje podmínky záchvatů u jednotlivých parametrů. Ne všechny parametry však mohou zvýšit skóre rovnoměrně a záleží na tom jak je daný parametr spolehlivý při detekci záchvatů. Jako nejspolehlivější parametry se ukázaly: amplituda signálu z piezo-měničů, energie signálu při středních kmitočtech. Těmto parametrům bylo uděleno vyšší možné bodové ohodnocení, jak je u jednotlivých parametrů popsáno.

	Score	Amplitude	Autocorr	Dominant_freq	Freq_energy	Mic_amplitude	Mic_frequency
1	0	0	1	1	0	0	295.2667
2	0	0	0	0	0	0	295.3556
3	0	0	0	0	0	0	295.2667
4	1	0	2	0	0	0	295.2889
5	0	0	0	1	0	0	295.3333
6	1	0	2	0	0	0	295.3333
7	0	0	1	1	0	0	295.3556
8	1	0	2	0	0	0	295.3556
9	0	0	1	1	0	0	295.3667
10	1	0	0	3	0	0	295.3222
11	1	0	1	3	0	0	295.4444
12	1	0	0	3	0	0	295.4444
13	1	0	0	3	0	0	295.3444
14	0	0	0	2	0	0	295.3667

Obrázek 4.15. Tabulka s body vypočtených podle limitů pro parametry z běžného segmentu

Dále bylo potřeba vhodně zvolit hranice, od kolika bodů se daný segment dá považovat za podezřelý ze záchvatu. Maximální bodové ohodnocení, které může každý segment dostat, je 41 bodů. Avšak spodní limit pro skóre, které dostane segment, v němž došlo k záchvatu, bylo zvoleno deset bodů. Oproti maximální hodnotě se zvolení tak nízké hodnoty může zdát přehnané. Ovšem experimentálním pozorováním bylo zjištěno, že segmenty, ve kterých nedochází k záchvatu, mají zřídka skóre vyšší než šest bodů.

Zde ovšem máme dvě hranice. Hranice deseti bodů slouží pouze pro označení segmentů ve kterých pravděpodobně došlo k nějaké podezřelé činnosti myši nebo k možnému slabému záchvatu. Segmenty, ve kterých s největší pravděpodobností k záchvatům došlo, mívají skóre i větší než dvacet bodů. U opravdu silných záchvatů (na Racineově stupnici stupeň 5 nebo výše) se můžeme dostat až na třicet bodů. Tedy hranice pro určení segmentů, ve kterých došlo k záchvatu s vysokou pravděpodobností, byla zvolena 17 bodů. Cokoliv nad tuto hranici je vyhodnoceno jako velmi pravděpodobný záchvat. Hlavním důvodem těchto zdánlivě nízkých hranic, je preference falešné pozitivivity detekce záchvatů oproti falešné negativitě.

Score	Amplitude	Autocorr	Dominant_freq	Freq_energy	Mic_amplitude	Mic_frequency
29	12	0	3	12	3	192.1444
29	12	0	3	12	3	192.1889
4	0	0	1	0	3	192.1889
4	0	0	0	0	3	192.1222
4	0	0	1	0	3	192.1444
4	0	0	1	0	3	192.1889
4	0	0	0	0	3	192.1889
1	0	0	1	0	0	192.2000
19	7	0	0	12	0	219.6556
19	7	1	0	12	0	219.6556
15	7	1	0	8	0	219.7000

Obrázek 4.16. Tabulka s body vypočtených podle limitů pro parametry.

Na obrázku 4.16 je vidět tabulka se skóre pro signál, ve kterém se s velkou pravděpodobností nachází záchvat. Jak vyplývá z hranic uvedených v předchozím odstavci, s velkou pravděpodobností došlo k záchvatu v prvních dvou segmentech. V posledních třech segmentech signálu nejspíše došlo k sekundárním záchvatům.

Ačkoliv detekce pomocí vytvořené aplikace funguje dobře, čemuž se věnuje kapitola vyhodnocující výsledky 5. Stále je nutné přítomnost záchvatu ověřit z videozáznamu. Pokud aplikace dojde k závěru, že nějaký segment je alespoň podezřelý z přítomnosti záchvatu, výstupem z aplikace bude: číslo nahrávky, číslo segmentu a časové ohraničení daného segmentu v minutách, pro snazší hledání ve videozáznamu. Je důležité zmínit, že časové údaje z aplikace jsou spíše orientační. Vychází ze segmentace signálu z piezo-měničů. Tento signál se může drobně lišit od video signálu z důvodu nekonstantnosti a propadům snímků během pořizování videozáznamu. K přesnějšímu určení okamžiku podezřelého ze záchvatu slouží pulzace z LED diody, jak bylo popsáno v kapitole zabývající se hardwarem 3.1.

■ 4.2.7 Úprava aplikace pro umístění více myší do nádoby

Prvotním cílem projektu samozřejmě byla detekce tonicko-klonického záchvatu při umístění samotné myši do chovné nádoby. Ovšem z důvodu úspory finančních prostředků a zároveň výrazné časové a prostorové úspory je zde snaha o detekci záchvatů při umístění několika myší do chovné nádoby.

V době tvorby této závěrečné práce byla aplikace otestována pouze pro dvě myši v jedné nádobě. Zároveň vzhledem k rozměrům nádoby nelze měřit více než dvě myši najednou, a to lze stále pouze po omezenou dobu. Výsledky, jak je uvedeno v kapitole zabývající se prezentací výsledků 5, opět ukazují, že aplikace je úspěšná i při umístění více myší do nádoby. Zároveň je jednoduché aplikaci pro tento případ upravit. Všechny parametry, které byly popsány v této kapitole, jako parametry rozhodující o přítomnosti záchvatu, se ukázaly stejně užitečné i pro detekci záchvatů při umístění dvou myší. Jediný rozdíl je v nastavení jiných hranic pro jednotlivé parametry. Například konkrétně spodní limit maximální amplitudy u signálu z piezo-měničů pro jednu myš bylo zvoleno 300 milivoltů. Pro dvě myši je však tato hranice výrazně vyšší a sice 800 milivoltů. Rozdílné hranice jsou například i u frekvence s nejvyšší energií nebo amplitudou signálu z mikrofonu.

Nabízí se zde otázka jaký má význam detekce záchvatů u více myší v jedné chovné nádobě, když aplikace nedokáže určit, která z myší měla záchvat. Tato funkce ovšem není nutná, jelikož stačí zdetekovat, že k záchvatu došlo. Pro určení která myš poté měla záchvat, bude opět sloužit videozáznam. Je zde ovšem nutné od sebe jednotlivé myši nějak výrazně vizuálně odlišit.

■ 4.2.8 Nastavení limitů parametrů od uživatele

Jak vychází z popisů jednotlivých parametrů pro detekci záchvatů, limity parametrů byly nastaveny podle výsledků z experimentů po umístění a nahrávání myší v nádobě. Poměrně s jistotou tedy lze říct, že dané limity nejsou univerzální.

Zároveň nelze nastavit parametry tak, aby s jistotou vyšel ve výsledku pouze záchvat. Během vývoje a testování byla například do nádoby umístěna myš, která velmi často a výrazně interagovala s chovnou nádobou. Myš se pokoušela uniknout z nádoby, nadzvedávala horní díl nádoby a poškozovala mikrofon. Zejména interakce s nádobou a nadzvedávání horního dílu nádoby, nelze úplně dobře odlišit od podezřelého chování, které má zařízení detekovat. Ve výsledku tedy aplikace detekovala minimálně podezření ze záchvatu téměř v každém segmentu a bylo ji nutné dodatečně upravit. Úprava proběhla ve změně rozdělování bodů pro jednotlivé parametry, jelikož amplituda signálu ze senzorů výrazně zkreslovala výsledky měření.

Zejména kvůli těmto případům, by měl být uživatel jednoduše schopen limity změnit. Kromě tohoto případu se předpokládá, že dojde k výměně součástí, respektive ke změně rozměrů chovné nádoby, a tím i její hmotnosti. Při testování vyššího počtu myší najednou by i rozměry nádoby měly být přizpůsobeny počtu myší.

Proto je umožněno, aby byly limity změněny od uživatele. Limity budou umístěny hned v úvodní části kódu. Přizpůsobení aplikace tedy bude možné téměř bez jakéhokoliv studování kódu. Samozřejmě se před změnou limitů doporučuje několikanásobné testování, aby byla zajištěna správná funkce aplikace.

Kapitola 5

Vyhodnocení a diskuse výsledků

Tato kapitola se bude zaměřovat na vyhodnocení dat. Statisticky zhodnotíme přesnost detekce záchvatů, jak dobře funguje detekce záchvatů na datech, která byla zvolena pro testování, a zhodnotíme význam jednotlivých parametrů při detekci.

5.1 Validační dataset

Validační data jsou data určena k testování vyvinuté aplikace a neměla by se překrývat s optimalizačními daty, na základě kterých byla aplikace vyvinuta. Podle výsledků z validačních dat, by parametry aplikace neměly být dodatečně upravovány a přizpůsobovány.

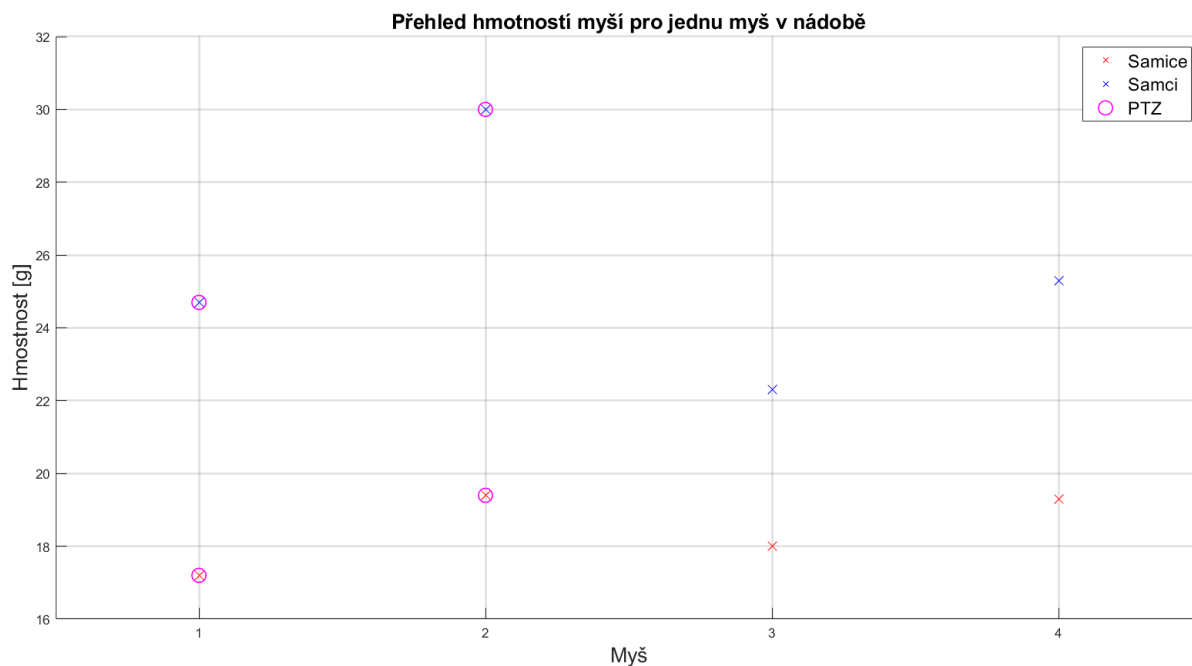
Aplikace byla optimalizována na dostatečném množství dat a na základě těchto výsledků byly nastaveny limity pro jednotlivé parametry. Limity jednotlivých parametrů jsou rozdílné pro jednu nebo více myši v nádobě najednou. V optimalizačních datech byla rovnoměrně zastoupena obě pohlaví a výběr myši v optimalizačních datech se nepřekrývá s výběrem ve validačním datasetu.

Při výběru myši pro nahrávání validačních dat byla snaha vybrat myši tak, aby byla obě pohlaví rovnocenně zastoupena, aby byla variabilita v hmotnostech jednotlivých myši a aby nedošlo k použití stejné myši ve více případech. Výjimkou je použití stejné myši pro získání dat jedné a dvou myši umístěných do nádoby. Celkem bylo použito 8 myši, 4 samice a 4 samci. Kmen myši byl C57BI/6j.

Označení myši	Pohlaví	Hmotnost (g)	Doba měření (h)	PTZ
M_F1	F	17,2	0,5	ANO
M_F2	F	19,4	0,5	ANO
M_M1	M	24,7	0,5	ANO
M_M2	M	30	0,5	ANO
M_F3	F	18	12	NE
M_M3	M	22,3	14	NE
M_F4	F	19,3	12	NE
M_M4	M	25,3	12	NE

Tabulka 5.1. Přehled naměřených dat s jednou myší umístěnou do nádoby

V tabulce 5.1 je přehled validačních dat pro myši, které byly umístěny do nádoby samostatně. U doby měření se několikrát objevuje doba půl hodiny. Tento údaj se vyskytuje u myši, kterým byl aplikován pentylentetrazol. Tento údaj je ve většině případů zaokrouhlený, jelikož ve většině případů došlo k záchvatu dříve než po půl hodině, což je základní délka nahrávaného úseku. Jelikož k záchvatu došlo již před dokončením nahrávání a záchvat byl terminální, došlo k ukončení nahrávání před koncem úseku.



Obrázek 5.1. Přehled hmotností jednotlivých myši. Růžový kroužek je u myši, kterým aplikován pentylenetetrazol

Označení myši	Pohlaví	Hmotnost (g)	Doba měření (h)	PTZ
M_MM1	M a M	29,3 a 30	0,5	NE a ANO
M_FF1	F a F	18,5 a 17,4	1	NE a ANO
M_MM2	M a M	30 a 28,3	12	NE
M_FF2	F a F	17,3 a 17,6	11	NE

Tabulka 5.2. Parametry myši při umístění dvou myši do nádoby. Pokud byl nějaké aplikován pentylenetetrazol, byly údaje této myši v tabulce napsány tučným písmem.

Pro umístění dvou myši do nádoby je nutné dbát na pohlaví, protože umístění myši různého pohlaví není doporučeno a mohlo by mít za následek vysoký počet falešně pozitivních detekcí.

5.2 Použití aplikace na validační dataset

Výsledky jsme rozdělili podle toho, jak aplikace dokázala detekovat záchvaty. Výsledky uvádějí kolik dokázala aplikace detekovat falešně pozitivních a falešně negativních záchvatů, a samozřejmě i správně detekované negativní a pozitivní úseky.

V tabulce 5.3 jsou uvedeny výsledky testování aplikace pro detekci záchvatů na testovacích datech. Z údajů v tabulce je jasně patrné, které myši byly do nádoby umístěny na delší dobu, a to konkrétně na dvanáct a čtrnáct hodin. U myši s označením „M_M3“ je možné vidět vyšší počet úseků, kde došlo k falešně pozitivnímu vyhodnocení záchvatu. Konkrétně tato myš, která byla rovněž umístěna do nádoby společně s další myši, se

Označení myši	Pozitivní	Negativní	Falešně pozitivní	Falešně negativní
M_F1	0	0	0	1
M_F2	1	0	0	0
M_M1	1	0	0	0
M_M2	1	0	0	0
M_F3	0	21	3	0
M_M3	0	22	6	0
M_F4	0	20	4	0
M_M4	0	19	5	0

Tabulka 5.3. Výsledky detekce záchvatů pro jednu myš umístěnou do nádoby

jevila velmi aktivní a velmi často interagovala s nádobou nebo zařízením v nádobě. Bohužel ne vždy lze toto chování z hlediska signálu odlišit od signálu při záchvatu.

Rovněž je možné si všimnout toho, že se zde vyskytuje jeden falešně negativní úsek signálu. Jde tedy o úsek, ve kterém došlo k záchvatu, ovšem aplikace ho nedokázala detekovat. A to bohužel ani jako úsek, ve kterém byl alespoň jeden segment pouze podezřelý ze záchvatu. Po kontrole vypočtených parametrů bylo zjištěno, že kromě parametru, který počítá s energií středních kmitočtů (3), žádný další parametr zde nenaznačuje, že by k záchvatu došlo. Po kontrole naměřených dat bylo zjištěno, že amplituda signálu z piezo-měničů pouze v jednom případě překročila hranici 300 milivoltů, která byla stanovena jako spodní hranice pro možný výskyt záchvatů. Během skutečných záchvatů byla amplituda signálu jen o něco málo vyšší než 100 milivoltů. Tyto hodnoty byly naměřeny u záchvatů, které by na Racineově stupnici byly ohodnoceny stupněm 5 (2.1). Jako jednou z možných příčin by mohla být nízká hmotnost myši. Tato myš měla nejnižší hmotnost ze všech měřených myši.

Podobné to bylo i se signálem z mikrofonu, kde amplituda zvukového záznamu sice překročila minimální hranici, která byla stanovena pro přítomnost záchvatu, ovšem k těsnému překročení této hranice došlo pouze v jednom segmentu. Přesto, že byl v těchto případech segmentu přidán bod do celkového skóre, součet na konci byl stále nedostatečný pro detekci.

Velmi pravděpodobně se téměř ve všech měřeních, která budou probíhat delší dobu, tedy alespoň dvanáct hodin a více, bude vyskytovat alespoň jeden falešně pozitivní úsek. Nejčastěji k této falešné detekci dochází v prvních hodinách po umístění myši do nádoby. V těchto úsecích je myš vystavena stresu po umístění do neznámého prostředí. S těmito stavy je nutné počítat a nedá se jim vyhnout. Myš velmi aktivní a často i celé hodiny interaguje s nádobou a se zařízeními v nádobě. To se nejčastěji projevuje právě vyhodnocením falešně pozitivního záchvatu. Je tedy potřeba při vyhodnocování s tímto počítat, jelikož nelze tyto úseky jednoduše vynechat.

Podobně jako při umístění jedné myši do nádoby jsme vyhodnocovali i signály pro umístění dvou myši. Pro tyto signály byla použita aplikace upravená pro více myši.

V tabulce 5.4 je možné vidět výsledky z detekce záchvatů, které jsme získali po použití aplikace na naměřená data pro více myši v nádobě. V tomto datasetu nedošlo k žádnému falešně negativnímu vyhodnocení úseku.

Měření u myši, v tabulce označených jako „M_FF1“, při aplikování pentylenetetrazolu do jedné z nich zabralo necelé dva úseky, tedy necelou hodinu měření. V obou úsecích

Označení myši	Pozitivní	Negativní	Falešně pozitivní	Falešně negativní
M_MM1	1	0	0	0
M_FF1	2	0	0	0
M_MM2	0	9	15	0
M_FF2	0	18	4	0

Tabulka 5.4. Výsledky detekce záchvatů pro dvě myši umístěné do nádoby

aplikace detekovala záchvat, který byl rovněž vizuálně potvrzen. V druhém úseku skóre dokonce přesahovalo 30 bodů. Dle naměřených výsledků je neobvyklé, že by se objevil sekundární záchvat s tak velkou intenzitou jako v tomto případě. Pokud se objeví záchvat s takovou intenzitou, bývá zpravidla terminální. V tomto případě myš přežila všechny záchvaty, i když měly oba, dle bodů, velkou intenzitu.

Ve výsledcích myši označené jako „M_MM2“ lze vidět velký počet falešně pozitivně vyhodnocených úseků. V tomto měření se často vyskytovaly falešně pozitivní úseky, kde skóre výrazně přesahovalo dvacet bodů. Po vizuální kontrole bylo zjištěno, že k žádným záchvatům nedošlo. Pro toto měření byli do nádoby umístěni dva samci. Jeden z těchto samců byl velmi aktivní a agresivní samec zmíněný v předchozí části této podkapitoly. Během těchto úseků, kdy došlo k falešně pozitivnímu vyhodnocení, tento samec atakoval a velmi divoce interagoval s druhým samcem nebo s nádobou. Důvodem by mohla být určitá agresivita, která se u samců přirozeně vyskytuje, a je pravděpodobné, že malé rozměry nádoby to ještě více umocnily. V budoucnu se uvažuje jak o zvětšení rozměrů chovné nádoby a zároveň, v případě umístění více myší do jedné nádoby, použít pouze samice. Pro ně z výsledků měření vyplývá, že delší pobyt v nádobě jim z hlediska detekce nečiní žádné větší potíže.

5.3 Vyhodnocení výsledků validačního datasetu

5.3.1 Metody statického vyhodnocení

Pro statistické vyhodnocení byly vybrána metoda Lineární regrese a ANOVA. ANOVA (Analysis of Variance, Analýza rozptylu) je statistická metoda pro testování hypotéz. Užívá se pro testování dat ze dvou a více pozorovaných skupin, v našem případě parametrů. ANOVA porovnává průměry jednotlivých skupin, parametrů a pomocí toho zjišťuje vliv jednotlivých parametrů na výsledky experimentu. Určuje tedy, které parametry mají statisticky významný vliv na závislou proměnnou, v našem případě výsledné skóre jednotlivých segmentů signálu. Výsledky by měly objasnit, které parametry nejlépe určují přítomnost záchvatů v segmentu. U obou těchto metod předpokládáme, že naše výsledky z datasetu pocházejí z normálního rozdělení. Význam jednotlivých parametrů určíme zejména pomocí F-statistiky a p-hodnoty. F-statistika ukazuje poměr variability mezi skupinami a v rámci jednotlivých skupin pomocí porovnávání jejich průměrných hodnot. F-statistika se tedy spočte jako:

$$F - stat = \frac{\text{variance mezi skupinami}}{\text{variance v rámci jednotlivých skupin}} = \frac{\frac{SSM}{DF_M}}{\frac{SSE}{DF_E}} \quad (1)$$

kde SSM je suma čtverců napříč jednotlivými skupinami, SSE je suma čtverců v rámci jednotlivých skupin. DF_M respektive DF_E jsou poté stupně volnosti napříč skupinami, respektive v rámci jednotlivých skupin.

Druhý parametr, p-hodnota, říká, s jakou pravděpodobností mohla být naše data naměřena za předpokladu, že platí nulová hypotéza. V našem případě je nulová hypotéza předpoklad, že všechny vybrané parametry jsou stejně statisticky významné a není mezi nimi žádný signifikantní rozdíl.

Jako druhý způsob statistického testování byla vybrána lineární regrese. Cílem lineární regrese je nalézt lineární vztah mezi závislou proměnnou (skóre) a nezávislými proměnnými (zvolené parametry) využitím polynomu prvního stupně. Předpokládáme, že mezi závislými a nezávislými hodnotami je lineární závislost a lze je odhadnout pomocí lineárního vztahu. Aproximaci budeme chtít vyjádřit pomocí funkce:

$$y = \beta_1 \cdot f_1(x) + \dots + \beta_k \cdot f_k(x) + \epsilon \quad (2)$$

kde koeficienty β_1 až β_k jsou koeficienty odhadnuté pomocí metody nejmenších čtverců a $f_1(x)$ až $f_k(x)$ jsou funkční hodnoty, jejichž lineární kombinací se hodnoty y aproximují. To se tedy snažíme aproximovat pro k vzorků, což je počet vzorků, které v daném datasetu máme. Proměnná ϵ je poté náhodná chyba, která se může v aproximaci objevit.

Při vyhodnocení výsledků z lineární regrese se opět zaměříme na p-hodnotu stejně jako u předešlé metody ANOVA. A poté na R-squared parametr. Tento parametr vysvětluje, jak dobře se model přizpůsobuje datům, tedy jak je závisle proměnná (skóre) vysvětlena pomocí nezávisle proměnných. R-squared parametr se vždy pohybuje mezi 1 a 0, kde 0 značí, že model nedokáže vysvětlit variabilitu nezávislé proměnné a naopak 1 ji vysvětluje perfektně. Tento parametr by ovšem mohl být poněkud zkreslen, pokud bychom použili příliš parametrů, tedy nezávislých proměnných. Pokud například přidáme další nezávislé proměnné do modelu, R-squared se může zvýšit, ačkoliv tyto proměnné nic nevysvětlují.

Tento problém odstraňuje „Adjusted R-squared“, které do výpočtu přidává i počet nezávisle proměnných a zároveň počet vzorků, které máme. Při použití více nezávislých proměnných než je nutné, tedy „Adjusted R-squared“ klesá. „Adjusted R-squared“ se spočte pomocí vzorce:

$$AdjustedR^2 = 1 - \frac{(1 - R^2)(n - 1)}{(n - k - 1)} \quad (3)$$

kde R^2 je standardní R-squared, n je počet vzorků a k je počet parametrů, tedy nezávislých proměnných.

■ 5.3.2 Výsledky statistického vyhodnocení

Nejprve se zaměříme na statistické vyhodnocení dat pro umístění pouze jedné myši do chovné nádoby. Pro statistické vyhodnocení bylo pozměněno bodování, aby všechny parametry dávaly stejný bodový příděl a žádný nebyl zvýhodněn.

aov =

N-way anova, constrained (Type III) sums of squares.

Y ~ 1 + Amplituda piezo-měníčů + Vrcholy autokorelační funkce + Frekvence s nejvyšší energií + Energie středních km

	SumOfSquares	DF	MeanSquares	F	pValue
Amplituda piezo-měníčů	3281.6	10	328.16	1234.1	0
Vrcholy autokorelační funkce	349.55	4	87.387	328.64	2.0033e-244
Frekvence s nejvyšší energií	1282.6	4	320.66	1205.9	0
Energie středních kmitočtů	2861.9	4	715.47	2690.7	0
Amplituda signálu z mikrofonu	8524.3	7	1217.8	4579.6	0
Error	1049.8	3948	0.26591		
Total	62014	3977			

Obrázek 5.2. Výsledky metody ANOVA pro běžné segmenty jedné myši v nádobě

Obrázek 5.2 jsou výsledky metody ANOVA pro běžné úseky. Běžnými úseky signálu jsou zde myšleny úseky, ve kterých prokazatelně nedošlo k záchvatu. Tedy že i když došlo k detekci záchvatu v těchto signálech, daný úsek byl vizuálně zkontrolován přes záznam z videokamery a byl vyhodnocen jako falešně pozitivní. Z p-hodnot a F-statistik je patrné, které parametry byly v tomto případě signifikantní. U všech parametrů jsou p-hodnoty extrémně malé a u většiny byly dokonce zaokrouhleny na 0, což značí jejich vysokou statistickou významnost. F-statistiky u jednotlivých parametrů jsou naopak vysoké, což značí velkou varianci napříč skupinami, a tudíž statistickou významnost jednotlivých parametrů.

Důležité je zde zmínit ještě výsledek „Sum of squares“ na řádku označeném jako „Error“. Tento parametr ukazuje sumu čtverců residuí, tedy sumu čtverců vzdáleností skutečných výsledků od těch, které odhadl model. Tato hodnota je v tomto případě velmi vysoká. Ačkoliv p-hodnoty a F-statistiky značí, že všechny parametry jsou signifikantní, hodnota chyby naopak ukazuje, že model je v tomto případě velmi nepřesný a pro hodnocení nevhodný. Ještě je důležité zmínit, že v tomto případě byl pro tvorbu modelu použit největší vzorek dat, a to konkrétně 3978 segmentů.

m =

Linear regression model:

Skóre ~ 1 + Amplituda piezo-měníčů + Vrcholy autokorelační funkce + Frekvence s nejvyšší energií + Energie střední

Estimated Coefficients:

	Estimate	SE	tStat	pValue
(Intercept)	-0.19723	0.023767	-8.2985	1.4288e-16
Amplituda piezo-měníčů	1.017	0.012083	84.162	0
Vrcholy autokorelační funkce	0.31758	0.01617	19.64	4.8834e-82
Frekvence s nejvyšší energií	0.37678	0.0081515	46.222	0
Energie středních kmitočtů	1.5058	0.01971	76.399	0
Amplituda mikrofonu	1.0854	0.007988	135.88	0

Number of observations: 3978, Error degrees of freedom: 3972

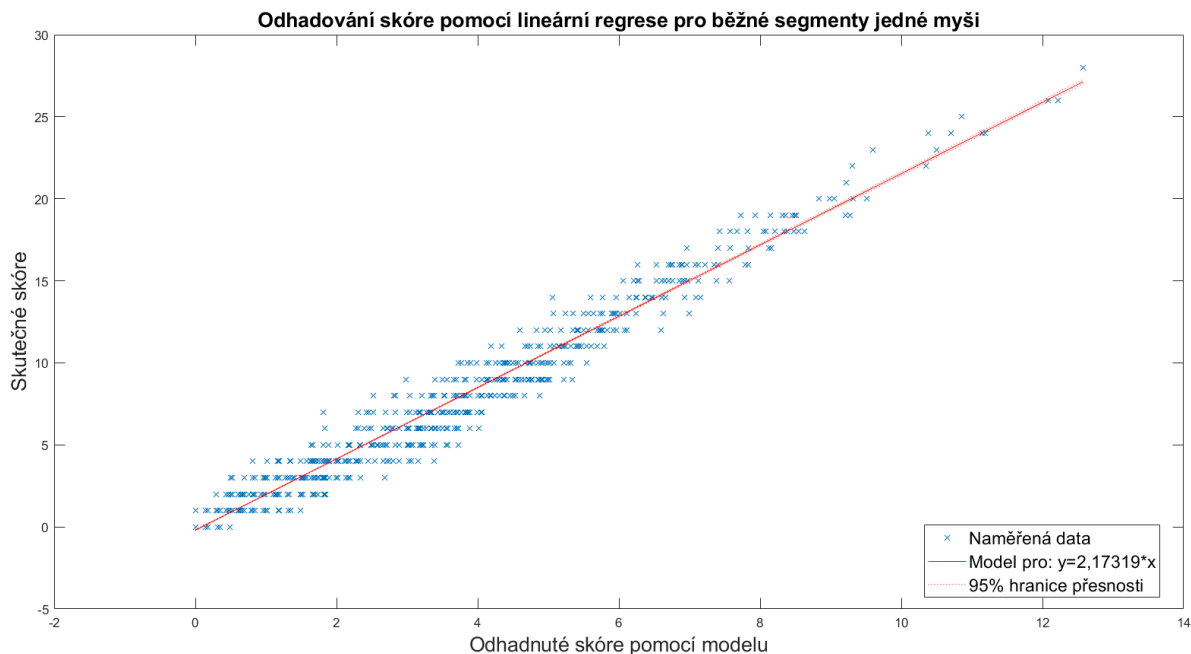
Root Mean Squared Error: 0.703

R-squared: 0.968, Adjusted R-Squared: 0.968

F-statistic vs. constant model: 2.43e+04, p-value = 0

Obrázek 5.3. Výsledky metody lineární regrese pro běžné segmenty u jedné myši v nádobě

Výsledky lineární regrese na stejná data jsou zobrazeny na obrázku 5.3. Ačkoliv se data z metody ANOVA ukázala jako nevhodná pro hodnocení, metoda lineární regrese je v celku potvrzuje. Z p-hodnot můžeme vidět statistický význam jednotlivých parametrů. Bohužel v tomto případě je hodnota parametru „Adjusted R-squared“ nejhorší ze všech modelů. I tak by se dalo říct, že lineární regrese funguje dobře, což následně potvrzuje i grafické zobrazení modelu.



Obrázek 5.4. Grafické výsledky lineární regrese pro běžné segmenty u jedné myši v nádobě

Z grafického zobrazení modelu je jasné, jak dobře dokáže lineární regrese modelovat data pomocí polynomu prvního řádu. Zároveň je ovšem patrné, že u některých bodů dochází k velké chybě. Grafické hodnocení ukazuje, že u nejvyšších hodnot v datasetu je odhadovaná hodnota přibližně poloviční oproti reálné hodnotě. Na toto má zásadní vliv větší počet bodů ve spodní polovině. Zároveň graf ukazuje, že velký počet bodů se nachází na a nad hranicí 10 bodů. Všechny tyto segmenty byly vyhodnoceny jako falešně pozitivní. Konkrétně je to 310 segmentů, tedy přibližně 8%.

aov =

N-way anova, constrained (Type III) sums of squares.

Y ~ 1 + Amplituda piezo-měníčů + Vrcholy autokorelační funkce + Frekvence s nejvyšší energií + Energie stře

	SumOfSquares	DF	MeanSquares	F	pValue
Amplituda piezo-měníčů	2755.4	10	275.54	762.82	0
Vrcholy autokorelační funkce	174.37	4	43.591	120.68	7.5365e-90
Frekvence s nejvyšší energií	452.26	4	113.07	313.02	4.5604e-198
Energie středních kmitočtů	2602	4	650.51	1800.9	0
Amplituda signálu z mikrofonu	6204.8	7	886.4	2454	0
Error	566.74	1569	0.36121		
Total	43592	1598			

Obrázek 5.5. Výsledky metody ANOVA pro falešně pozitivně hodnocené segmenty

Výsledky metody ANOVA aplikované na data falešně pozitivních segmentů (Obrázek 5.5) ukazují, které parametry byly nejvíce signifikantní u detekce falešně pozitivních záchvatů. Jen pro upřesnění: Do tohoto hodnocení byly vybrány celé půlhodinové úseky, ve kterých došlo k falešně pozitivní detekci a ne pouze segmenty se skóre nad limit. Zde se bohužel ukazuje vedlejší efekt jednoho z nejvhodnějších parametrů pro detekci záchvatů, a to amplitudy signálu z piezo-měníčů. U tohoto parametru je nejlépe vidět činnost myši v nádobě a zároveň je bohužel nejnáchylnější k falešné detekci. Ať už je to skutečně pouze činností myši, nebo vlivy z vnějšího okolí. Tedy nějakou manipulací

s nádobou během měření, které se bohužel nelze vždy vyhnout. Velmi překvapivý je výsledek parametru „Energie středních kmitočtů“, který se v praxi ukazuje jako vhodný a zároveň robustní. Metoda ANOVA ho ovšem vyhodnotila opět jako signifikantní při bodování falešně pozitivních segmentů a F-statistika tohoto parametru je nejvyšší ze všech parametrů. Suma čtverců u chyb (reziduí) je opět poměrně vysoká a nelze tedy říci, že model hodnotí správně. Tento model byl vytvořen z počtu 1599 segmentů.

m =

Linear regression model:

Skóre ~ 1 + Amplituda piezo-měníčů + Vrcholy autokorelační funkce + Frekvence s nejvyšší energií +

Estimated Coefficients:

	Estimate	SE	tStat	pValue
(Intercept)	-0.30974	0.057581	-5.3792	8.5946e-08
Amplituda piezo-měníčů	1.0231	0.015835	64.611	0
Vrcholy autokorelační funkce	0.33811	0.02941	11.496	1.9278e-29
Frekvence s nejvyšší energií	0.4162	0.01749	23.796	2.414e-107
Energie středních kmitočtů	1.4947	0.025438	58.759	0
Amplituda mikrofonu	1.0904	0.011323	96.296	0

Number of observations: 1599, Error degrees of freedom: 1593

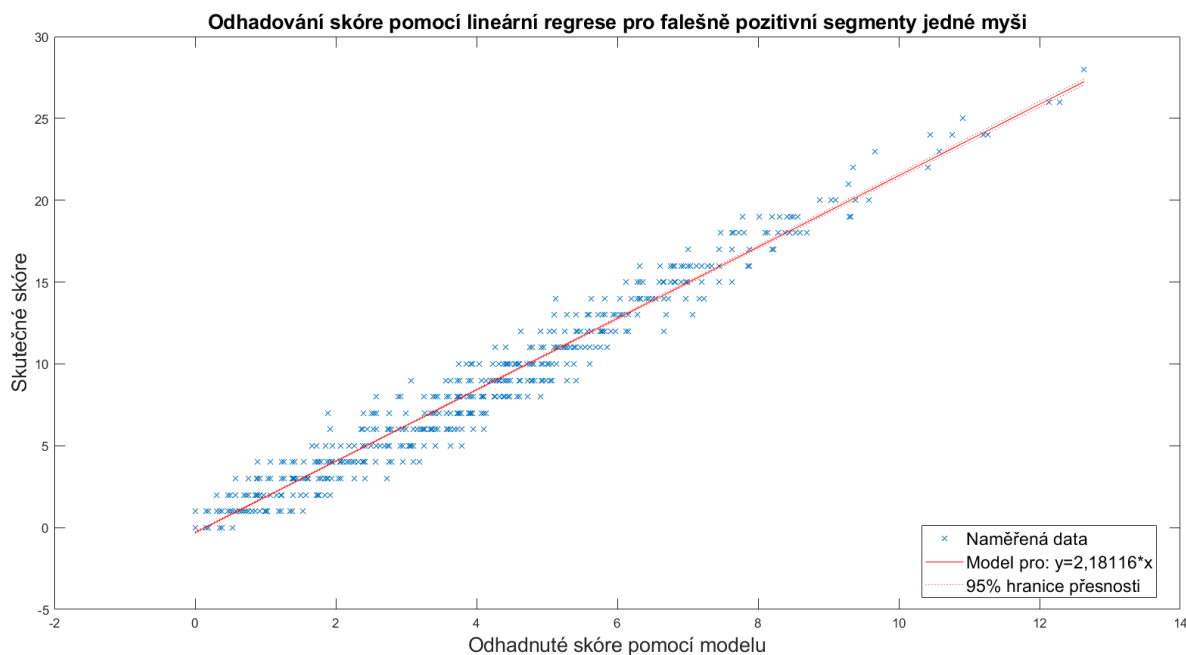
Root Mean Squared Error: 0.85

R-squared: 0.974, Adjusted R-Squared: 0.974

F-statistic vs. constant model: 1.18e+04, p-value = 0

Obrázek 5.6. Výsledky metody lineární regrese pro falešně pozitivně hodnocené segmenty

Výsledky z metody ANOVA potvrzují i lineární regrese. Opět se jeví jako nejvíce signifikantní parametry: Amplituda piezo-měníčů, Energie středních kmitočtů a amplituda signálu z mikrofonu. Parametr „Adjusted R-squared“ je zde vyšší než u předchozího modelu, ovšem i tak nedosahuje skvělých hodnot. Grafické zobrazení výsledků poté přibližuje, jak model kvalitně odhaduje.



Obrázek 5.7. Výsledky metody lineární regrese pro falešně pozitivně hodnocené segmenty

Na obrázku 5.8 můžeme vidět výsledky z ANOVY pro segmenty, ve kterých došlo k záchvatu, pokud byla do nádoby umístěna samotná myš.

```
aov =
N-way anova, constrained (Type III) sums of squares.

Y ~ 1 + Amplituda piezo-měníčů + Vrcholy autokorelační funkce + Frekvence s nejvyšší energií + Energie středních kmitočtů
```

	SumOfSquares	DF	MeanSquares	F	pValue
Amplituda piezo-měníčů	111.21	5	22.243	472.23	2.1353e-36
Vrcholy autokorelační funkce	4.8024	3	1.6008	33.986	2.0258e-11
Frekvence s nejvyšší energií	2.1039	3	0.70131	14.889	8.6549e-07
Energie středních kmitočtů	114.99	5	22.997	488.25	1.0565e-36
Amplituda signálu z mikrofonu	258.56	5	51.712	1097.9	3.5793e-44
Dominantní frekvence signálu z mikrofonu	13.76	45	0.30579	6.492	4.3336e-09
Error	2.0254	43	0.047102		
Total	9502	112			

Obrázek 5.8. Výsledky metody ANOVA pro záchvaty jedné myši v nádobě

Z předešlých zmíněných parametrů tedy F-statistiky a p-hodnoty vyplývá že nejvíce signifikantní jsou parametry: amplituda signálu z piezo-měníčů, maximální energie při středních kmitočtech a amplituda signálu z mikrofonu. Poměrně překvapivě má nejlepší statistická data právě poslední zmíněná amplituda signálu z mikrofonu, která se zjevně osvědčila nejvíce. Celkově ovšem p-hodnoty u všech parametrů jsou velmi malé, což ukazuje na jejich statistickou významnost. Ještě můžeme zmínit, že toto vyhodnocení se dělalo z poměrně malého vzorku, konkrétně ze 113 segmentů.

```
m =
Linear regression model:
Skóre ~ 1 + Amplituda piezo-měníčů + Vrcholy autokorelační funkce + Frekvence s nejvyšší energií + Energie středních kmitočtů

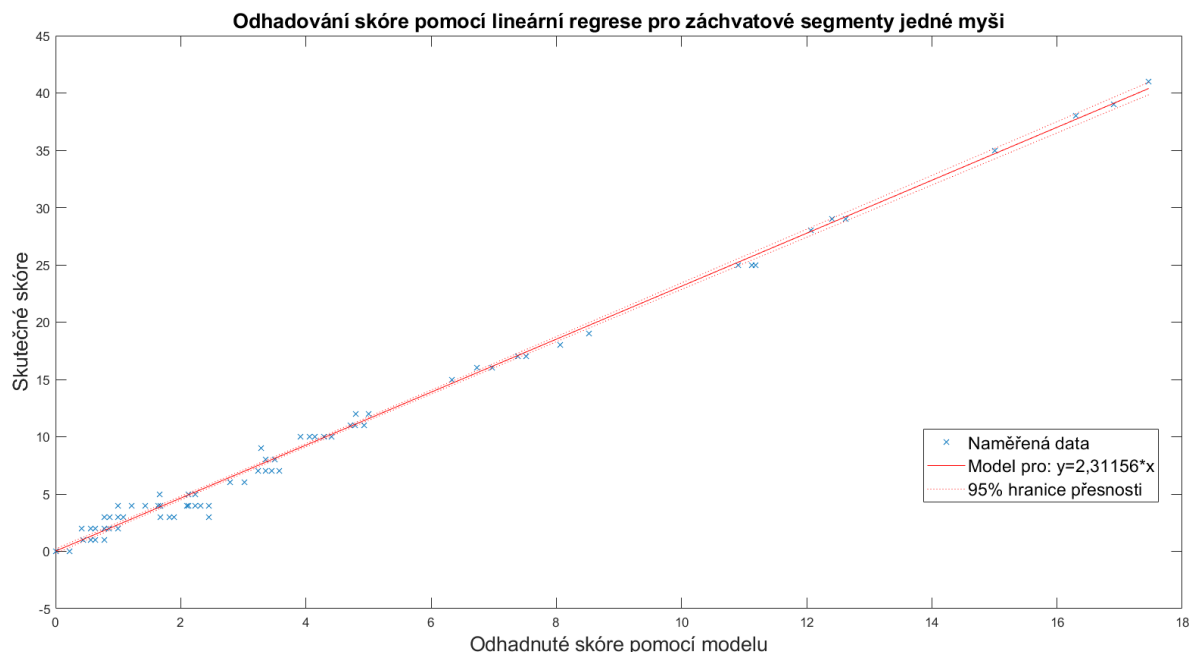
Estimated Coefficients:
```

	Estimate	SE	tStat	pValue
(Intercept)	0.13931	0.25803	0.53989	0.5904
Amplituda piezo-měníčů	1.0206	0.040448	25.233	1.2836e-46
Vrcholy autokorelační funkce	0.49869	0.10221	4.8791	3.7748e-06
Frekvence s nejvyšší energií	0.35741	0.069356	5.1532	1.1931e-06
Energie středních kmitočtů	1.5109	0.048376	31.233	2.8042e-55
Amplituda mikrofonu	1.2995	0.031546	41.196	4.716e-67
Frekvence záznamu z mikrofonu	-0.0012716	0.0018754	-0.67803	0.49923

Number of observations: 113, Error degrees of freedom: 106
Root Mean Squared Error: 0.8
R-squared: 0.993, Adjusted R-Squared: 0.992
F-statistic vs. constant model: 2.46e+03, p-value = 2.65e-111

Obrázek 5.9. Výsledky lineární regrese pro záchvaty jedné myši

Na obrázku 5.9 je možné vidět výsledky lineární regrese z dat se záchvaty pro jednu myš v nádobě. Kromě prvního zmíněného parametru, který je zde konstantní člen, jsou dle p-hodnot všechny parametry statisticky významné. Podle očekávaných výsledků jsou výrazně méně významné parametry: prominence vrcholů autokorelační funkce a frekvence s nejvyšší energií v segmentu. Jako nejvíce významný se dle výpočtů opět ukazuje amplituda signálu z mikrofonu. Parametr, který se jeví jako téměř nepoužitelný pro detekci záchvatů, je frekvence s nejvyšší energií v segmentech signálu z mikrofonu. Rovněž parametr „Adjusted R-squared“ dosahuje hodnoty 0,992, což je velmi dobrá úspěšnost.



Obrázek 5.10. Grafický výsledek lineární regrese pro záchvaty jedné myši

Grafický výsledek modelu lineární regrese lze vidět na obrázku 5.10. Lze říci, že tento model poměrně dobře vysvětluje závislou proměnnou. Ačkoliv většina bodů se nachází mimo hranici 95% přesnosti, která v grafu téměř splývá s přímkou.

Nyní se zaměříme na výsledky hodnocení při umístění dvou myši do nádoby. Jak je možné vidět z tabulek, tento dataset je poměrně menší ve srovnání s datasetem pouze pro jednu myš. I tak ovšem předpokládáme, že vzorek je dostatečně velký pro statistickou validaci.

aov =

N-way anova, constrained (Type III) sums of squares.

Y ~ 1 + Amplituda piezo-měníčů + Vrcholy autokorelační funkce + Frekvence s nejvyšší energií + Energie střed

	SumOfSquares	DF	MeanSquares	F	pValue
Amplituda piezo-měníčů	2139.7	10	213.97	1330.4	0
Vrcholy autokorelační funkce	101.65	3	33.883	210.68	1.3158e-116
Frekvence s nejvyšší energií	272.73	4	68.182	423.94	2.5618e-255
Energie středních kmitočtů	1607.5	8	200.94	1249.4	0
Amplituda signálu z mikrofону	973.7	2	486.85	3027.2	0
Error	280.48	1744	0.16083		
Total	13842	1771			

Obrázek 5.11. Výsledky metody ANOVA pro spontánní chování při umístění dvou myši do nádoby

Na obrázku 5.11 je možné vidět výsledky z použití metody ANOVA na běžné úseky signálu. Je to tedy vyhodnocení ze záznamů trvajících dvanáct hodin a více.

Ze samotných výsledků je patrné již to, co jsme zjistili z předchozích výsledků pro jednu myš. Jako nejvíce signifikantní se ukázaly opět parametry: amplituda signálu z piezo-měníčů, maximální energie při středních kmitočtech a amplituda signálu z mikrofónu. U těchto parametrů byly p-hodnoty tak nízké, že byly zaokrouhleny na 0 a rovněž u zbývajících dvou parametrů jsou p-hodnoty extrémně nízké. F-statistiky rovněž potvrzují tyto závěry. Pro toto zhodnocení byl vynechán parametr dominantní frekvence

ze signálu z mikrofonu, který výrazně ovlivňoval výsledky a nebyl vhodný pro hodnocení. Pouze doplníme, že toto hodnocení bylo děláno z 1771 segmentů.

```
m =
Linear regression model:
Skóre ~ 1 + Amplituda piezo-měníčů + Vrcholy autokorelační funkce + Frekvence s nejvyšší energií + Energie středních kmito

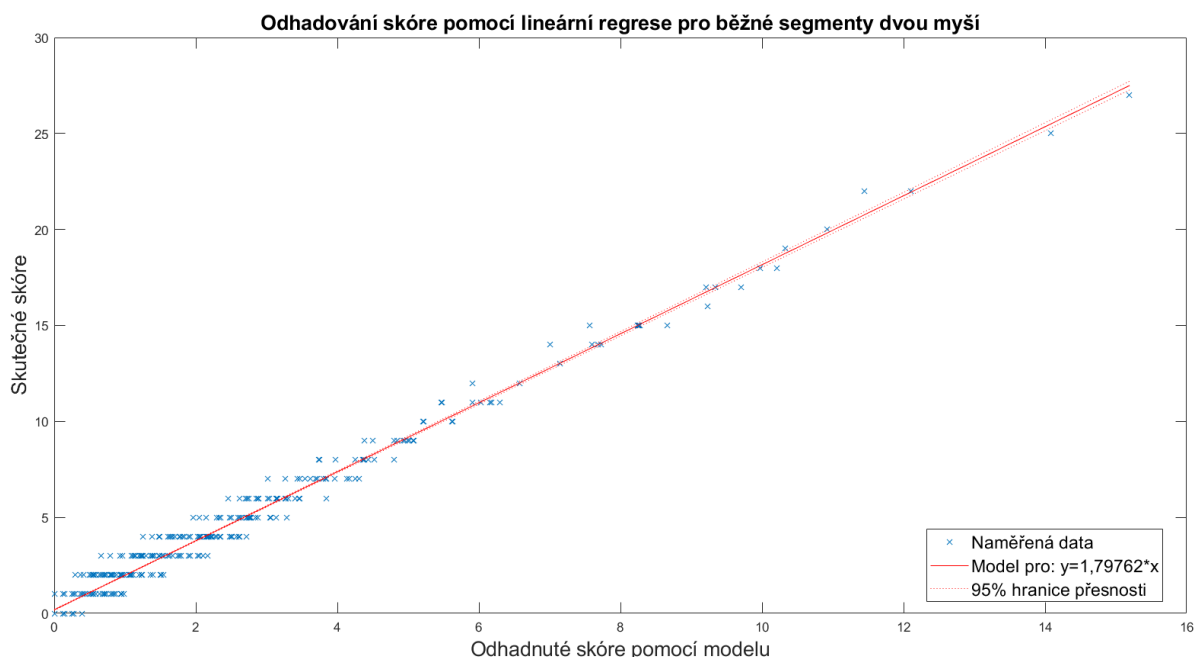
Estimated Coefficients:
```

	Estimate	SE	tStat	pValue
(Intercept)	1.2988	0.033375	38.916	1.0053e-239
Amplituda piezo-měníčů	0.98586	0.0075574	130.45	0
Vrcholy autokorelační funkce	0.25131	0.014198	17.701	1.1466e-64
Frekvence s nejvyšší energií	0.31791	0.0070996	44.779	3.3875e-293
Energie středních kmitočetů	1.0196	0.0091179	111.82	0
Amplituda mikrofonu	1.0393	0.012454	83.448	0
Freq_mic	-0.0049267	0.00012286	-40.098	1.6997e-250

Number of observations: 1772, Error degrees of freedom: 1765
 Root Mean Squared Error: 0.374
 R-squared: 0.982, Adjusted R-Squared: 0.982
 F-statistic vs. constant model: 1.62e+04, p-value = 0

Obrázek 5.12. Výsledky metody lineární regrese pro spontánní chování při umístění dvou myši do nádoby

Obrázek 5.12 ukazuje výsledky lineární regrese na segmenty spontánního chování myši. Lineární regrese potvrzuje výsledky metody ANOVA na stejná data. U těchto výsledků bychom zmínili parametr „Adjusted R-squared“. Tento parametr je o něco nižší než u předchozích signálů. Vliv by na toto mohla mít velikost vzorku, která je větší oproti například pouze záchvatovým nebo falešně pozitivním segmentům. Hodnota tohoto parametru je ovšem stále dostatečně vysoká a uspokojivá.



Obrázek 5.13. Grafické výsledky metody lineární regrese pro spontánní chování při umístění dvou myši do nádoby

Z grafického popisu lineární regrese 5.13 můžeme vidět trend odhadu parametrů pomocí této metody. Přesnost 95% opět v podstatě splývá s přímkou zobrazující odhad. Velké množství bodů se nachází v první třetině grafu. Důvodem je velký počet segmentů, které měly nízké skóre, pohybující se mezi nulou a čtyřmi body.

5. Vyhodnocení a diskuse výsledků

```
aov =
N-way anova, constrained (Type III) sums of squares.
Y ~ 1 + Amplituda piezo-měníčů + Vrcholy autokorelační funkce + Frekvence s nejvyšší energií + Energie středních kmitočtů +
```

	SumOfSquares	DF	MeanSquares	F	pValue
Amplituda piezo-měníčů	1725.1	10	172.51	1321.9	0
Vrcholy autokorelační funkce	19.211	3	6.4038	49.071	6.3064e-28
Frekvence s nejvyšší energií	111.45	4	27.862	213.5	4.431e-108
Energie středních kmitočtů	885.42	8	110.68	848.1	5.5479e-292
Amplituda signálu z mikrofonu	283.71	2	141.85	1087	4.1918e-186
Error	67.6	518	0.1305		
Total	9833.4	545			

Obrázek 5.14. Výsledky metody ANOVA pro falešně pozitivní segmenty při umístění dvou myší do nádoby

Na obrázku 5.14 můžeme vidět výsledky metody ANOVA u úseků, které byly detekovány jako falešně pozitivní. Pro tento model se jako nejvíce signifikantní ukázal parametr amplituda piezo-měníčů, který má jednoznačně nejvyšší F-statistiku a p-hodnotu zaokrouhlenou na 0. Rovněž například suma čtverců u reziduí tohoto modelu je velmi nízká oproti ostatním hodnotám. Model byl vytvořen z 546 segmentů.

```
m =
Linear regression model:
Skóre ~ 1 + Amplituda piezo-měníčů + Vrcholy autokorelační funkce + Frekvence s nejvyšší energií + Energ
```

Estimated Coefficients:

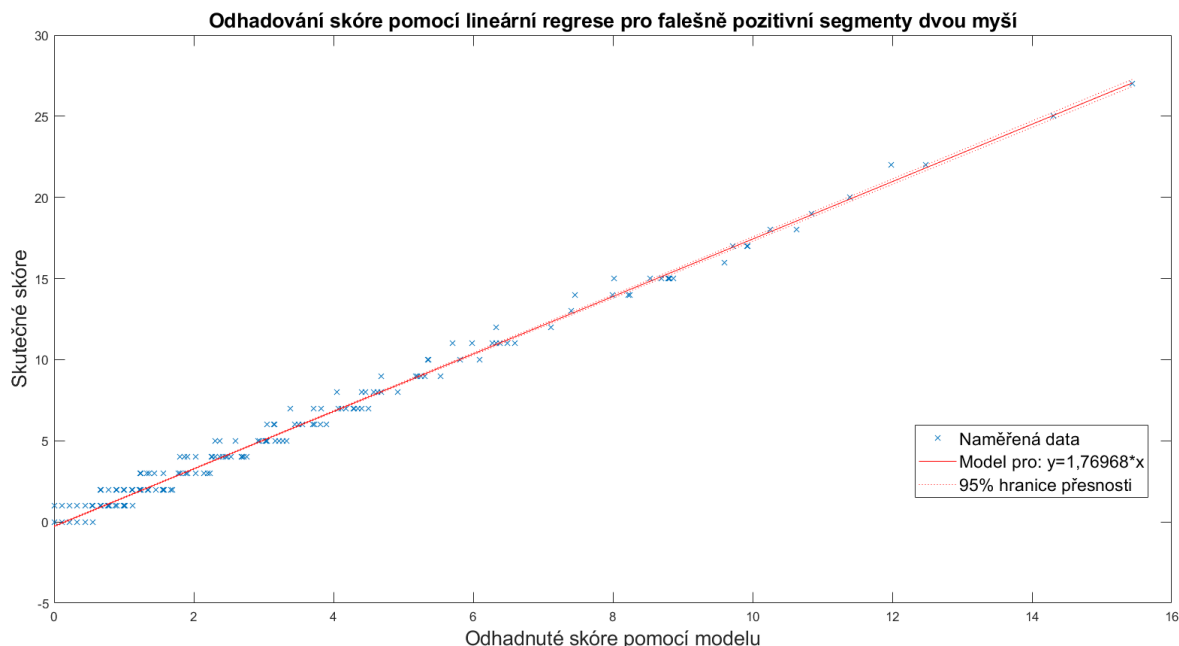
	Estimate	SE	tStat	pValue
(Intercept)	-0.26715	0.058262	-4.5853	5.6396e-06
Amplituda piezo-měníčů	0.99902	0.010462	95.489	0
Vrcholy autokorelační funkce	0.19287	0.034432	5.6014	3.391e-08
Frekvence s nejvyšší energií	0.39526	0.019108	20.686	1.9163e-70
Energie středních kmitočtů	1.0031	0.014827	67.655	7.3598e-266
Amplituda mikrofonu	0.96643	0.023986	40.291	7.2255e-165

```
Number of observations: 546, Error degrees of freedom: 540
Root Mean Squared Error: 0.457
R-squared: 0.989, Adjusted R-Squared: 0.988
F-statistic vs. constant model: 9.31e+03, p-value = 0
```

Obrázek 5.15. Výsledky metody lineární regrese pro falešně pozitivní segmenty při umístění dvou myší do nádoby

U metody lineární regrese (obrázek 5.15) můžeme vidět podobné výsledky jako u metody ANOVA. Opět je nejvíce signifikantní parametr amplituda piezo-měníčů. V tomto případě je „Adjusted R-squared“ o něco vyšší než u segmentů spontánního chování.

Co lze ještě v tomto případě zmínit je o něco vyšší hodnota parametru „Root Mean Square error“. Tento parametr popisuje rozdíl odhadnutých a reálných hodnot a bohužel není nijak normalizován, a záleží tedy, v jakých hodnotách se pohybuje závislá proměnná. Vzhledem k tomu, v jakých hodnotách se pohybuje naše závislá proměnná, je tato hodnota stále velmi dobrá, ačkoliv o něco vyšší oproti předchozím modelům.



Obrázek 5.16. Grafické výsledky metody lineární regrese pro falešně pozitivní segmenty při umístění dvou myši do nádoby

U grafického hodnocení modelu je opět patrný určitý trend, který se pohybuje kolem přímky našeho modelu. Je zde opět vidět velký počet bodů v první třetině přímky. Tento větší počet bodů by opět mohl být způsoben ostatními segmenty ve falešně pozitivních úsecích. Příliš často se stává, že všechny segmenty mají nižší skóre (konkrétně do pěti bodů) a bez zjevného vysvětlení se objeví segment s deseti body nebo více. Ani po zkontrolování video záznamu není příliš jasné, co tuto výchylku přesně způsobuje, a nelze tomu tedy zcela předejít. Jedna z možností je, že pokud jsou myši po delší dobu v klidu a zničehonic dojde k prudkému pohybu, mohla by být okamžitá výchylka amplitudy vyšší, než by se u tohoto pohybu čekalo a než by měl za běžných podmínek.

aov =

N-way anova, constrained (Type III) sums of squares.

Y ~ 1 + Amplituda piezo-měníčů + Vrcholy autokorelační funkce + Frekvence s nejvyšší energií + Energie středních kmitočtů +

	SumOfSquares	DF	MeanSquares	F	pValue
Amplituda piezo-měníčů	102.33	6	17.055	85.28	1.4495e-21
Vrcholy autokorelační funkce	6.858	3	2.286	11.431	1.3984e-05
Frekvence s nejvyšší energií	12.308	3	4.1027	20.515	2.8189e-08
Energie středních kmitočtů	107.04	6	17.841	89.211	6.1931e-22
Amplituda signálu z mikrofonu	14.848	2	7.4239	37.123	6.2914e-10
Error	8.1993	41	0.19998		
Total	3864.4	62			

Obrázek 5.17. Výsledky metody ANOVA pro záchvaty při umístění dvou myši do nádoby

Na obrázku 5.17 můžeme vidět výsledky metody ANOVA pro segmenty, ve kterých došlo k záchvatu, když byly do nádoby umístěny dvě myši. Z výsledků F-statistiky a p-hodnoty opět vychází statisticky nejvýznamější parametry: amplituda signálu z piezo-měníčů, energie středních kmitočtů a oproti záchvatům pouze u jedné myši je tentokrát o něco méně signifikantní amplituda signálu z mikrofonu. P-Hodnoty opět dosahují velmi nízkých hodnot a naopak, F-statistiky poměrně vysokých, i když řádově nižších než u záchvatů pro jednu myš. Jedním z možných vysvětlení by mohlo být méně vzorků v datasetu.

Pro dvě myši je to pouze 63 segmentů. Kromě jiného je ještě možné si všimnout, že v tomto hodnocení opět chybí frekvence signálu z mikrofonu. Důvodem je, že se tato data ukázala z nějakého důvodu nevhodná a nemohla být použita pro metodu ANOVA a ani metodu lineární regrese. Důvod poškození či nevhodnosti těchto dat bohužel není známý.

m =

Linear regression model:

Skóre ~ 1 + Amplituda piezo-měníčů + Vrcholy autokorelační funkce + Frekvence s nejvyšší energi

Estimated Coefficients:

	Estimate	SE	tStat	pValue
(Intercept)	-0.55147	0.24493	-2.2515	0.028222
Amplituda piezo-měníčů	0.99714	0.031718	31.438	1.0646e-37
Vrcholy autokorelační funkce	0.33878	0.10179	3.3281	0.0015361
Frekvence s nejvyšší energií	0.46859	0.094217	4.9736	6.3773e-06
Energie středních kmitočtů	1.0414	0.03908	26.648	7.2751e-34
Amplituda mikrofonu	0.93147	0.09894	9.4146	3.2717e-13

Number of observations: 63, Error degrees of freedom: 57

Root Mean Squared Error: 0.572

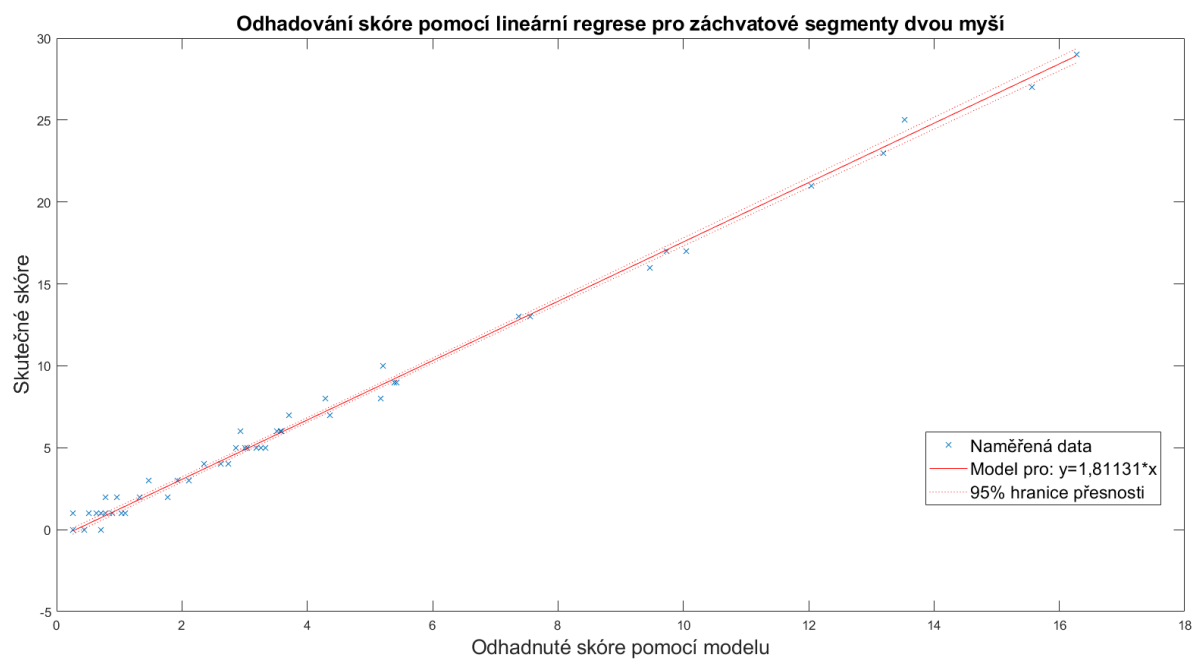
R-squared: 0.995, Adjusted R-Squared: 0.995

F-statistic vs. constant model: 2.35e+03, p-value = 1.13e-64

Obrázek 5.18. Výsledky lineární regrese pro záchvaty při umístění dvou myši do nádoby

Obrázek 5.18 ukazuje výsledky lineární regrese pro pozitivní segmenty pro dvě myši v nádobě. Výsledky nijak nevybočují z ostatních výsledků z lineární regrese nebo ANOVY. Jediné co lze zmínit je poměrně vyšší signifikance u dominantní frekvence v daném úseku. Narozdíl od prominence vrcholů autokorelační funkce, která se stále (například na typické hladině významnosti 5%) jeví jako signifikantní, ovšem mnohem méně v porovnání s ostatními parametry. Oproti modelu pro pozitivní segmenty s jednou myši v nádobě, zde opět vzrostla hodnota parametru „Adjusted R-squared“, která v tomto případě je ještě vyšší a ukazuje velmi kladné vlastnosti tohoto modelu. Tyto závěry potvrzuje i grafické zobrazení modelu na obrázku 5.19.

V grafickém zobrazení výsledků z lineární regrese (obrázek 5.19) opět můžeme vidět, s jakou přesností dokázala tato metoda odhadnout body ze zadaných parametrů. Poměrně překvapivý je počet bodů v první třetině grafu, tedy pro bodové hodnoty od nuly do čtyř bodů. Ačkoliv bychom v tomto případě čekali větší podíl bodů spíše v horních dvou třetinách, jelikož v těchto segmentech vždy došlo k záchvatu, segmentů s nízkým bodovým ohodnocením je zde stále hodně. Jedním z důvodů by mohla být skutečnost, že se zde stále bude vyskytovat spousta segmentů z doby před a zejména po záchvatu, kdy je myš vyděšená a nervózní, téměř vůbec se nehýbe a zůstává i několik desítek minut na jednom místě. Překvapivě se totéž týká i druhé myši umístěné do nádoby. Toto samozřejmě platí i pro segmenty po záchvatu, kdy byl záchvat terminální, tedy myš záchvat nepřezila.



Obrázek 5.19. Výsledky lineární regrese pro záchvaty při umístění dvou myši do nádoby

Kapitola 6

Závěr

Tato práce se zaměřuje na tvorbu a optimalizaci zařízení, které má detekovat epileptické záchvaty u myši bez použití EEG.

Úvod a teoretický rozbor se zaměřili na popis epilepsie, včetně konkrétních typů na které se zaměřuje studie, pro niž bylo zařízení vyvinuto. V teoretické rozboru jsou uvedeny bližší informace o studii, metody získání signálu z uměle vyvolaných záchvatů, či ukázka zařízení, které bylo pro podobné účely již vyvinuto.

Druhá kapitola se zaměřuje na tvorbu zařízení. Obsahuje popis součástí a zařízení a důvody jejich výběru. Zároveň obsahuje návrh a popis chovné nádoby, která byla speciálně vyrobena pro toto zařízení.

V další kapitole je možné se seznámit s aplikací určené k vyhodnocení signálů získaných z měření. Je zde uveden popis jednotlivých parametrů, jejich spolehlivost, robustnost a bodové ohodnocení jednotlivých parametrů. Zároveň tato kapitola popisuje rozdíly pro detekci při umístění jedné či dvou myši do chovné nádoby.

Poslední kapitola ukazuje statistické výsledky naměřených a vyhodnocených dat z validačního datasetu. Ať už z experimentálního pozorování nebo ze statistických výsledků se dá usuzovat, že zařízení funguje správně. Během validačního měření došlo z celkem 6 záchvatů k falešné negativní detekci pouze v jednom případě. Důvody této detekce jsou popsány v kapitole 5. V této kapitole je rovněž možné vidět statistické výsledky za použití metody ANOVA a lineární regrese, které popisovaly statistický význam jednotlivých parametrů. Z těchto výsledků se dá říci, že námi zvolené parametry se ukázaly jako signifikantní.

V budoucnu se počítá s následnou optimalizací zařízení a jeho uvedením do provozu při měření na 2.lékařské fakultě. Zároveň je plánována dodatečná úprava zařízení. Například: přizpůsobení rozměrů nádoby pro dvě i více myši, vývoj aplikace pro více než dvě myši v nádobě, či omezení počtu DAQ zařízení na pouze jedno, a tím následné výrazné finanční úspory. Jako další se jeví možnost vytvoření grafického uživatelského prostředí.

Literatura

- [1] World Health Organization. *Epilepsy*. 2024.
<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/epilepsy>. Accessed: 2024-05-20.
- [2] Wikipedie. *Epilepsie* — *Wikipedie: Otevřená encyklopedie*. 2024.
<https://cs.wikipedia.org/w/index.php?title=Epilepsie&oldid=23788591>.
[Online; navštíveno 21. 05. 2024].
- [3] Ettore Beghi, Giorgia Giussani, Emma Nichols, Foad Abd-Allah, Jemal Abdela, Ahmed Abdelalim, Haftom Niguse Abraha, Mina G. Adib, Sutapa Agrawal, Fares Alahdab, Ashish Awasthi, Yohanes Ayele, Miguel A Barboza, Abate Bekele Belachew, Belete Biadgo, Ali Bijani, Helen Bitew, Félix Carvalho, Yazan Chaiah, Ahmad Daryani, Huyen Phuc Do, Manisha Dubey, Aman Yesuf Yesuf Endries, Sharareh Eskandarieh, Andre Faro, Farshad Farzadfar, Seyed-Mohammad Feresh-tehnejad, Eduarda Fernandes, Daniel Obadare Fijabi, Irina Filip, Florian Fischer, Abadi Kahsu Gebre, Afewerki Gebremeskel Tsadik, Teklu Gebrehiwo Gebremichael, Kebede Embaye Gezae, Maryam Ghasemi-Kasman, Kidu Gidey Weldegwergs, Meaza Girma Degefa, Elena V. Gnedovskaya, Tekleberhan B Hagos, Arvin Haj-Mirzaian, Arya Haj-Mirzaian, Hamid Yimam Hassen, Simon I Hay, Mihajlo Jakovljevic, Amir Kasaeian, Tesfaye Dessale Kassa, Yousef Saleh Khader, Ibrahim Khalil, Ejaz Ahmad Khan, Jagdish Khubchandani, Adnan Kisa, Kristopher J Krohn, Chanda Kulkarni, Yirga Legesse Nirayo, Mark T Mackay, Marek Majdan, Azeem Majeed, Treh Manhertz, Man Mohan Mehndiratta, Tesfa Mekonen, Hagazi Gebre Meles, Getnet Mengistu, Shafiu Mohammed, Mohsen Naghavi, Ali H Mokdad, Ghulam Mustafa, Seyed Sina Naghibi Irvani, Long Hoang Nguyen, Molly R Nixon, Felix Akpojene Ogbo, Andrew T Olagunju, Tinuke O Olagunju, Mayowa Ojo Owolabi, Michael R Phillips, Gabriel David Pinilla-Monsalve, Mostafa Qorbani, Amir Radfar, Anwar Rafay, Vafa Rahimi-Movaghar, Nickolas Reinig, Perminder S Sachdev, Hosein Safari, Saeed Safari, Saeid Safiri, Mohammad Ali Sahraian, Abdallah M. Samy, Shahabeddin Sarvi, Monika Sawhney, Masood A Shaikh, Mehdi Sharif, Gagandeep Singh, Mari Smith, Cassandra E I Szoeke, Rafael Tabarés-Seisdedos, Mohamad-Hani Temsah, Omar Temsah, Miguel Tortajada-Girbés, Bach Xuan Tran, Amanuel Amanuel Tesfay Tsegay, Irfan Ullah, Narayanaswamy Venketasubramanian, Ronny Westerman, Andrea Sylvia Winkler, Ebrahim M Yimer, Naohiro Yonemoto, Valery L. Feigin, Theo Vos a Christopher J L Murray. Global, regional, and national burden of epilepsy, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *The Lancet Neurology*. 2019, 18 (4), 357-375. DOI 10.1016/S1474-4422(18)30454-X.
- [4] Robert S. Fisher, Carlos Acevedo, Alexis Arzimanoglou, Alicia Bogacz, J. Helen Cross, Christian E. Elger, Jerome Engel Jr, Lars Forsgren, Jacqueline A. French, Mike Glynn, Dale C. Hesdorffer, B.I. Lee, Gary W. Mathern, Solomon L. Moshé, Emilio Perucca, Ingrid E. Scheffer, Torbjörn Tomson, Masako Watanabe a Samuel

- Wiebe. ILAE Official Report: A practical clinical definition of epilepsy. *Epilepsia*. 2014, 55 (4), 475-482. DOI <https://doi.org/10.1111/epi.12550>.
- [5] G. L. Harden. *Epilepsy Syndromes: Syndromes by Age*. 2008. <https://www.epilepsy.com/what-is-epilepsy/syndromes>. Epilepsy Foundation.
- [6] Sanjay M Sisodiya, Susanne Fauser, J Helen Cross a Maria Thom. Focal cortical dysplasia type II: biological features and clinical perspectives. *The Lancet Neurology*. 2009, 8 (9), 830-843. DOI 10.1016/S1474-4422(09)70201-7.
- [7] Najm, I., Lal, D., Alonso Vanegas, M., Cendes, F., Lopes-Cendes, I., Palmieri, A., Paglioli, E., Sarnat, H. B., Walsh, C. A., Wiebe, S., Aronica, E., Baulac, S., Coras, R., Kobow, K., Cross, J. H., Garbelli, R., Holthausen, H., Rössler, K., Thom, M., El-Osta, A. a I. Blümcke. The ILAE consensus classification of focal cortical dysplasia: An update proposed by an ad hoc task force of the ILAE diagnostic methods commission. *Epilepsia*. 2022, 63 (8), 1899–1919. DOI 10.1111/epi.17301.
- [8] Ph.D. MUDr. Martin Kudr. Malformace kortikálního vývoje a jejich epileptochirurgie. *Neurologie pro praxi*. 2022.
- [9] Thomas Gschwind, Ahmad Zeine, Ivan Raikov, Jonathan E. Markowitz, William F. Gillis, Sean Felong, Lori L. Isom, Sandeep R. Datta a Ivan Soltesz. Hidden behavioral fingerprints in epilepsy. *Neuron*. 2023, 111 (9), 1440–1452.e5. DOI 10.1016/j.neuron.2023.02.003.
- [10] M Levesque a M Avoli. The kainic acid model of temporal lobe epilepsy. *Neuroscience and biobehavioral reviews*. 2013, 37 (10 Pt 2), 2887–2899. DOI 10.1016/j.neubiorev.2013.10.011.
- [11] WikiSkripta. *GABA* — . 2019. <https://www.wikiskripta.eu/index.php?title=GABA&oldid=424138>. [Online; navštíveno 20. 05. 2024.
- [12] Wikipedie. *Pentylentetrazol* — *Wikipedie: Otevřená encyklopedie*. 2023. <https://cs.wikipedia.org/w/index.php?title=Pentylentetrazol&oldid=23197884>. [Online; navštíveno 20. 05. 2024.
- [13] Shashidhar N. Mandhane, Kavita Aavula a Thangavelu Rajamannar. Timed pentylentetrazol infusion test: a comparative analysis with s.c.PTZ and MES models of anticonvulsant screening in mice. *Seizure*. 2007, 16 (7), 636–644. DOI 10.1016/j.seizure.2007.05.005.
- [14] Tsuyoshi Shimada a Katsuji Yamagata. Pentylentetrazole-Induced Kindling Mouse Model. *Journal of Visualized Experiments*. 2018, (136), 56573. DOI 10.3791/56573.
- [15] Jan Van Erum, Dieter Van Dam a Peter P. De Deyn. PTZ-induced seizures in mice require a revised Racine scale. *Epilepsy & Behavior*. 2019, 95 51–55. DOI 10.1016/j.yebeh.2019.02.029.
- [16] M. I. Carreño-Muñoz, M. C. Medrano, A. Ferreira Gomes Da Silva, C. Gestreau, C. Menuet, T. Leinekugel, M. Bompert, F. Martins, E. Subashi, F. Aby, A. Frick, M. Landry, M. Grana a X. Leinekugel. Detecting fine and elaborate movements with piezo sensors provides non-invasive access to overlooked behavioral components. *Neuropsychopharmacology: official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*. 2022, 47 (4), 933–943. DOI 10.1038/s41386-021-01217-w.

-
- [17] Metris. *Laboras: Automated Animal Behavior Recognition*.
<https://www.metris.nl/en/products/laboras/>. 2020. Accessed: 20-May-2024.
- [18] Metris. *Metris - Laboras Release 2. Laboras 2 - Product information sheet*.
<https://www.metris.nl/en/products/laboras/laboras2>. 2006. Accessed: 2024.
- [19] Michael Kuo. *PT-2728WQ*.
<https://hitpoint.com.tw/product/pt-2728wq/>.
- [20] *CONDENSER MICROPHONE CMA-4544PF-W*. 2022.
<https://www.cuidevices.com/product/resource/cma-4544pf-w.pdf>.
- [21] *Amplifier with AGC and Low-Noise Microphone Bias MAX9814*. 2022.
<https://www.analog.com/media/en/technical-documentation/data-sheets/MAX9814.pdf>.
- [22] *MAX9814 CMA-4544PF-W modul mikrofonu s zesilovačem MAX9814*. 2024.
https://www.laskakit.cz/max9814-cma-4544pf-w-modul-mikrofonu-s-zesilovacem-max9814/?gad_source=1&gclid=Cj0KCQjwxeyxBhC7ARIsAC7dS39mshC_fyuR4e8hq0dnSMidW04bl2i7fCfKMv3S6IQoNy_eM3C81bYaApHMEALw_wcB.
- [23] *Ausdom AW635 1080p 12MP PC web camera - black*. 2023.
<https://amptek.co.za/product/ausdom-aw635-1080p-12mp-pc-web-camera-black/>.
- [24] *USB-6001 specifications*. 2023.
<https://www.ni.com/docs/en-US/bundle/usb-6001-specs/resource/374369a.pdf>.
- [25] *USB-6003 specifications*. 2023.
<https://www.ni.com/docs/en-US/bundle/usb-6003-specs/resource/374372a.pdf>.

Příloha **A**

Seznam použitých zkratk

ANOVA	■	Analysis of variance, Analýza rozptylu
DAQ	■	Data Aquisition, Získávání dat
EEG	■	Elektroencefalograf
FCD	■	Focal Cortical Dysplasia, Fokální kortikální dysplázie
ILAE	■	International League Against Epilepsy, Mezinárodní liga proti epilepsii
MRI	■	Magnetic Resonance Imaging, Magnetická resonance
NI	■	National Instruments
PTZ	■	Pentylentetrazol
SEEG	■	Stereo Elektroencefalograf
WHO	■	World Health Organization, Světová zdravotnická organizace

Příloha B

Kód aplikace pro detekci záchvatů

Parametric condition for single mouse monitoring

```
% Nastavení limitů parametrů

%Autocorrelation limits
autocorr_low = 0.11;
autocorr_high = 0.2;

% Piezosenzors amplitude limits
piezo_max = 0.3;
piezo_max_high = 0.5;

piezo_min = -0.3;
piezo_min_low = -0.5;

piezo_diff = 0.4;
piezo_diff_high = 0.9;

%Middle frequencies power
power= -85;
power_high = -70;

%Dominant frequency power
freq_high = 55;
freq_low = 30;

%Microphone amplitude and frequency
mic_max = 0.8;
mic_max_high = 1;

mic_min = -0.8;
mic_min_low = -1.1;

mic_diff = 1.6;
mic_diff_high = 1.9;

mic_freq = 200;

%Set path to directory with "framing" function
addpath('D:\Škola\ČVUT\Diplomka\Matlab\Records');

%Do not change this variables
start = 1;
index = 0;
false_p = 0;
% multiparam = [];
```

```

S = dir(fullfile('*.*mat'));
S = struct2table(S);
[~,idx] = sort([S.date]);
names = string(S.name(idx));
len = length(names)-1;
clear S

for l = start:2:len

    %% Načítání dat avýpis kontrolovaného segmentu
    fprintf("Currently checking segment: %d\n",l-index);
    filename = names(l);
    piezo = load(filename);
    piezo = piezo.piezo;
    filename = names(l+1);
    mic = load(filename);
    mic = mic.mic;

    piezo1 = [piezo.Dev1_ai7, piezo.Dev1_ai4, piezo.Dev1_ai5, piezo.Dev1_ai6,
piezo.Dev1_ai0];
    t = seconds(piezo.Time);
    p1 = piezo1(:,1);
    p2 = piezo1(:,2);
    p3 = piezo1(:,3);
    p4 = piezo1(:,4);
    pulse = piezo1(:,5);

    fs = 4000;

    p1 = p1 - mean(p1);
    p2 = p2 - mean(p2);
    p3 = p3 - mean(p3);
    p4 = p4 - mean(p4);

    mic1 = [mic.Dev2_ai0];
    mic1 = mic1(:,1);
    t_mic = seconds(mic.Time);
    fs_mic = 30000;
    mic1 = mic1 - 1.25;
    mic1 = highpass(mic1,125,fs_mic);

    sec = 90;

    frlen = sec*fs;

    frlen = cast(frlen,"uint32");
    frlen = cast(frlen,"double");

```

```

%% Segmentace signálu
hop = round(frlen*(1/2));
[FRM_p1, tfrm] = framing(p1, frlen, hop, fs);
[FRM_p2, ~] = framing(p2, frlen, hop, fs);
[FRM_p3, ~] = framing(p3, frlen, hop, fs);
[FRM_p4, ~] = framing(p4, frlen, hop, fs);

frlen = sec*fs_mic;

frlen = cast(frlen,"uint32");
frlen = cast(frlen,"double");

hop = round(frlen*(1/2));
[FRM_mic, tfrm] = framing(mic1, frlen, hop, fs_mic);
params = zeros(length(FRM_p1(1,:)),7);

%% Autokorelační funkce
score = 0;
for j = 1:length(FRM_p1(1,:))
    for i = 1:4
        if i==1
            sig = FRM_p1(:,j);
        end
        if i==2
            sig = FRM_p2(:,j);
        end
        if i==3
            sig = FRM_p3(:,j);
        end
        if i==4
            sig = FRM_p4(:,j);
        end
        [acf,lags] = autocorr(sig,NumLags=180);
        acf=-acf;
        [pks,~] = findpeaks(acf);
        if length(pks)<2
            continue
        end
        peak_y=pks(1);
        peak_y2=pks(2);
        peak_diff = abs(peak_y - peak_y2);

        if (peak_diff > autocorr_low) && (peak_diff < autocorr_high)
            score = score +1;
        end
    end
end
if (score >= 2)

```



```

        params(j,1) = params(j,1) +2;
    end
    params(j,3) = score;
    score = 0;
end

    %% Amplituda z piezo-měničů
score=0;
for j=1:length(FRM_p1(1,:))
    for i=1:4
        if i==1
            sig = FRM_p1(:,j);
        end
        if i==2
            sig = FRM_p2(:,j);
        end
        if i==3
            sig = FRM_p3(:,j);
        end
        if i==4
            sig = FRM_p4(:,j);
        end
    end
    [ma,max_idx] = max(sig);
    [mi,min_idx] = min(sig);

    if (max_idx+fs) > length(sig)
        max_sig=sig(max_idx-fs:end);
    elseif (max_idx-fs <= 0)
        max_sig=sig(1:max_idx+fs);
    else
        max_sig=sig(max_idx-fs:max_idx+fs);
    end

    if (min_idx+fs) > length(sig)
        min_sig=sig(min_idx-fs:end);
    elseif (min_idx-fs <= 0)
        min_sig=sig(1:min_idx+fs);
    else
        min_sig=sig(min_idx-fs:min_idx+fs);
    end

    min_maxsig = min(max_sig);
    max_minsig = max(min_sig);

    max_diff = abs(ma - min_maxsig);
    min_diff = abs(mi - max_minsig);

    if (max_diff > min_diff)
        diffi = max_diff;
        mi = min_maxsig;
    end
end

```

```
else
    diffi = min_diff;
    ma = max_minsig;
end

    if (ma > piezo_max)
        score = score +1;
        if (ma > piezo_max_high)
            score = score +2;
        end
    end

    if (mi < piezo_min)
        score = score +1;
        if (mi < piezo_min_low)
            score = score +2;
        end
    end

    if (diffi > piezo_diff)
        score = score +1;
    end

    if (diffi > piezo_diff_high)
        score = score +2;
    end

    if score>=2
        params(j,1) = params(j,1) +1;
        params(j,2) = params(j,2) + 1;
    end

    if score>=5
        params(j,1) = params(j,1) +2;
        params(j,2) = params(j,2) + 2;
    end

    score = 0;
end

end

%% Energie středních kmitočů
for j=1:length(FRM_p1(1,:))
    for i=1:4
        if i==1
            sig = FRM_p1(:,j);
        end
        if i==2
            sig = FRM_p2(:,j);
        end
        if i==3
            sig = FRM_p3(:,j);
        end
    end
end
```



```

        params(j,1) = params(j,1) +2;
    end
    params(j,4) = score;
    score = 0;
end

    %% Vyhodnocení signálu z mikrofonu
p = min(length(FRM_p1(1,:)),length(FRM_mic(1,:)));
score = 0;
for i=1:p
    sig = FRM_mic(:,i);

    [ma,max_idx] = max(sig);
    [mi,min_idx] = min(sig);

    if (max_idx+(fs_mic/2)) > length(sig)
        max_sig=sig((max_idx-(fs_mic/2)):end);
    elseif (max_idx-(fs_mic/2) <= 0)
        max_sig=sig(1:max_idx+(fs_mic/2));
    else
        max_sig=sig(max_idx-(fs_mic/2):max_idx+(fs_mic/2));
    end

    if (min_idx+(fs_mic/2)) > length(sig)
        min_sig=sig(min_idx-(fs_mic/2):end);
    elseif (min_idx-(fs_mic/2) <= 0)
        min_sig=sig(1:min_idx+(fs_mic/2));
    else
        min_sig=sig(min_idx-(fs_mic/2):min_idx+(fs_mic/2));
    end

    min_maxsig = min(max_sig);
    max_minsig = max(min_sig);

    max_diff = abs(ma - min_maxsig);
    min_diff = abs(mi - max_minsig);

    if (max_diff > min_diff)
        mic_diffi = max_diff;
        mi = min_maxsig;
    else
        mic_diffi = min_diff;
        ma = max_minsig;
    end

    if ma > mic_max
        params(i,1) = params(i,1) +1;
    end

    if ma > mic_max_high

```

```

        params(i,1) = params(i,1) +2;
        params(i,6) = params(i,6) + 2;
    end

    if mi < mic_min
        params(i,1) = params(i,1) +1;
        params(i,6) = params(i,6) + 1;
    end

    if mi < mic_min_low
        params(i,1) = params(i,1) +2;
        params(i,6) = params(i,6) + 2;
    end

    if mic_diff_i > mic_diff
        params(i,1) = params(i,1) +1;
        params(i,6) = params(i,6) + 1;
    end

    if mic_diff_i > mic_diff_high
        params(i,1) = params(i,1) +2;
        params(i,6) = params(i,6) + 2;
    end
    score = 0;

    y = fft(FRM_mic(:,i));
    n = length(y);
    f = (0:n-1)*fs_mic/n;
    power_mic = abs(y).^2/n;
    [~,idx]=max(power_mic);
    freq = f(idx);
    if (freq < mic_freq)
        params(i,1) = params(i,1) +1;
    end
    params(i,7) = freq;
end

possible_seizure = (find(params(:,1))>=10 & params(:,1)<17)';
seizure = (find(params(:,1))>=17)';
Max_score = max(params(:,1))

%% Vyhodnocení výsledků a výpis dat v tabulce
if length(possible_seizure)>=1 || length(seizure)>=1
    false_p = false_p + 1; %Počet falešně pozitivních segmentů
    times = zeros(length(possible_seizure),2);
    times(:,1)=(tfrm(possible_seizure)-(sec/2))/60;
    times(:,2)=(tfrm(possible_seizure)+(sec/2))/60;
    disp(1-index);
end

```

```
disp(names(1));
disp('Possible seizure:');
disp(possible_seizure);
disp('Time of possible seizures');
disp(times);
% disp(tab);
if length(seizure) >= 1
disp('Seizure:')
disp(seizure)
times = zeros(length(seizure),2);
times(:,1)=(tfrm(seizure)-(sec/2))/60;
times(:,2)=(tfrm(seizure)+(sec/2))/60;
disp('Time of seizures');
disp(times);
end
% Tabulka s jednotlivými parametry a vypočteným skóre
types=["Score", "Amplitude",
"Autocorr", "Dominant_freq", "Freq_energy", "Mic_amplitude", "Mic_frequency"];
tab =
table(params(:,1),params(:,2),params(:,3),params(:,4),params(:,5),params(:,6),param
s(:,7),VariableNames=types);
start = 1+2;
index = index + 1;
break;
end
index = index + 1;
end

if l==len && isempty(possible_seizure)
disp('Done')
end
```