



**ČESKÉ VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V PRAZE**

---

**FAKULTA BIOMEDICÍNSKÉHO INŽENÝRSTVÍ**  
**Katedra biomedicínské techniky**

**Mikrostavy při hodnocení animálních záznamů EEG**

**Evaluation of animal EEG recordings by microstate analysis**

Diplomová práce

Studijní program: Biomedicínská a klinická technika

Studijní obor: Biomedicínský inženýr

Vedoucí práce: Ing. Václava Piorecká, Ph.D.

**Bc. Petra Pešková**

---

**Kladno 2020**

## I. OSOBNÍ A STUDIJNÍ ÚDAJE

Příjmení: **Pešková** Jméno: **Petra** Osobní číslo: **434190**  
Fakulta: **Fakulta biomedicínského inženýrství**  
Garantující katedra: **Katedra biomedicínské techniky**  
Studijní program: **Biomedicínská a klinická technika**  
Studijní obor: **Biomedicínský inženýr**

## II. ÚDAJE K DIPLOMOVÉ PRÁCI

Název diplomové práce:

**Mikrostavy při hodnocení animálních záznamů EEG**

Název diplomové práce anglicky:

**Evaluation of animal EEG recordings by microstate analysis**

Pokyny pro vypracování:

Zjistěte zda je možné aplikovat analýzu prostřednictvím mikrostavů na záznamy EEG u potkanů kmene Wistar a zjistěte, do kolika tříd je v tomto případě možné mikrostavy klasifikovat. Prostřednictvím programovacího jazyka MATLAB vytvořte metodiku pro hodnocení animálních záznamů EEG. Animální EEG záznamy analyzujte pomocí mikrostavů. Implementujte výpočet křivky globálního výkonu pole a parametrů pro hodnocení jednotlivých mikrostavů. Pro reálnou aplikaci vytvořte šablonu pro zobrazení mozku potkana kmene Wistar ve 2D prostoru včetně rozmístění elektrod. Předzpracujte (filtrace, montage) alespoň 10 reálných animálních záznamů EEG. Prostřednictvím implementované metodiky analýzy mikrostavů vyhodnoťte tyto předzpracované záznamy. Diskutujte vhodný parametr pro stanovení počtu mikrostavů pro potkany kmene Wistar. Získané výsledky vyhodnoťte.

Seznam doporučené literatury:

- [1] Arjun Khanna, Alvaro Pascual-Leone, Christoph M. Michel, and Faranak Farzan, Microstates in Resting-State EEG: Current Status and Future Directions, Neuroscience & Biobehavioral Reviews, ročník 49, číslo 1, 2014, 105-113 s., DOI: 10.1016/j.neubiorev.2014.12.010
- [2] Lehmann, D., Pascual-Marqui, R.D., Michel, C., EEG microstates, 2009, [http://www.scholarpedia.org/article/EEG\\_microstates](http://www.scholarpedia.org/article/EEG_microstates)
- [3] Michel, Christoph M. a Thomas Koenig, EEG microstates as a tool for studying the temporal dynamics of whole-brain neuronal networks: A review, Neuroimage, ročník 180, 2018

Jméno a příjmení vedoucí(ho) diplomové práce:

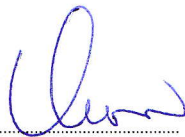
**Ing. Václava Piorecká, Ph.D.**

Jméno a příjmení konzultanta(ky) diplomové práce:

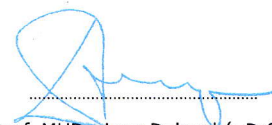
**Ing. Marek Piorecký, Mgr. Čestmír Vejmla**

Datum zadání diplomové práce: **10.02.2020**

Platnost zadání diplomové práce: **19.09.2021**



prof. Ing. Peter Kneppo, DrSc., dr.h.c.  
podpis vedoucí(ho) katedry



prof. MUDr. Ivan Dylevský, DrSc.  
podpis děkana(ky)

### III. PŘEVZETÍ ZADÁNÍ

Student(ka) bere na vědomí, že je povinnen(a) 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.

14.5.2020

Datum převzetí zadání



Podpis studenta(ky)

## Prohlášení

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci s názvem „Mikrostavy při hodnocení animálních záznamů EEG“ vypracovala samostatně a použila k tomu úplný výčet citací použitých pramenů, které uvádím v seznamu přiloženém k diplomové práci.

Nemám závažný důvod proti užití tohoto školního díla ve smyslu §60 Zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů.

V Kladně dne .....

.....

**Bc. Petra Pešková**

## Poděkování

Ráda bych poděkovala své vedoucí práce Ing. Václavě Piorecké, Ph.D. za její přístup a odborné vedení po celou dobu vzniku diplomové práce. Dále patří velké poděkování Ing. Vlastimilovi Koudelkovi, PhD. a Mgr. Čestmíru Vejmolovi za velmi přínosné konzultace, které mi pomohly lépe se orientovat v oboru. Nakonec bych ráda poděkovala rodině a hlavně manželovi, kteří se mnou po celou dobu realizace diplomové práce měli hodně trpělivosti. Tato diplomová práce vznikla za podpory grantu SGS číslo SGS18/158/OHK4/2T/17 s názvem Topografické mapování v EEG.

# ABSTRAKT

## Mikrostavy při hodnocení animálních záznamů EEG:

Diplomová práce se zabývá návrhem a implementací metodiky analýzy mikrostavů v 19kanálovém záznamu EEG u potkanů kmene Wistar. Pro implementaci byl využit software MATLAB s doplňkovým toolboxem EEGlab a pluginem Microstates. Optimální počet mikrostavů byl určen na základě krosvalidačního kritéria a meta-kritéria. Dle těchto kritérií byly na fyziologickém záznamu EEG osmi potkanů kmene Wistar stanoveny tři mikrostavy, jejichž procentuální vysvětlenost signálu se pohybuje kolem 75 %. U mikrostavů byly zkoumány následující parametry: průměrná délka trvání, výskyt v mikrostavech a frekvence výskytu. Průměrná doba trvání se u jednotlivých mikrostavů pohybuje kolem 90-150 ms, výskyt v mikrostavech kolem 0,26-0,40 a frekvence výskytu pak mezi 2,31-3,31 s<sup>-1</sup>. Analýza mikrostavů byla dále použita pro porovnání mozkové aktivity potkanů, pro různé typy filtrace dat a pro porovnání mikrostavů před a po podání psilocinu. Po podání psilocinu byl statisticky prokázán signifikantní nárůst frekvence výskytu MS2 a pokles MS1. Stejnou tendenci u MS1 a MS2 lze nalézt i při vyhodnocení parametru výskyt v mikrostavech. Implementovaná metodika pro hodnocení záznamů EEG u potkanů kmene Wistar byla dle dostupné literatury použita poprvé. Výstupy této práce včetně implementované metodiky lze využít v rámci translačního výzkumu léčiv.

## Klíčová slova

EEG, mikrostavy, MATLAB, translační výzkum, potkani kmene Wistar, EEGlab

# **ABSTRACT**

## **Evaluation of animal EEG recordings by microstate analysis:**

This master's thesis focuses on the design and implementation of a methodology for microstates analysis in Wistar rats with 19-electrode recording EEG system. MATLAB software with additional toolbox EEGLab and plugin Microstates were used for the implementation. The optimal number of microstates was selected according to the cross-validation criterion and metacriterion. Based on these criteria, three microstates were identified on the physiological EEG recordings of eight Wistar rats. The global explained variance for three microstates was around 75 %. Following microstates parameters were evaluated: duration, occurrence and contribution. Duration of individual microstates was around 90-150 ms, the contribution was around 0.26-0.40 and the occurrence was between 2.31-3.31 s<sup>-1</sup>. Microstate analysis was used to compare the brain activity of rats, to compare different ranges of data filtration and to compare microstates before and after psilocin administration. After the psilocin administration, there was a statistically significant increase in the frequency of MS2 and a decrease in MS1. The same tendency for MS1 and MS2 can be found also when evaluating the occurrence parameter. According to the available literature, this is the first implementation of the methodology for evaluating EEG recordings in Wistar rats. The outputs of this work, including the implemented methodology, can be further used in translational drug research.

## **Key words**

EEG, microstates, MATLAB, translational research, Wistar rats, EEGLab

# Obsah

<b>Seznam symbolů a zkratk</b> . . . . .	<b>9</b>
<b>Seznam tabulek</b> . . . . .	<b>10</b>
<b>Seznam obrázků</b> . . . . .	<b>11</b>
<b>1 Úvod</b> . . . . .	<b>13</b>
<b>2 Přehled současného stavu</b> . . . . .	<b>14</b>
2.1 Elektroencefalografie a varianty měření . . . . .	14
2.2 Animální model schizofrenie . . . . .	16
2.3 Mikrostav v EEG . . . . .	16
<b>3 Cíle práce</b> . . . . .	<b>20</b>
3.1 Dílčí cíl 1: Provést předzpracování nasnímaného signálu . . . . .	20
3.2 Dílčí cíl 2: Navrhnout metodiku analýzy záznamů EEG . . . . .	20
3.3 Dílčí cíl 3: Definovat parametr pro stanovení počtu mikrostavů . . . . .	20
3.4 Dílčí cíl 4: Stanovit a vyhodnotit parametr pro statistické vyhodnocení mikrostavů . . . . .	20
<b>4 Metody</b> . . . . .	<b>21</b>
4.1 Data . . . . .	21
4.1.1 Protokol experimentu . . . . .	21
4.1.2 Pozice elektrod . . . . .	22
4.2 Programové prostředí . . . . .	23
4.3 Předzpracování signálu EEG . . . . .	24
4.3.1 Montáž . . . . .	25
4.3.2 Výběr pasivních úseků signálu EEG . . . . .	25
4.3.3 Odstranění artefaktů . . . . .	26
4.3.4 Filtrace . . . . .	28
4.4 Analýza mikrostavů . . . . .	28
4.4.1 Klastrování signálu . . . . .	29
4.4.2 Optimální počet mikrostavů . . . . .	31
4.4.3 Mapy mikrostavů . . . . .	33
4.4.4 Šablony pro topografické mapy a třídění map mikrostavů . . . . .	33
4.4.5 Tvorba a zobrazení map mikrostavů . . . . .	34
4.4.6 Interpolace . . . . .	34
4.4.7 Parametry mikrostavů . . . . .	37
4.5 Statistické vyhodnocení . . . . .	38
4.5.1 Testování normality dat . . . . .	38



4.5.2	T-test	39
<b>5</b>	<b>Výsledky</b>	<b>40</b>
5.1	Předzpracování dat	40
5.2	Analýza mikrostavů a jejich zobrazení	43
5.2.1	Stanovení optimálního počtu mikrostavů	43
5.2.2	Mapy mikrostavů	46
5.3	Statistické vyhodnocení	50
<b>6</b>	<b>Diskuze</b>	<b>55</b>
6.1	Diskuze vlivu filtrace na výsledek MS analýzy	55
6.2	Diskuze počtu mikrostavů	56
6.3	Diskuze změny charakteru mikrostavů vlivem podání léčiva	58
6.4	Diskuze shrnutí	59
<b>7</b>	<b>Závěr</b>	<b>60</b>
	Seznam použité literatury	61
	Příloha A: Obsah přiloženého DVD	68
	Příloha B: Publikovaný článek	68
	Příloha C: Seznam implementovaných funkcí a skriptů	73

# Seznam symbolů a zkratek

## Seznam symbolů

Symbol	Jednotka	Význam
$C$	-	počet kanálů EEG
$d_i$	s	délka trvání mikrostavu
$f$	Hz	frekvence
$k$	-	aktuální klastr
$K$	-	počet klastrů
$n$	-	aktuální vzorek
$N$	-	počet vzorků
$V$	$\mu V$	napětí

## Seznam zkratek

Zkratka	Význam
AAHC	atomizované a aglomerativní hierarchické shlukování (Atomize and Agglomerate Hierarchical Clustering)
bandpass	pásmová propust
CV kritérium	krosvalidační kritérium (cross-validation criterion)
EEG	elektroencefalograf
fMRI	funkční magnetická rezonance
GUI	grafické uživatelské rozhraní
GFP	rozptyl přes elektrody (global field power)
GEV	procentuální vysvětlenost dat (global explained variance)
MS	mikrostav
IQM	mezikvartilový průměr (interquantil mean)
IQR	mezikvartilový rozsah (interquantil range)
KL kritérium	Krzanowski-Lai kritérium

## Seznam tabulek

5.1	Ukázka hodnot parametrů pro výpočet metakritéria pro jeden subjekt.	44
5.2	Průměrné parametry tříd mikrostavů při použití filtrace 2-20 Hz. . . .	50
5.3	Průměrné parametry tříd mikrostavů při použití filtrace 1-40 Hz. . . .	50
5.4	Výsledky testování normality parametrů pomocí JB testu pro data po filtraci ve frekvenčním rozsahu 1-40 Hz. V tabulce jsou uvedeny p-hodnoty a výsledek přijmutí či zamítnutí nulové hypotézy při hladině významnosti $\alpha = 0,05$ . . . . .	51
5.5	Výsledky testování normality parametrů pomocí JB testu pro data po filtraci ve frekvenčním rozsahu 2-20 Hz. V tabulce jsou uvedeny p-hodnoty a výsledek přijmutí či zamítnutí nulové hypotézy při hladině významnosti $\alpha = 0,05$ . . . . .	51
5.6	Výsledky párového t-testu při porovnávání dat před a po podání látky pro data po filtraci ve frekvenčním rozsahu 1-40 Hz. V tabulce jsou uvedeny p-hodnoty a výsledek přijmutí či zamítnutí nulové hypotézy při hladině významnosti $\alpha = 0,05$ . . . . .	52
5.7	Výsledky párového t-testu při porovnávání dat před a po podání látky pro data po filtraci ve frekvenčním rozsahu 2-20 Hz. V tabulce jsou uvedeny p-hodnoty a výsledek přijmutí či zamítnutí nulové hypotézy při hladině významnosti $\alpha = 0,05$ . . . . .	52
5.8	Výsledky nepárového t-testu pro parametr délka trvání MS při porovnávání dat před a po podání psilocinu. V tabulce je uvedena p-hodnota při hladině významnosti 5 %. Porovnávání byli potkani jakožto skupina. . . . .	52
5.9	Příspěvek GEV v % pro každý MS při určitém počtu mikrostavů před podáním látky. . . . .	53
5.10	Příspěvek GEV v % pro každý MS při určitém počtu mikrostavů po podání látky . . . . .	54

## Seznam obrázků

2.1	Potkan kmene Wistar s implantovanými elektrodami. . . . .	15
2.2	Uspořádání elektrod na mozku potkana. . . . .	16
2.3	Třídy mikrostavů v lidském EEG signálu dle Königa. Převzato z [26] a upraveno. . . . .	17
2.4	Ukázka vzorových topografických map mikrostavů z různých studií. Ve sloupcích jsou postupně uvedeny studie, počet elektrod, počet sub- jektů, filtrované pásmo a GEV. Pomocí NR je znázorněna absence údaje ve studii. Převzato z [21] a upraveno. . . . .	19
4.1	Systém uspořádání elektrod 10-20 u člověka. Převzato z [42]. . . . .	22
4.2	Uspořádání elektrod na mozku potkana. Převzato z [13] a upraveno. .	23
4.3	GUI toolboxu EEGlab. Obrázek vytvořen autorem v programovém prostředí EEGlab [44]. . . . .	24
4.4	Schéma předzpracování signálu. . . . .	25
4.5	Příklad aplikace montáže (průměrná reference) u elektrody FP1. Převzato z [46] a upraveno. . . . .	25
4.6	Na obrázku je zřetelné síťové rušení (50 Hz). Převzato z [54] a upraveno.	27
4.7	Na obrázku je zřetelné pohybové rušení viditelné změnou amplitudy a svalové rušení projevující se vysokou frekvencí. Převzato z [54] a upraveno. . . . .	27
4.8	Filtr pásmová propust. Vytvořeno autorem v programu MATLAB [43], filterDesigner. . . . .	28
4.9	Znázorněna je GFP křivka. Každá barva reprezentuje jeden mikrostav.	29
4.10	Vývojový diagram algoritmu AAHC nalevo a k-means napravo. . . . .	30
4.11	Příklad spline interpolace - převzato z [66] . . . . .	35
4.12	Příklad 3D barycentrické interpolace. . . . .	35
4.13	Příklad 3D sférické spline interpolace. Převzato z [67] a upraveno. . .	36
4.14	Příklad 3D spline interpolace. Převzato z [67] a upraveno. . . . .	36
5.1	Záznam EEG potkana kmene Wistar bez jakéhokoliv předzpracování.	40
5.2	Průměrná reference záznamu EEG potkana kmene Wistar. . . . .	41
5.3	Záznam po odstranění aktivních behaviorálních segmentů. . . . .	41
5.4	Záznam před odstraněním artefaktu vlevo a po odstranění artefaktu vpravo. . . . .	42
5.5	Záznam po filtraci 1-40 Hz. . . . .	42
5.6	Spektrum po odstranění aktivních behaviorálních segmentů vlevo a před odstraněním aktivních behaviorálních segmentů vpravo. . . . .	43
5.7	Výsledek výpočtu jedné iterace metakritéria pro jeden subjekt. . . . .	44
5.8	Optimální počet MS pomocí metakritéria pro všechny subjekty. . . . .	45
5.9	Optimální počet MS pomocí CV kritéria - pro všechny subjekty. . . . .	45

5.10	Optimální počet MS pomocí CV kritéria - jeden subjekt, průměr ze 100 výběrů GFP špiček. . . . .	46
5.11	Mapy mikrostavů při rozložení elektrod jako u člověka A-B) a potkana C-D), přičemž filtrace dat byla rozdílná: A), C) filtrace 1-40 Hz B), D) filtrace 2-20 Hz. . . . .	47
5.12	Mapy mikrostavů pro průměry skupin dat získaných z potkanů před a po podáním psilocinu. . . . .	48
5.13	Mapy mikrostavů pro jednotlivé počty MS. . . . .	49
5.14	GEV souhrn pro všechny subjekty. . . . .	53
5.15	GEV pro jednotlivé počty mikrostavů před a po podání látky. Boxplot vlevo znázorňuje rozložení GEV před podáním látky (boxplot je znázorněný modrou barvou), zatímco boxplot vpravo po podání látky (boxplot je znázorněný zelenou barvou). . . . .	54

# 1 Úvod

Lidský mozek je velmi komplexní a je složen ze stovek miliard neuronů [1], jejichž propojení a procesy v nich probíhající jsou velmi složité a do dnešní doby ne úplně pochopené [2]. Aktivitu mozku je možné sledovat prostřednictvím elektrického či magnetického pole. Využití záleží na tom, za jakým účelem je signál snímán. Pokud je cílem výzkumu sledování rozlišení signálu v čase, tak je lepší zvolit snímání aktivity mozku pomocí elektroencefalografu (EEG) [3, 4].

Studium EEG je velmi zásadní, přestože zatím není přesně známo, co vše lze z tohoto druhu signálu zjistit. Zpracování EEG je předmětem aktivního výzkumu, jak v oblasti snímání signálu, tak i jeho vyhodnocování směřující k objasnění zaznamenaných anomálií, které se často pojí s nějakým onemocněním.

Tato diplomová práce se zabývá analýzou EEG signálů a to konkrétně mikrostavů nalezených v EEG záznamu u potkanů kmene Wistar. U lidských subjektů bylo vícekrát experimentálně ověřeno, že analýza mikrostavů může pomoci při detekci chorob například u schizofrenie [5]. U zvířat ovšem nebyla obdobná analýza nikdy prováděna, a proto mohou být experimentální zjištění důležitým přínosem. Potkani kmene Wistar jsou tradičním animálním laboratorním subjektem, který se používá k různým experimentům především v oblasti testování léčiv či zkoumání funkcionalit mozku. Výsledky zjištěné v rámci této diplomové práce mohou pomoci při osvětlení funkcionalit mozku potkana a díky tomu i v translačním výzkumu.

## 2 Přehled současného stavu

Přehled aktuálního stavu řešené problematiky se zabývá především oblastí analýzy EEG, variantami měření EEG u zvířat, animálním modelem schizofrenie a definicí mikrostavů.

### 2.1 Elektroencefalografie a varianty měření

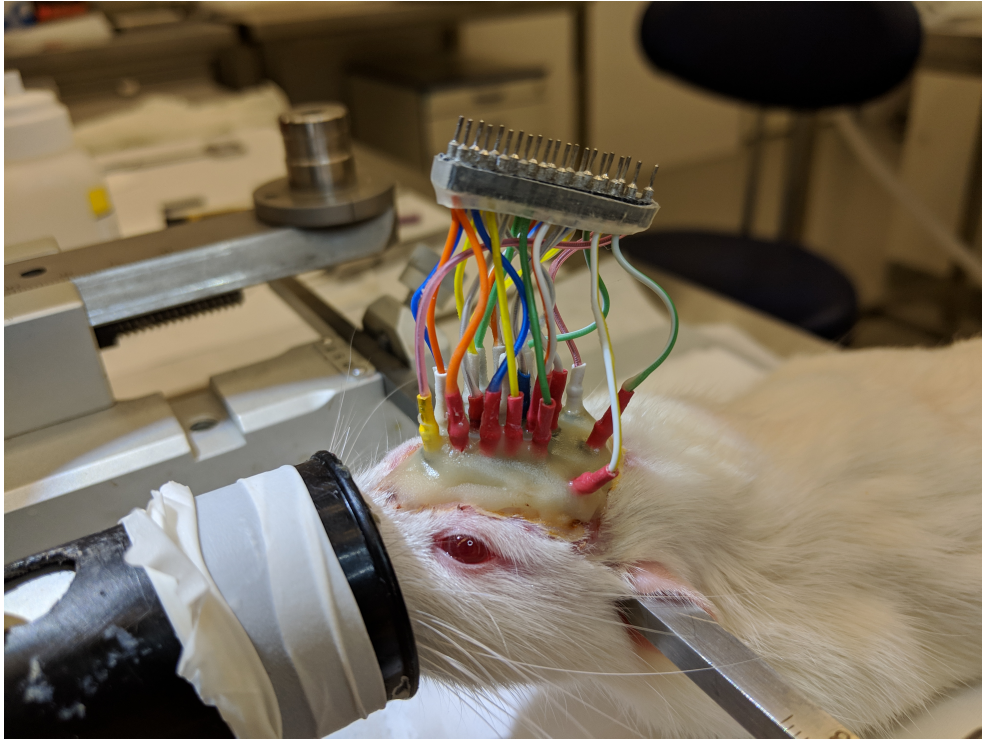
Aktivitu mozku lze snímat několika způsoby. Mezi nejčastější postupy patří snímání pomocí elektroencefalografie (EEG) anebo funkční magnetické rezonance (fMRI), přičemž obě tyto metody jsou neinvazivní [6, 7]. Aktivita mozku je pomocí fMRI zjišťována nepřímo, zatímco pomocí EEG je snímána přímo. fMRI i EEG lze využít ve stejných situacích, ovšem existuje řada výhod a nevýhod jednotlivých měřících systémů. K ovládnutí měření pomocí fMRI je nutné mít vyšší úroveň odborných znalostí, než je tomu u EEG. Měření pomocí EEG má vyšší časové rozlišení, oproti tomu fMRI má vyšší prostorové rozlišení [4]. EEG má zásadní výhodu v tom, že měření je levnější a lze realizovat na různých místech.

Měření EEG za účelem diagnostiky onemocnění je velmi časté, například u Alzheimerovy choroby [8] a nebo u Creutzfeldt–Jakobovy choroby [9]. Pomocí měření mohou být sledovány anomálie v určitých funkčních oblastech mozku při mnoha různých onemocněních, jako jsou například epilepsie nebo mentální poruchy [2]. Některé experimentální výzkumy nelze provádět na lidech, jak z etických, tak i z jiných důvodů, a proto je signál EEG snímán u zvířat.

Nejčastěji využívaným zvířecím modelem byla až do přelomu 20. a 21. století laboratorní myš, kterou postupně nahrazuje potkan kmene Wistar. Potkan byl vyšlechtěn na začátku 20. století pro využití výhradně v laboratořích. Oproti myši je větší, a proto je i implantace elektrod snazší. Rozdílné je taktéž chování jednotlivých ras a to především ve zvládnutí stresu, kde jsou potkani definováni jako klidnější zvířata.[10]

Snímání EEG je u potkanů kmene Wistar možné provádět několika různými způsoby: pomocí podpovrchových elektrod, umístěním elektrod přímo na lebku, viz obrázky 2.1, 2.2, anebo pomocí čepice s měřicími elektrodami [11]. Snímání signálu pomocí podpovrchových elektrod [12] patří mezi invazivní metody. Do mozku je zavedena jedna nebo více elektrod, ze kterých je posléze snímán signál téměř bez šumu. Druhou metodou je umístění elektrod na lebku [13]. Použité elektrody jsou povrchové a jsou fixovány například zubním cementem. Tuto metodu lze zařadit mezi semi-invazivní metody. Čepice s měřicími elektrodami [14] je poslední z více používaných metod snímání EEG. U zvířat je ovšem méně použitelná, jelikož dochází k častému posuvu elektrod a přes kůži a chlupy dochází k horšímu impedančnímu

přizpůsobení a tedy i většímu rušení signálu. Tato metoda se řadí mezi neinvazivní metody měření EEG.



Obrázek 2.1: Potkan kmene Wistar s implantovanými elektrodami.

Data jsou z mozku potkana snímána jednou z výše popsaných metod. Ve snaze, co nejvíce se přiblížit výsledkům měření lidského EEG, tak aby posléze mohly být porovnávány, byly elektrody u potkanů voperovány nad funkční centra odpovídající lidským. Dříve bylo více používané 12kanálové snímání EEG [13], ale během posledních pár let se systém změnil za 19kanálový, viz obrázek 4.2. Změna byla provedena, aby mohlo co nejsnadněji docházet k přenosu experimentálních výsledků mezi potkany a člověkem. Elektrody jsou uspořádány pomocí systému 10-20, které je při měření lidského EEG nejvíce rozšířené, viz obrázek 2.2.

Rozložení elektrické aktivity mozku bývá zobrazeno pomocí amplitudy, frekvence, koherence nebo kordance [15, 16, 17], přičemž distribuce dané veličiny je popsána barevnou mapou, kterou lze získat dopočtem virtuálních bodů. Nejčastějším parametrem z výše zmíněných je amplituda.





Obrázek 2.2: Uspořádání elektrod na mozku potkana.

## 2.2 Animální model schizofrenie

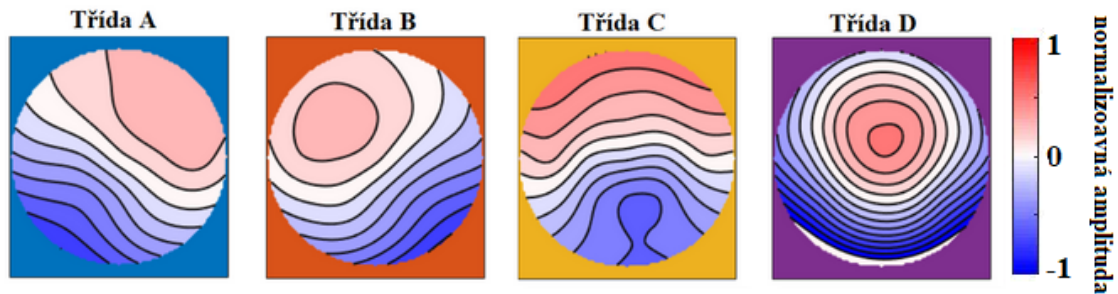
Animální modely schizofrenie byly vytvořeny především kvůli objasnění vzniku a příčin tohoto onemocnění. Pomocí animálních modelů je testováno mnoho parametrů, přičemž mezi důležité parametry patří elektrofyziologické změny, zejména EEG změny. Tyto modely jsou výhodné především z hlediska testování nových látek s potenciálním antipsychotickým účinkem [18], pochopení mechanismů schizofrenie a vývoje nových léčebných postupů [19].

Animálních modelů je vícero druhů. Jedním z nich je pak serotogenní model, který zkoumá akutní účinky halucinogenů v časných fázích psychózy [18]. Psilocin je jedním z serotogenních halucinogenů. Využívá se k indukci změn kognitivních, percepčních a emočních funkcí. Těmito změnami lze simulovat symptomy schizofrenie [20].

## 2.3 Mikrostavby v EEG

Elektrické mikrostavby jsou krátké časové oblasti kratší než 1 s (většinou mezi 80-120 ms), ve kterých je potenciál naměřený na mozku semi-stabilní [21]. Analýzou mikrostavů se zabývá mnoho studií prováděných na lidských subjektech, např. [22,

23, 24]. U člověka byly nejčastěji identifikovány 4 mikrostavy [22, 23, 24, 25], které se napříč studiemi dají porovnávat, viz obrázek 2.3.



Obrázek 2.3: Třídy mikrostavů v lidském EEG signálu dle Königa. Převzato z [26] a upraveno.

Konkrétní studie zkoumaly v souvislosti s mikrostavy řadu parametrů. Bylo zjištěno, že při určitých neurologických onemocněních a kognitivních poruchách se délka mikrostavů může měnit [27, 28], anebo dokonce i některý mikrostav zcela vymizí. Ve studiích [26, 29, 30], kde byl tento parametr měřen, se procentuální vysvětlenost dat pohybuje kolem 70-80 %.

Ve studii [31] bylo zjištěno, že průměrná doba trvání mikrostavu je u jedinců s poruchou autistického spektra nižší, než u zdravých jedinců, ale výskyt mikrostavů je u nemocných jedinců vyšší. Stejný výsledek byl ověřen i u pacientů trpících chronickou schizofrénií, viz studie [32].

Byly provedeny nejen studie zaměřující se na identifikaci nemoci pomocí mikrostavů, ale i studie zkoumající změny parametrů mikrostavů v průběhu léčby, např. v průběhu léčby psychotických symptomů při schizofrenii [33]. Zdraví jedinci byli trénováni tak, aby posléze v klidové fázi docházelo ke zvýšení příspěvku mikrostavu D. Tato třída mikrostavu je u nemocných osob kratší než u osob zdravých a taktéž koreluje s pozitivními symptomy nemoci. Jelikož se jim povedlo dosáhnout prodloužení tohoto mikrostavu, dalším krokem je aplikace stejné metodiky při léčbě schizofreniků. Pomocí analýzy mikrostavů lze posléze zjistit, zda se léčba daří či nikoliv.

Provedena byla taktéž studie [23] zkoumající mikrostavy během různých fází spánku. Bylo zjištěno, že ve fázi hlubokého spánku je průměrná doba trvání všech mikrostavů přibližně dvakrát až třikrát vyšší než u ostatních fází spánku.

Napříč studiemi, zkoumajícími mikrostavy, lze sledovat zajímavé výsledky, které mohou být důležité při identifikování různých chronických chorob nebo při jejich léčbě. Nejčastějším využitím mikrostavů zůstává posouzení povahy změn mikrostavů mezi zdravými a nemocnými jedinci.

Analýza mikrostavů je prováděna z naměřeného vícekanálového signálu, ze kterého je pomocí rozptylu přes elektrody (GFP - global field power) získán sumární signál, který je posléze klastrován. Ke klastrování bývají využity především algoritmy k-means [21, 34, 26], modifikovaný k-means [24, 29, 35] nebo atomizované a aglomerativní hierarchické shlukování (AAHC) [36, 37]. Optimální počet klastrů je určován nejčastěji pomocí několika kritérií, kterými jsou kros-validační (CV) kritérium [23, 26, 36], Krzanowski-Lai (KL) kritérium [34] nebo např. metakritérium [21], které sdružuje více kritérií pro přesnější určení optimálního počtu klastrů.

Mikrostavy jsou znázorňovány pomocí topografických map, které reflektují globální funkční stavy mozku. Výsledné topomapy mají dipolární charakter. Extrémy bývají znázorněny modrou a červenou barvou. Polarita signálu se většinou zanedbává. Topografické mapy jsou v určitém časovém úseku generovány různými konfiguracemi neuronů, proto je nutné na mikrostavy pohlížet jakožto na globální funkční stavy mozku [38].

Z implementačního pohledu se analýza mikrostavů často provádí v programovém prostředí Matlab, kde je veřejně dostupný plugin Microstates 1.1 [39] a nebo v programu Cartool, ve kterém byly zpracovávány např. studie [40] a [41].

Cílem této práce je zjistit, zda u potkana kmene Wistar rovněž existují mikrostavy, případně do kolika tříd lze mikrostavy zařadit a kolik procent signálu vysvětlují.

Study	N. Elect.	N. Subj.	Filter (Hz)	GEV (%)	A	B	C	D
König 1999	19	18	1-30	NR				
König 2002	19	496	2-20	79				
Lehmann 2005	16-21	27	2-20	84				
Britz 2010	64	9	1-40	66				
Kindler 2011	74	9	2-20	79				
Schlegel 2012	33	19	2-20	NR				
Brodbeck 2012	30	32	1-40	NR				
Andreaou 2013	64	22	2-20	NR				
Nishida 2013	19	8	2-20	NR				
Tomescu 2014	204	28	1-40	80				
Tomescu 2015	64	27	1-40	84				
Khanna 2014	32	10	1-50	70				
Diaz 2016	32	20	2-20	71				
Pascual-Marqui 2014	109	61	2-20	NR				
Pipinis 2016	64	94	NR	NR				
Milz 2016	64	70	2-20	77				
Katayama 2007	19	12	2-20	NR				
Corradini 2014	19	26	NR	58				
Gschwind 2016	204	49	1-40	NR				
Grieder 2016	19	24	2-20	74				
Drissi 2016	64	16	1-40	NR				
Seitzman 2017	61	24	2-20	68				

Obrázek 2.4: Ukázka vzorových topografických map mikrostavů z různých studií. Ve sloupcích jsou postupně uvedeny studie, počet elektrod, počet subjektů, filtrované pásmo a GEV. Pomocí NR je znázorněna absence údaje ve studii. Převzato z [21] a upraveno.

## **3 Cíle práce**

Hlavním cílem diplomové práce je zjistit, zda jsou u potkanů kmene Wistar detekovatelné mikrostavy a jaký je jejich počet, případně zda jsou porovnatelné s mikrostavy u lidí. Výsledkem práce je vytvoření metodiky analýzy mikrostavů pro potkana kmene Wistar pomocí skriptu v programovém prostředí Matlab za využití toolboxu EEGLAB.

### **3.1 Dílčí cíl 1: Provést předzpracování nasnímaného signálu**

V prvním kroku v rámci této diplomové práce je nutné upravit záznam EEG tak, aby mohl být dále použit pro samotnou analýzu. Je třeba vybrat pouze pasivní behaviorální segmenty, zvolit vhodnou montáž, odstranit artefakty a použít pouze frekvenční rozsah záznamu vhodný ke zpracování mikrostavů.

### **3.2 Dílčí cíl 2: Navrhnout metodiku analýzy záznamů EEG**

Bude vycházeno z metodiky, která již byla definována u lidí, a která bude v jistých ohledech mírně upravena. V rámci analýzy mikrostavů je nutné definovat vhodný klastrovací algoritmus, definovat počet mikrostavů, zobrazit jejich charakteristiky vzhledem k definované šabloně a vypočítat statistické parametry tříd mikrostavů.

### **3.3 Dílčí cíl 3: Definovat parametr pro stanovení počtu mikrostavů**

Jelikož analýza mikrostavů na animálním záznamu EEG ještě nebyla nikdy prováděna, je nutné definovat parametr pro stanovení počtu mikrostavů. Základem bude rešerše používaných parametrů z analýzy mikrostavů na lidských subjektech.

### **3.4 Dílčí cíl 4: Stanovit a vyhodnotit parametr pro statistické vyhodnocení mikrostavů**

Pro vyhodnocení tříd mikrostavů je nutné zvolit statistické parametry, které se pro analýzu mikrostavů běžně využívají, tak aby bylo možné výsledky porovnat s již existujícími studiemi.

## 4 Metody

Kapitola metody detailně popisuje data, jejich zpracování, metodiku analýzy mikrostavů a statistické vyhodnocení získaných parametrů. V podkapitole 4.1 je možné nalézt informace o subjektech využitých pro snímání signálu, snímaných datech a protokolu experimentu. Software využitý pro zpracování této diplomové práce je zmíněn v podkapitole 4.2. Podkapitola 4.3 se zabývá především filtrací signálu a odstraněním artefaktů. Metodika analýzy mikrostavů (viz podkapitola 4.4) obsahuje popis jednotlivých kroků (například klastrování nebo stanovení optimálního počtu mikrostavů), které vedou k zobrazení topografických map jednotlivých tříd mikrostavů. Podkapitola 4.5 se zabývá statistickými testy, kterými lze vyhodnotit parametry mikrostavů zmíněné v podkapitole 4.4.

### 4.1 Data

Celkem bylo zpracovááno 16 záznamů elektrické aktivity mozku potkana kmene Wistar. Jednalo se o 8 subjektů, u kterých bylo nahrávání elektrické aktivity realizováno před a po podání léčiva psilocin. Data, která byla v rámci této diplomové práce zpracovávána, byla součástí experimentu probíhajícího v Národním ústavu duševního zdraví. Každý subjekt byl testován pouze jednou. Všechny experimenty respektovaly podmínky stanovené v Směrnici rady (86/609/EU) o sblížení právních a správních předpisů členských států týkajících se ochrany zvířat používaných pro pokusné a jiné vědecké účely. Veškeré nakládání se zvířaty bylo schváleno odbornou komisí pro práci s laboratorními zvířaty.

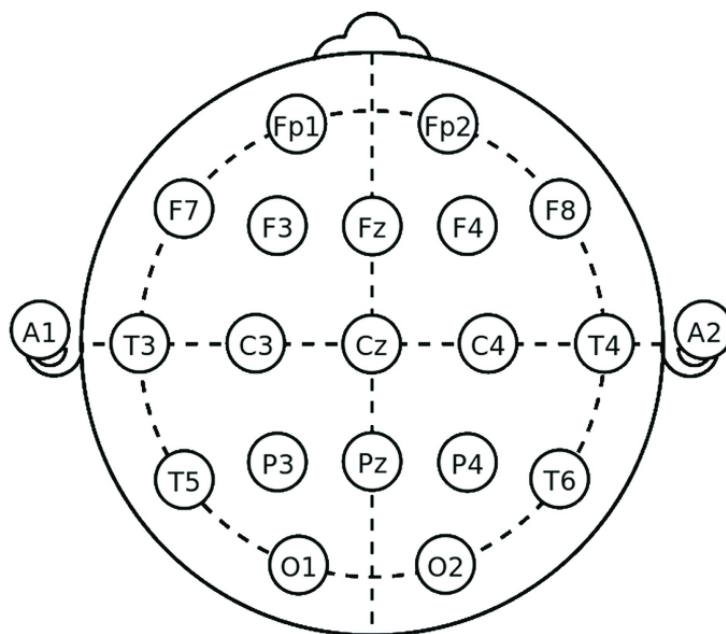
Data byla nahrávána pomocí systému s modulárním zesilovačem BioSDA09 (M & I, Praha) s frekvenčním pásmem 0,1-100,0 Hz a potlačením souhlasného rušení (common mode rejection ratio, CMRR) větším než 100 dB. Vzorkovací frekvence byla nastavena na 1 kHz. Snímání aktivity mozku potkana probíhalo pomocí 19kanálového EEG. Referenční elektroda pro nahrávání byla umístěna na čichový lalok, viz elektroda REF na obrázku 4.2.

#### 4.1.1 Protokol experimentu

Na začátku experimentu byly potkanům voperovány elektrody EEG, které byly přímo umístěny na povrch mozku skrz lebku potkana. Potkanovi bylo ponecháno 7 dní na regeneraci, kdy byly jednotlivé subjekty měření udržovány separátně. Měření EEG probíhalo nejprve před podáním léčiva. Z tohoto záznamu byla stanovena standardní aktivita mozku potkana. Poté byly potkanům podány 4 mg/kg psilocinu a došlo k snímání signálu EEG po podání léčiva. Výsledky byly posléze vyhodnoceny.

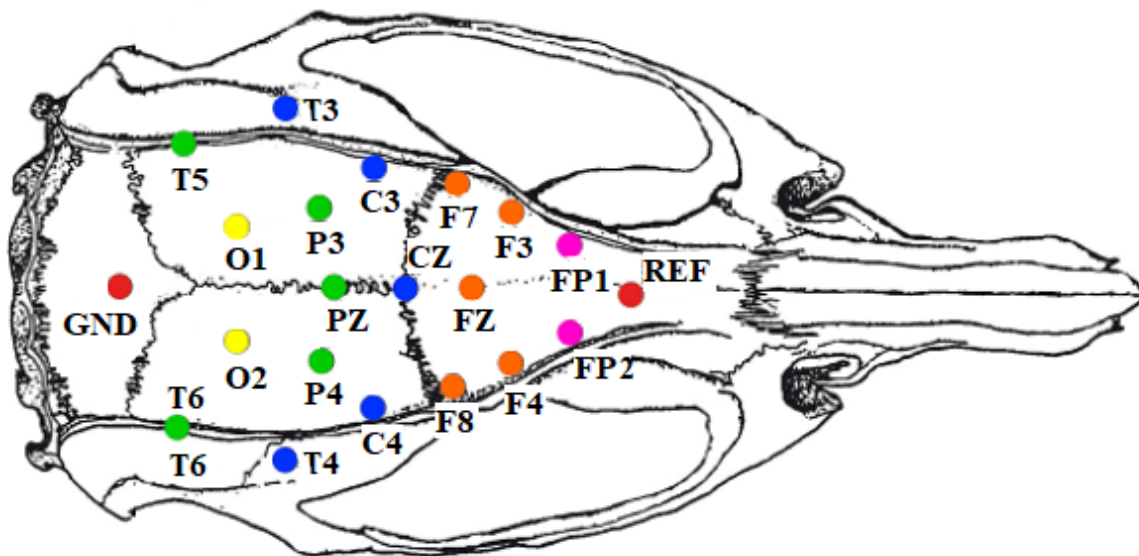
### 4.1.2 Pozice elektrod

Rozložení elektrod na hlavě potkana bylo inspirováno rozložením elektrod na lidské hlavě. U lidských subjektů bývá nejčastěji využíváno rozložení elektrod 10-20, viz obrázek 4.1. Obvod hlavy je rozdělen na úseky po 10 a 20 %, přičemž rozložení elektrod na hlavě je rovnoměrné. Písmena, kterými se elektrody označují, jsou zvolena dle počátečních písmen funkčních oblastí mozku, nad kterými je elektroda umístěna. Lichá čísla elektrod jsou poté umístěna nad levou a sudá čísla nad pravou mozkovou hemisférou.



Obrázek 4.1: Systém uspořádání elektrod 10-20 u člověka. Převzato z [42].

Systém rozložení elektrod 10-20 byl využit i v této práci. Elektrody byly na mozek potkana rozmístěny tak, aby funkční centra odpovídala lidským, viz obrázek 4.2. Pozice elektrod jsou velmi důležité hlavně při rekonstrukci topografických map.



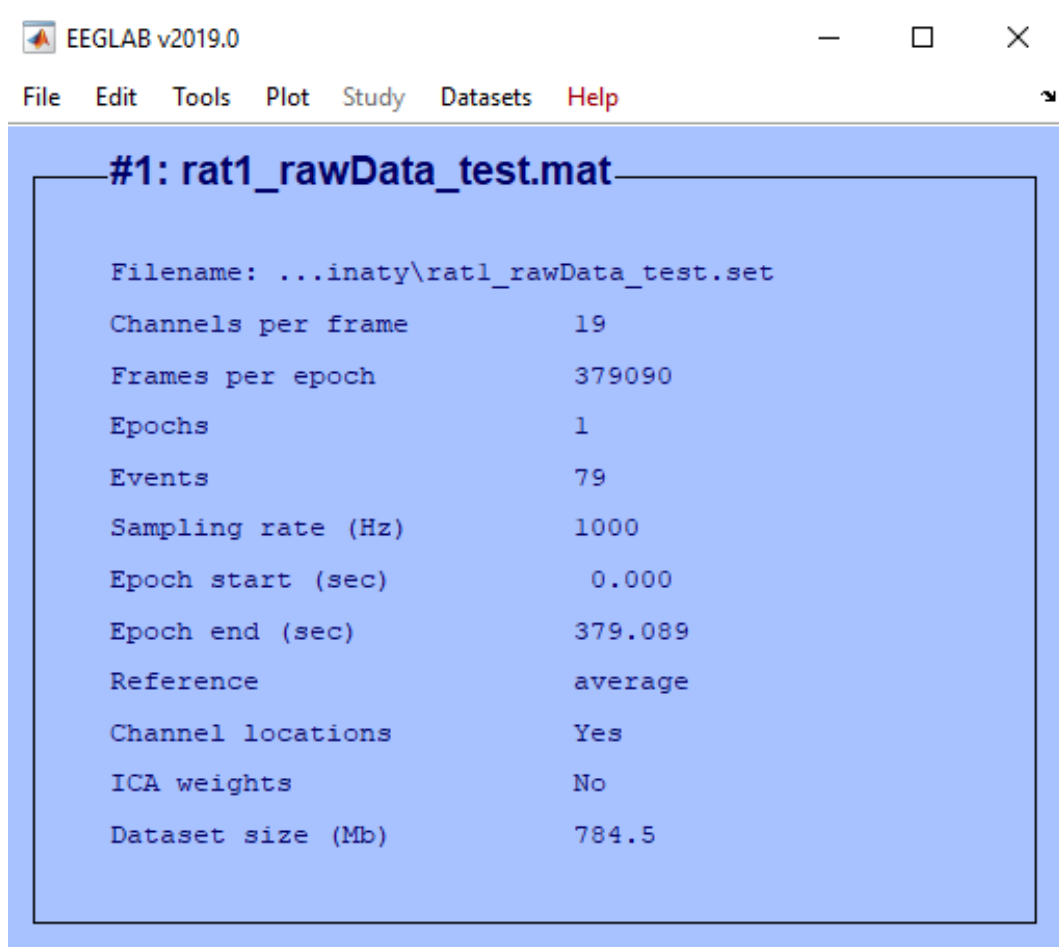
Obrázek 4.2: Uspořádání elektrod na mozku potkana. Převzato z [13] a upraveno.

## 4.2 Programové prostředí

Pro zpracování této diplomové práce byl využit software MATLAB 2019a [43], Toolbox EEGLab [44] a plugin Microstates 1.1 [39]. Jednou z možností pracování s toolboxem EEGLab je pomocí GUI, viz obrázek 4.3. Ovládání pomocí GUI je snazší, ale nelze v něm provádět zásadnější změny. Druhou variantou využití EEGLabu je pomocí funkcí, které jsou uzpůsobeny především pro zpracování signálu EEG. Práce s nimi je stejná jako s funkcemi v prostředí MATLAB. Většina EEGLab funkcí začíná předponou *pop*, proto je lze snadno rozeznat od funkcí MATLABu.

Plugin Microstates 1.1 byl implementován v rámci toolboxu EEGLab. Obsahuje funkce přímo vytvořené pro analýzu a zpracování mikrostavů. Plugin lze využít, jak přes GUI EEGLabu, tak i přes vzorový skript analýzy mikrostavů, který byl T. Königem poskytnut veřejnosti [39]. V rámci této diplomové práce bylo vycházeno především z tohoto vzorového skriptu.



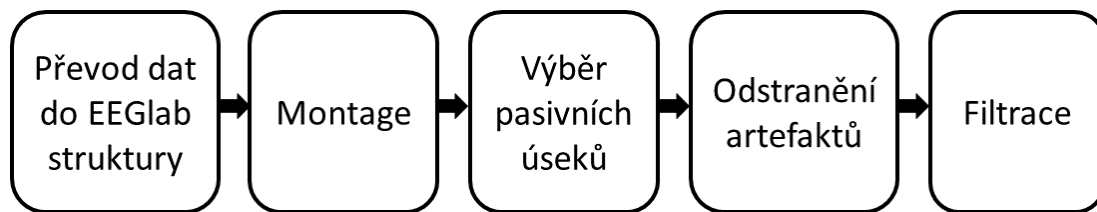


Obrázek 4.3: GUI toolboxu EEGLab. Obrázek vytvořen autorem v programovém prostředí EEGLab [44].

### 4.3 Předzpracování signálu EEG

Zpracování signálu EEG před samotnou analýzou dat je velmi důležité především pro získání adekvátních a správných výsledků. Postup předzpracování signálu je znázorněn na obrázku 4.4. Zvolený postup byl proveden dle již prezentovaného postupu, viz [39].

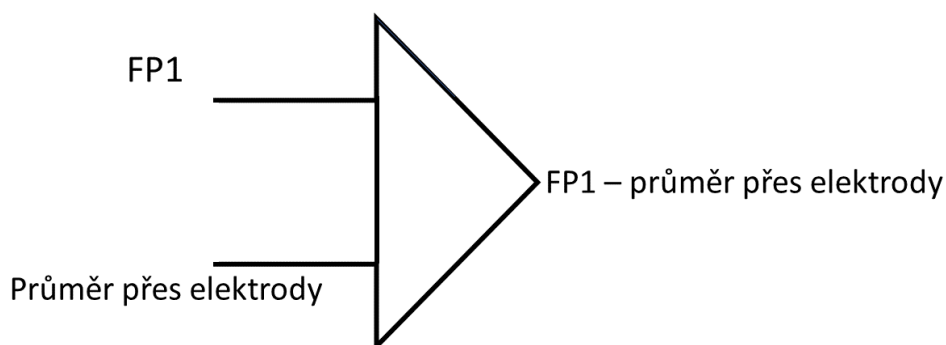
Signál byl obdržen ve formátu .d. Pro jeho zpracování byl nutný převod do struktury EEGLabu, což bylo provedeno pomocí funkce *preprocess.m* vytvořené v rámci této práce.



Obrázek 4.4: Schéma předzpracování signálu.

### 4.3.1 Montáž

Nejprve byla použita montáž, konkrétně průměrná reference, která bývá v analýze signálu EEG často využívána [26, 32, 38]. Přepočítání probíhá pomocí vypočtení průměru signálu přes všechny elektrody a jeho odečtení ze signálu EEG [45]. Tento proces je prováděn pro každou elektrodu a také pro každý časový bod separátně, viz obrázek 4.5.



Obrázek 4.5: Příklad aplikace montáže (průměrná reference) u elektrody FP1. Převzato z [46] a upraveno.

### 4.3.2 Výběr pasivních úseků signálu EEG

Analýza mikrostavů bývá zpravidla prováděna na klidových záznamech EEG [30]. V takových záznamech je počet artefaktů menší a je tedy pravděpodobnější, že je lze všechny detekovat a odstranit. Další výhodou je minimální výskyt pohybových artefaktů v klidovém záznamu.

Byla proto implementována funkce *RejectBadIntervals1.m*, pomocí které lze vybrat pasivní úseky ze signálu EEG. Funkce *RejectBadIntervals1.m* využívá skórování záznamu EEG pomocí tagů označujících aktivní a pasivní úseky v signálu. Minimální délka pasivního segmentu byla zvolena 2 s. Tento čas odpovídá experimentálním

výsledkům ze studií [47, 48, 49, 50]. Spojení pasivních segmentů bylo provedeno pomocí splinu, stejně jako v práci [51], kde byly pomocí splinu spojovány úseky signálu EEG po odstranění artefaktů.

```

Data: záznam z 19-kanálového EEG,
tagy záznamu (tag = 2 označuje pasivní úsek)
Result: spojitý signál EEG
okno = 2 s (= 2000 vzorků);
EEG = [ ];
for  $i = 1 : 1 : N$  do
    if ( $tag = 2$  a zároveň pasivní část EEG > okno) then
        Proložení spoje pasivních úseků splinem:
         $eegSpline = spline\ interpolace$  (přes 20 vzorků signálu);
         $EEG = EEG(:, 1:end-10) + eegSpline + pasivní\ část\ EEG(:, 10:end)$ ;
    else
         $EEG = [ ]$ ;
    end
end

```

**Algoritmus 4.1:** Pseudokód algoritmu zabývajícího se extrahování pasivních úseků z celkového signálu EEG. Výstupní matice  $EEG$  má velikost  $[19, N]$ , kde  $N$  je počet vzorků.

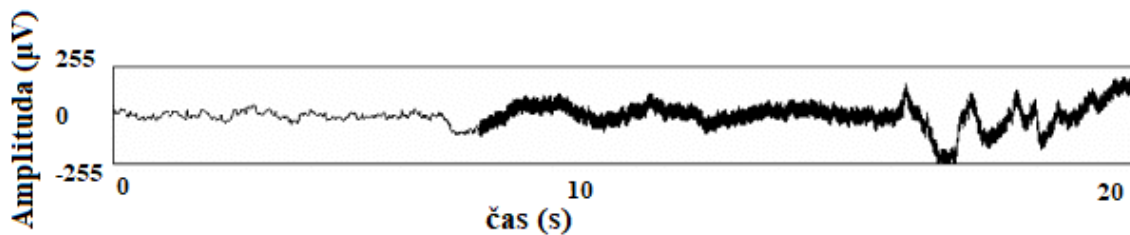
### 4.3.3 Odstranění artefaktů

Dalším krokem v předzpracování signálu je odstranění artefaktů. Artefakty, které je nutné odstranit, jsou především artefakty fyziologické 4.7 a technické 4.6. Bez jejich odstranění by mohlo dojít k pozdější nepřesné analýze signálu.

Technické artefakty lze zjednodušeně definovat jako síťové rušení (50 Hz) a elektrodové artefakty. Jedním z typických elektrodových rušení je tzv. elektrodový popping [52, 53]. Jedná se o špatný kontakt mezi elektrodou a kůží neboli dojde ke změně impedance na přechodu mezi jednotlivými vrstvami. K tomuto rušení v měření k této diplomové práci téměř nedochází. Absence poppingu je zapříčiněna tím, že elektrody jsou sice povrchové, ale jsou ukotvené přímo na lebku potkana. Tím je eliminována vrstva kůže a vlasů/chlupů, mezi kterými by mohlo docházet k poppingu. Další složky, které je potřeba odstranit, jsou např. kabelové defekty.

Síťové rušení 50 Hz je odstraněno využitím bandpass filtru o velikosti 2-20 Hz nebo 1-40 Hz. Kabelové defekty neboli výpadky signálu z některé elektrody, jsou odstraňovány funkcí `clean_flatlines.m`. Funkce `clean_flatlines.m` při výpadku delším, než jsou 2 s, odstraní část signálu, kde se výpadek objevil.

Fyziologické artefakty ovlivňující signál EEG jsou nejčastěji okulární, pohybové a svalové artefakty. Okulární artefakty lze potlačit zavřením očí pacienta, jinak je jejich eliminace velmi složitá. Svalové artefakty jsou jedny z nejlépe rozpoznatelných



Obrázek 4.6: Na obrázku je zřetelné síťové rušení (50 Hz). Převzato z [54] a upraveno.

artefektů. Mají vysokou frekvenci nad 40 Hz a dochází k nim při zapojení svalů žvýkacích, polykacích, atd. Nejvíce je tento artefakt viditelný v temporálních svodech. Pohybové artefakty vznikají pohybem těla, elektrod nebo kabelů. [52, 55]

Jednoduché pohybové artefakty vyznačující se prudkými poklesy a nástupy elektrické aktivity, jsou eliminovány funkcí *clean\_Bursts*. Implementace proběhla v rámci této diplomové práce.

**Data:** záznam z 19-kanálového EEG

**Result:** upravený signál EEG

$x, y$  = defaultně nastavená hranice;

**for**  $i = 1 : 1 : \text{řádky}$  **a**  $i = 1 : 1 : \text{sloupece}$  **do**

    Derivace signálu:  $\text{derivace} = \text{diff}(\text{EEG})$ ;

**if**  $(\text{derivace} > x, \text{anebo } \text{EEG} > y)$  **then**

        Zprůměrování (klouzavý průměr) okolních bodů:

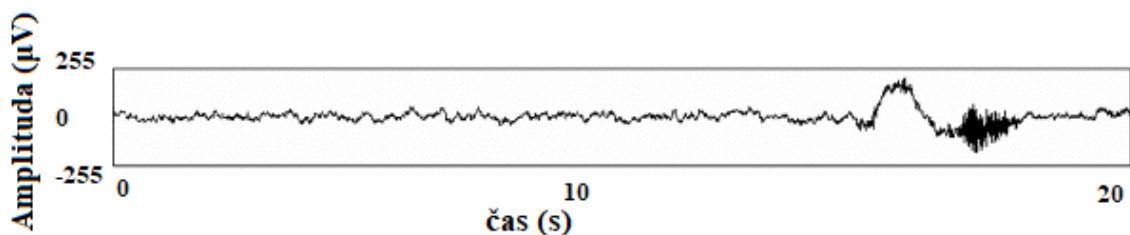
$\text{upravené EEG} = \text{movmean}(\text{EEG}(:, 10\text{-sloupec}:\text{sloupec}+10))$  ;

**end**

**end**

**Algoritmus 4.2:** Pseudokód algoritmu zabývajícího se odstraněním pohybových artefaktů ze signálu EEG. Výstupní matice *EEG* má velikost  $[19, N]$ , kde  $N$  je počet vzorků.

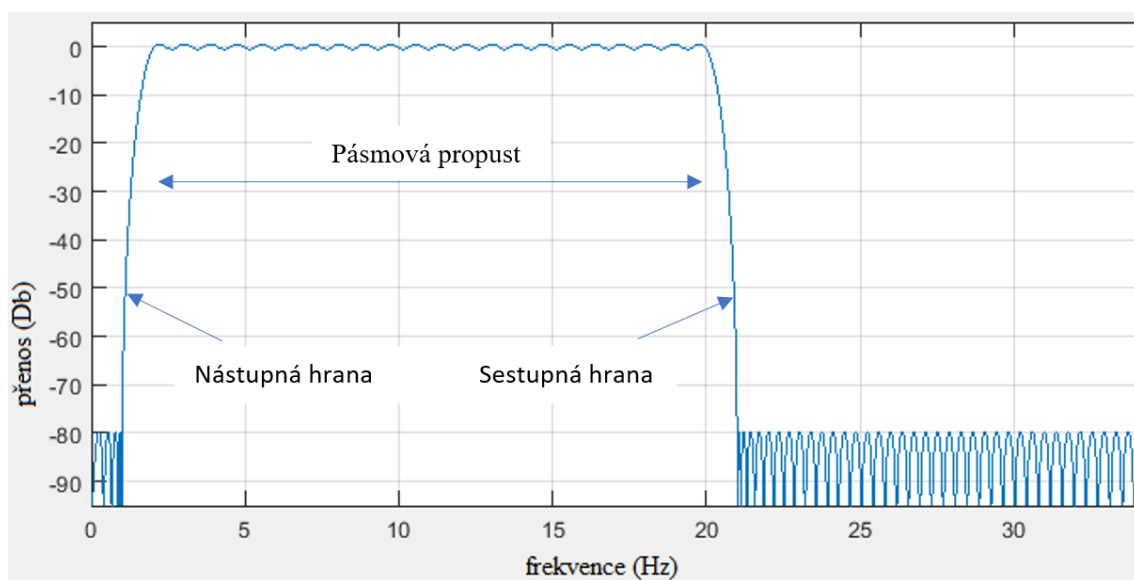
Složené pohybové artefakty koriguje funkce *clean\_windows*, která odstraňuje neúplně opravená časová okna. Tolerance byla nastavena na 10%. Pokud by došlo k záznamu artefaktu z více nekorelovaných zdrojů (např. skok), který nelze zcela opravit, bylo by dané okno odstraněno.



Obrázek 4.7: Na obrázku je zřetelné pohybové rušení viditelné změnou amplitudy a svalové rušení projevující se vysokou frekvencí. Převzato z [54] a upraveno.

#### 4.3.4 Filtrace

Posledním krokem v rámci předzpracování signálu byla filtrace signálu EEG, která je realizována pomocí bandpass filtru, neboli filtrem typu pásmová propust. Pro analýzu mikrostavů se nejčastěji používá rozmezí frekvenčních pásem 1-40 Hz [23, 40] a 2-20 Hz [26, 30]. Důležitým aspektem filtru je, jak strmou má náběžnou a sestupnou hranu, viz obrázek 4.8. Ideální filtr by přenášel pouze definovaná frekvenční pásma, takový filtr ovšem nelze v praxi sestavit. Filtr použitý v této práci má náběžnou hranu od 0,00 do 0,76 Hz a sestupnou hranu od 40,83 do 41,65 Hz a druhý filtr použitý v této práci má náběžnou hranu od 0,35 do 1,76 Hz a sestupnou hranu od 20,83 do 21,65 Hz. Byl zvolen řád filtru 2000, který odpovídá filtraci prováděné v rámci práce [39].



Obrázek 4.8: Filtr pásmová propust. Vytvořeno autorem v programu MATLAB [43], filterDesigner.

Pro předzpracování signálu EEG bývá použit především filtr FIR [56] kvůli jeho konečné pulzní odezvě a absenci zpětné vazby. Z výše zmíněných vlastností vyplývá, že je vždy stabilní. Bandpass filtr je poté kombinací dvou FIR filtrů.

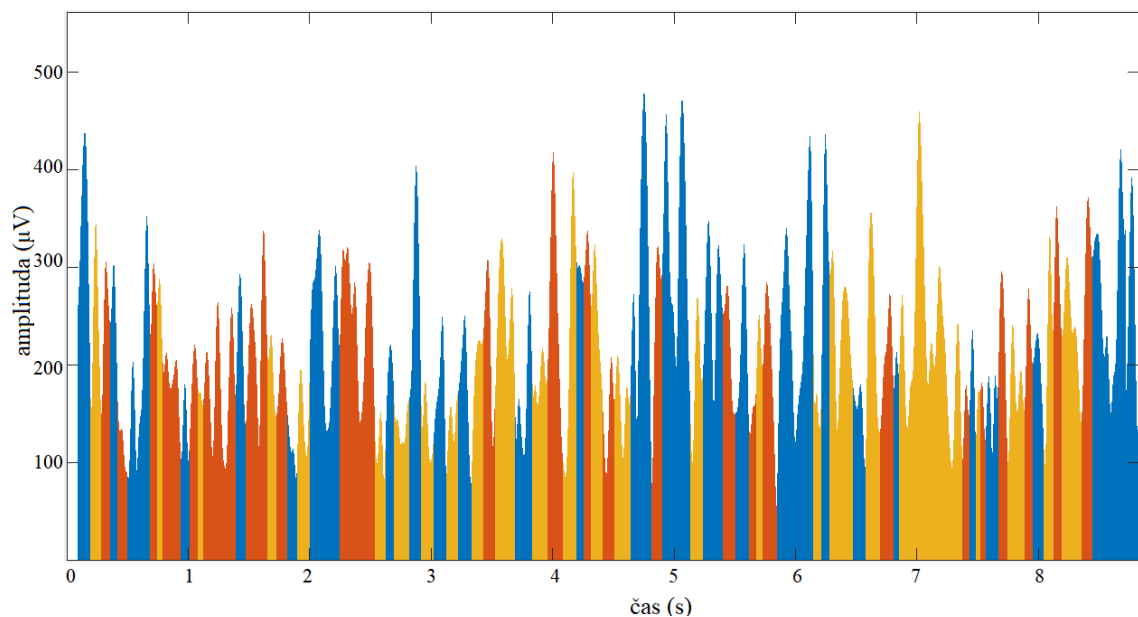
#### 4.4 Analýza mikrostavů

Analýza mikrostavů je stále více využívanou alternativou zkoumání signálu EEG pomocí topografických map. Často se používá ke zhodnocení aktivity mozku před a po podání léčiva nebo k diagnostice určitých onemocnění (Alzheimerova choroba, Parkinson, atd.) [8, 57]. Tato analýza nabízí možnost zobrazení charakteristik stavu mozku v určitém časovém okamžiku. Pomocí výsledných parametrů lze kvantifikovat statistické vlastnosti mikrostavů [38].

Určení rozptylu přes elektrody (GFP - global field power) bývá prvním krokem analýzy mikrostavů. Výsledkem je jeden sumární signál. Pro výpočet je využíván vzorec převzatý z článku [30]. V MATLABu byla implementována funkce *GFP.m*, pomocí které lze získat výsledný sumární signál. Funkce je dána vztahem [30]:

$$GFP = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^C (V_i - \bar{V})^2}{C}} \quad (4.1)$$

kde  $V_i$  je napětí  $i$ -té elektrody,  $\bar{V}$  je průměrné napětí ze všech elektrod,  $C$  je počet elektrod.

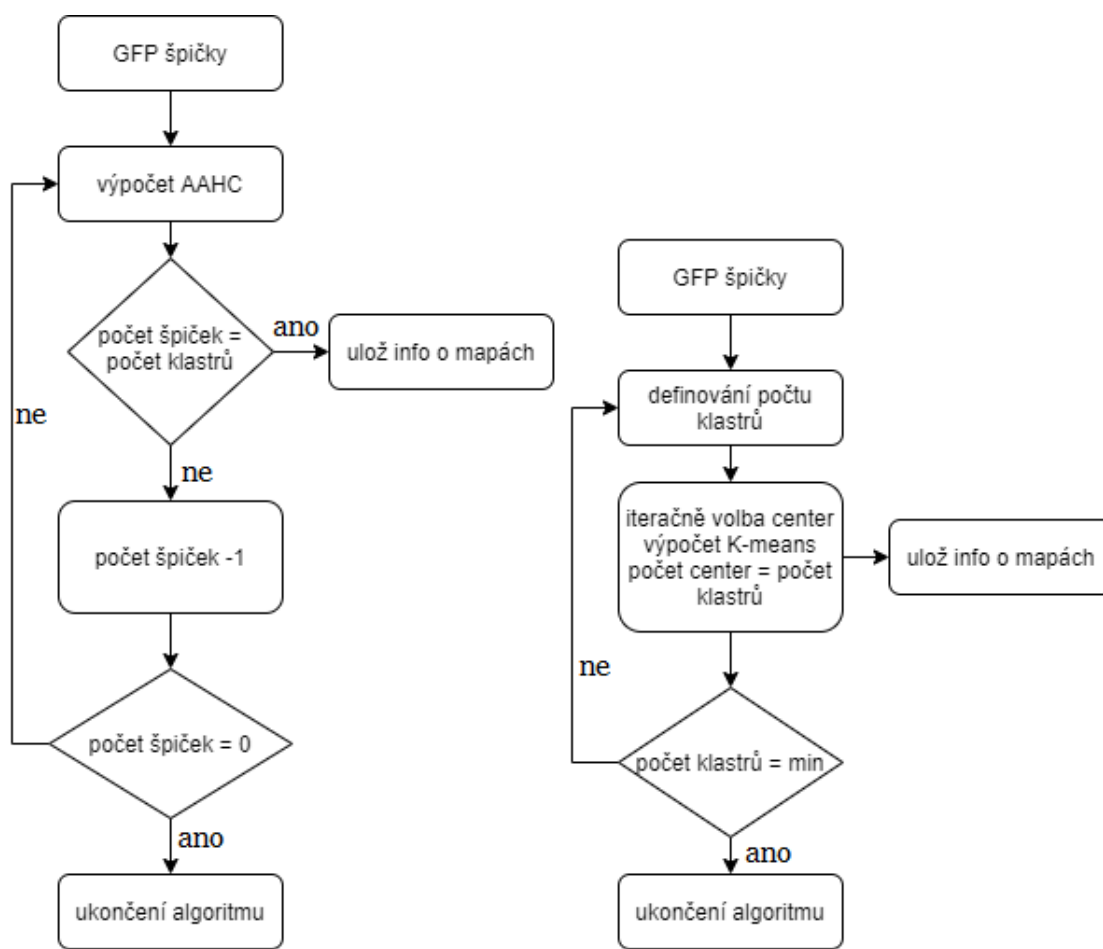


Obrázek 4.9: Znázorněna je GFP křivka. Každá barva reprezentuje jeden mikrostav.

Dále je pracováno primárně s touto křivkou. Pomocí funkce *IsGFPPeak.m* [39] jsou definovány špičky, ve kterých jsou posléze definovány mikrostavy. Minimální vzdálenost mezi špičkami je defaultně nastavena na 10 ms, aby došlo vždy k identifikování pouze diskretních špiček. Na začátku je vybráno 500 špiček z celkových řádově 2000, které jsou klastrovacím algoritmem roztríděny do tříd, viz obrázek 4.9. Pro každý subjekt je výběr 500 špiček proveden 100 krát, přičemž jejich výběr je prováděn náhodně. Vícenásobný výběr je důležitý, aby mohlo dojít k pozdějšímu statistickému zpracování a určení optimální počtu tříd mikrostavů.

#### 4.4.1 Klastrování signálu

Klastrování signálu se provádí pomocí mnoha různých metod jako jsou k-means, AAHC, atd [38]. Jednou z nejčastějších metod je klastrování pomocí nehierarchické



Obrázek 4.10: Vývojový diagram algoritmu AAHC nalevo a k-means napravo.

metody k-means. Jedná se o metodu shlukové analýzy, přičemž přiřazení do tříd probíhá podle toho, k jakému centroidu je bod nejbližší. Centroidy se přepočítávají dle stanoveného počtu iterací. Všechny body, nebo jejich určité procentuální zastoupení, jsou na konci zařazeny do jednoho z  $X$  shluků. Přičemž  $X$  definuje počet shluků určený na počátku, viz vývojový diagram na obrázku 4.10.

Oproti klasickému klastrovacímu algoritmu k-means byl zaveden i modifikovaný k-means algoritmus. Tento algoritmus obsahuje normalizaci dat, inicializaci centra klastrů a dvouvrstvé klastrování. Normalizace dat je prováděna, aby odlehlá data neovlivňovala příliš volbu centra klastru. Centra klastrů se inicializují podle velikosti diskretních dat. Čím větší shluk dat je, tím je pravděpodobnější, že bude centrum pro první iteraci zvoleno v tomto místě. Poslední operací je dvouvrstvé klastrování, které se využívá pro zpřesnění shluků. Určeny jsou velké shluky, které jsou posléze roztrženy do menších, aby byly vlastnosti přesnější. [58]

Třetí z nejčastěji používaných klastrovacích metod u analýzy mikrostavů je deterministická hierarchická metoda shlukování nebo-li AAHC algoritmus, viz vývojový diagram 4.10. Oproti k-means je na začátku uvažováno velké množství tříd, které se při každé iteraci o jedna snižují. Nejhorší klaster s nejnižším procentuálním vysvětlením

dat (GEV - global explained variance) je v každé další iteraci vynechán [59]. Algoritmus je náročnější na výpočet, jelikož první iterace uvažuje mnoho tříd. Při malém počtu klastrů je nutných více iterací než u k-means. Výsledek je ovšem přesnější. Jednou z výhod AAHC algoritmu je, že po jednom průběhu algoritmu lze získat informace o rozložení center klastrů jakéhokoliv počtu. Tedy pokud je nutné uvažovat např. 2-10 klastrů, lze si postupně ukládat velmi přesné polohy center klastrů pro určitý počet tříd. Zatímco při použití k-means algoritmu je nutné pevně definovat počet klastrů na začátku algoritmu a pro každý nový počet znovu zahájit třídění dat. S ohledem na výhody a nevýhody klastrovacích algoritmů byl v této práci zvolen algoritmus AAHC.

#### 4.4.2 Optimální počet mikrostavů

Počet mikrostavů lze nejlépe definovat pomocí kritérií, které se u klastrovacích algoritmů běžně využívají. Pro určení optimálního počtu mikrostavů je nejčastěji využíváno metakritérium, KL kritérium, CV kritérium nebo GEV. Nejvyšší počet mikrostavů, které byly v lidských studiích definovány, se pohybují kolem 7-9 [60, 61], výjimečně více. Počet mikrostavů, které byly v této práci zkoumány, byl proto stanoven na 2-10, aby byla pokryta většina výsledků předchozích studií, a aby nebyl optimální počet kritérií stanoven falešně nízko. Předpokladem ovšem je, že se výsledný počet kritérií bude pohybovat okolo 4, což je standardní počet mikrostavů pro člověka.

Metakritérium sdružuje více kritérií, přičemž každé funguje na trochu jiném principu stanovení optimálního počtu mikrostavů. Z jejich výsledků je spočten mezikvartilový rozsah (IQR - interquantil range) a mezikvartilový průměr (IQM - interquantil mean). Následujícím výpočtem lze poté získat metakritérium [61]:

$$metakriterium = \frac{IQM^2}{IQR} \quad (4.2)$$

kde IQM je mezikvartilový průměr a IQR je mezikvartilový rozsah.

Z 11 kritérií, která byla navržena v rámci metakritéria ve studii [61], bylo v této práci aplikováno pouze 6 kritérií. Kritéria byla vybrána dle frekvence využívání a jednoduchosti implementace. Nejčastěji se využívá CV kritérium a KL kritérium. Tato dvě kritéria, GEV a disperze byly implementovány v EEGlabu viz funkce *calc\_fitmeas.m*. Ostatní jsou doplňkovými kritérii a jejich implementace byla provedena v rámci této diplomové práce.

Kritéria, která nebyla v této práci implementována, ale jsou součástí metakritéria využívaného Königem, jsou: Marriott, Point-Biserial, Tau, Hartiganovo a kubické klastrovací kritérium.



Metakritérium implementované v této práci je výsledkem následujících kritérií: CV, Davies a Bouldin, KL, Dunnovo, Frey a Van Groenewoudovo kritérium a disperze.

CV kritérium optimalizuje poměr mezi GEV a stupni volnosti. Nejmenší zjištěné hodnoty kritéria odpovídají optimálnímu počtu mikrostavů. Vztah pro výpočet je definován následovně [38, 62]:

$$CV = \delta^2 \cdot \left( \frac{C - 1}{C - K - 1} \right)^2 \quad (4.3)$$

kde  $\delta^2$  je odhad rozptylu,  $C$  je počet kanálů EEG a  $K$  je počet tříd.

Kritérium Davies a Bouldin je založeno na míře podobnosti shluků. Základem je měření rozptylu uvnitř shluku a měření nepodobnosti vzdálenosti center shluků mezi sebou. Vztah pro výpočet je definován následovně [63, 64]:

$$DB = \frac{1}{c} \cdot \sum_{i=1}^c \max_{i \neq j} \frac{d(C_i) + d(C_j)}{d(C_i, C_j)} \quad (4.4)$$

$C$  je shluk,  $d(C_x)$  definuje průměrnou vzdálenost objektů ve shluku od středu shluku,  $d(C_i, C_j)$  definuje vzdálenost mezi středy shluků a  $i, j, c$  definují konkrétní klastr.

Dunnovo kritérium je založeno na dobré separovatelnosti shluků. Větší hodnota znamená lepší shlukovací konfiguraci. Vztah pro výpočet je definován následovně [63, 64]:

$$Dunn = \min_{1 \leq i \leq c} \left[ \min_{1 \leq i \leq c} \left( \frac{d(C_i, C_j)}{\min_{1 \leq k \leq c; i \neq j} d(C_k)} \right) \right] \quad (4.5)$$

$C$  je shluk,  $d(C_k)$  definuje šířku shluku a  $d(C_i, C_j)$  definuje vzdálenost mezi středy shluků.

Dalším kritériem je Frey a Van Groenewoudovo kritérium, které lze použít pouze u hierarchických metod. Jedná se o rozdíl hodnot po sobě jdoucích iterací v rámci hierarchické metody. Vztah pro výpočet je definován následovně [65]:

$$FG = \frac{x_{i+1} - x_i}{y_{i+1} - y_i} \quad (4.6)$$

kde  $y$  je průměr vzdálenosti v rámci třídy,  $x$  je průměr vzdáleností mezi třídami a  $i$  je iterace.

Disperze  $W$  je míra průměrné vzdálenosti mezi členy stejného klastru. Při segmentaci mikrostavů s počtem klastrů  $K$  se disperze počítá jakožto součet čtverců mezi členy každého klastru mikrostavu. Čím jsou hodnoty nižší, tím je výsledek lepší. Výpočet disperze je definován vztahem [38]:

$$W_k = \sum_{k=1}^K \frac{\sum_{n=1}^N \sum_{n'=1}^N \|x_n - x_{n'}\|^2}{2N_k} \quad (4.7)$$

kde  $k$  je aktuální shluk,  $n$  je aktuální vzorek,  $K$  definuje počet klastrů / shluků,  $W_k$  definuje disperzi klastru a  $N$  definují počet vzorků v klastru.

Krzanowski-Lai index je nejvyšší v tom bodě, kde je identifikována nejvyšší změna křivky chybové funkce. Maximum výrazně přesahující ostatní hodnoty je poté stanoveno jakožto optimální počet shluků. KL kritérium využívá pro výpočet hodnoty kritéria určité třídy mikrostavu i výsledky z předchozí a následující třídy, proto ho nelze vypočítat v okrajových bodech. Výpočet KL indexu je definován následujícími vztahy [38]:

$$diff(K) = (K - 1)^{(2/C)} W_{K-1} - K^{(2/C)} W_K \quad (4.8)$$

$$KL(K) = \left| \frac{diff(K)}{diff(K + 1)} \right| \quad (4.9)$$

kde  $k$  definuje klastr,  $C$  je počet kanálů EEG a  $W$  je disperze klastru.

Všechna kritéria byla po výpočtu normalizovaná na hodnoty od 0 do 1. Ta kritéria, která předpokládají co nejmenší výslednou hodnotu byla přepočítána tak, aby maximum bylo rovno jedné. Byla použita normalizace minimem a maximem.

Jelikož při klastrování dochází k výběru pouze několika set špiček (v celkovém signálu u jednoho subjektu se jich nachází většinou kolem 2000-3000) bylo provedeno 100 iterací výběru špiček. Při každé iteraci proběhl výpočet optimálního počtu klastrů a poté byl určen medián. Byly porovnány výsledky obou kritérií, jak CV kritéria, tak i metakritéria. Optimální počet klastrů se rovná počtu výsledných mikrostavů, které u člověka nejčastěji vycházejí čtyři [22, 23, 24, 25].

### 4.4.3 Mapy mikrostavů

Výpočet finálních hodnot tříd mikrostavů každého subjektu probíhá pomocí funkce *pop\_FindMSTemplates1.m* [39]. Pro každý klastr je vypočtena prototypická topografická mapa na základě všech vzorků EEG, které jsou k danému klastru přiřazeny. Předpokladem je, že vzorky EEG přiřazené ke stejnému klastru pocházejí ze stejných neuronálních procesů, a proto z nich lze vytvořit jednu topografickou mapu [38].

### 4.4.4 Šablony pro topografické mapy a třídění map mikrostavů

Pro topografické mapy mikrostavů identifikovaných v lidském EEG již lze nalézt šablony s uloženými topografickými mapami tříd mikrostavů. Jelikož rozložení elek-

trod je u člověka jiné, než je tomu u potkana, bylo nutné si pro tento případ vytvořit vlastní šablonu. Pro tvorbu šablony byl použit klidový signál nasnímaný z potkanů před začátkem testování. Po zpracování pomocí analýzy mikrostavů byly získány mikrostavy jednotlivých jedinců. Průměrem těchto signálů mezi všemi jedinci byla získána šablona map mikrostavů sloužící jako reference. Šablona poté sloužila k třídění topografických map do předem definovaných tříd.

Třídění map probíhá pomocí funkce *pop\_SortMSTemplates.m* [39]. Dle šablony, která je jedním ze vstupů této funkce, jsou hodnoty, které byly pro jednotlivé mikrostavy vypočtené pomocí AAHC algoritmu, setříděny dle šablony pomocí funkcí *ArrangeMapsBasedOnMean.m* a *SwapMaps.m* [39].

#### 4.4.5 Tvorba a zobrazení map mikrostavů

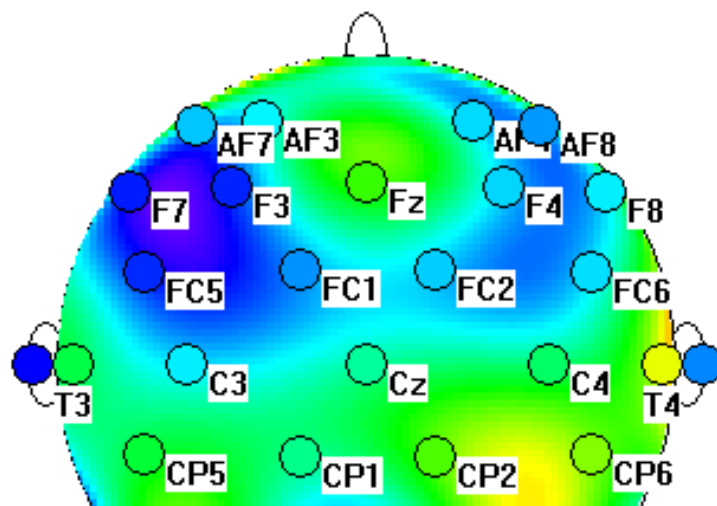
Z předem uložených hodnot jsou posléze dopočítávány celé mapy pomocí interpolace. Funkce, která provádí finální úpravu mapy, je nazvána *pop\_ShowIndMSMaps1.m* [39]. Pomocí této funkce lze získat mapy mikrostavů, které jsou tónované v barvách od červené do modré, normalizované mezi hodnotami -1 až 1.

Polarita definovaná tmavě modrou a červenou barvou označuje vyšší mozkovou aktivitu. Nižší mozková aktivita je definována bílou barvou, případně pak světlejšími odstíny modré a červené. Nelze přesně definovat, která barva definuje záporný, a která barva definuje kladný výkyv. Polarita je ignorována z toho důvodu, že stejný shluk neuronů se na skalp může propagovat s obojí polaritou. V této diplomové práci byla modrá barva použita pro záporné výkyvy signálu EEG a červená barva pro kladné výkyvy signálu EEG.

Funkce *dspCMap.m* [39], která je využívána funkcí *pop\_ShowIndMSMaps.m*, byla při zobrazení potkaních map upravena. Pro získání mapy mikrostavů potkana byla vytvořena funkce *dspCMap\_potkan.m*, kde je vložena jiná maska, podle které se výsledné mapy zobrazují. Funkce na vytvoření masky byla pojmenována *mask1.m*. Zobrazen je tvar připomínající isocortex potkana, na kterém jsou umístěny všechny elektrody.

#### 4.4.6 Interpolace

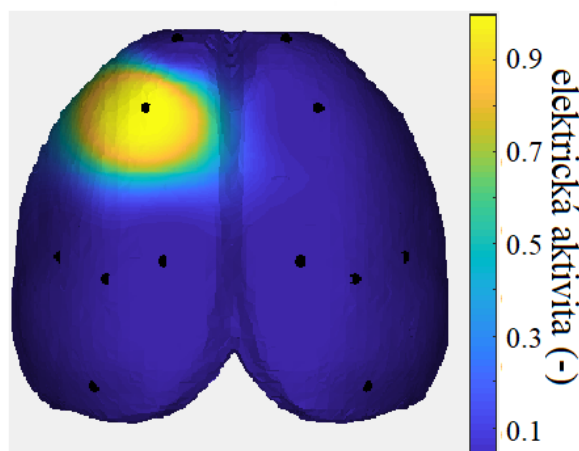
Interpolace signálu je využita při topografickém mapování, a to jak u 2D, tak i 3D map. Interpoláční mechanismy jsou matematické výpočty, pomocí kterých se dá zjistit pravděpodobná hodnota veličiny v bodě, kde žádné měření neproběhlo. Při použití menšího počtu elektrod je dopočítávaný signál méně přesný.



Obrázek 4.11: Příklad spline interpolace - převzato z [66]

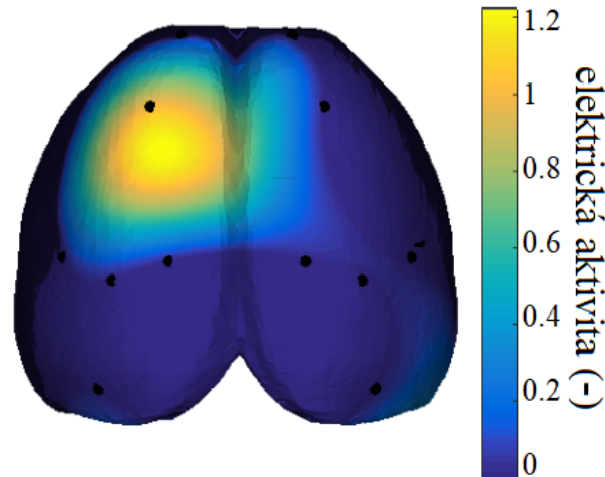
U potkanů kmene Wistar byly ve 3D prostoru testovány 3 nejčastější metody používané v 3D topografickém mapování: 3D spline, 3D barycentrická a 3D sférická spline interpolace. Obrázky 4.12, 4.13 a 4.14 graficky znázorňují výsledky jednotlivých interpolačních metod. K vizualizaci rozdílů mezi metodami byl použit testovací signál:  $V=[0,0,1,0,0,0,0,0,0,0,0]$ , který byl umístěn pod elektrody. Dopočet virtuálních bodů proběhl dle jednotlivých metod.

Barycentrická interpolace je jednou z jednodušších interpolací. Virtuální body jsou dopočítávány dle vzdálenosti od všech elektrod. Dochází zde k váhování elektrického potenciálu naměřeného na jednotlivých elektrodách vzhledem k jejich vzdálenosti od interpolovaného bodu. Nejvíce je dopočtený bod ovlivněn nejbližší elektrodou.



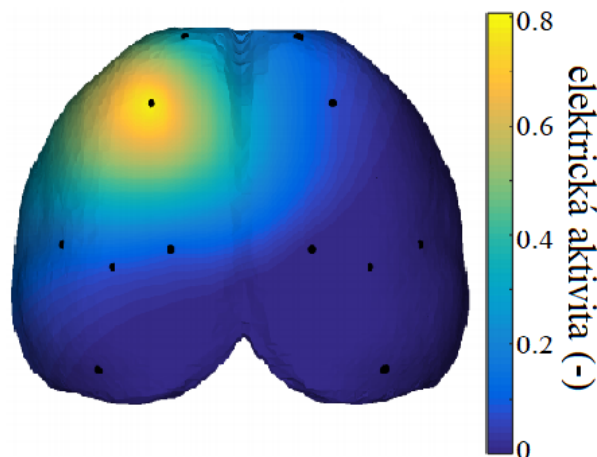
Obrázek 4.12: Příklad 3D barycentrické interpolace.

Pro dopočet pomocí sférické spline interpolace, je nutno zkonstruovat pomocnou rovinu ve tvaru polokoule, na kterou jsou promítnuty elektrody. Toto probíhá přepočtem přes koeficienty. Sférický spline používá k dopočtu intenzity bodů v modelu Legendrovy polynomy. [67]



Obrázek 4.13: Příklad 3D sférické spline interpolace. Převzato z [67] a upraveno.

Spline interpolace využívá pro dopočetní hodnoty funkci, která stanovuje velikost elektrického potenciálu v interpolovaných bodech. Nejprve se stanoví vzdálenost a vztah mezi souřadnicemi elektrod. Poté se pomocí koeficientů (spočítaných pomocí spline funkce) stanoví interpolovaná hodnota. Není zde potřeba žádná pomocná rovina.



Obrázek 4.14: Příklad 3D spline interpolace. Převzato z [67] a upraveno.

Pomocí 3D spline interpolace bylo u potkanů dosaženo nejmenší směrodatné odchylky mezi aproximovanými a skutečnými hodnotami signálu EEG, viz obrázek 4.14. 3D barycentrická interpolace byla velmi přesná v okolí elektrod, ale prokazovala

značné nepřesnosti při distribuci potenciálu dle vzdálenosti mezi elektrodami na hranicích mezi jednotlivými elektrodami. Pomocí sférické spline interpolace bylo dosaženo řádově horších výsledků. Byla tedy potvrzena domněnka, že aproximace pomocí polokoule je možná, ale výsledky získané pomocí této aproximace jsou méně přesné. [68]

Oproti tomu u lidského EEG byla za nejlepší interpolaci experimentálně vyhodnocena sférická interpolace [2], proto je i ostatními autory [26, 30] využívána při zobrazení map mikrostavů. Pro zobrazení topografické mapy potkaního záznamu byla využita spline interpolace, jelikož výsledky směrodatné odchylky pomocí této interpolace byly nejpřesnější.

#### 4.4.7 Parametry mikrostavů

U mikrostavů se nejčastěji stanovují parametry průměrná doba trvání, výskyt v mikrostavech, frekvence výskytu a procentuální vysvětlenost dat. Tyto parametry se posléze statisticky zpracovávají a dochází k jejich porovnávání při změně vstupních podmínkách.

Procento vysvětlenosti signálu se měří nejčastěji pomocí procenta rozptylu dat, které vysvětluje danou sadu map mikrostavů. Proměnná, která toto popisuje je procentuální vysvětlenost dat (global explained variance, GEV) a je dána vztahem [69]:

$$GEV = \frac{(corr(x_i, a_k)) \cdot GFP_i^2}{\sum_{i'}^N GFP_{i'}^2} \quad (4.10)$$

kde  $x_i$  definuje vzorek nahrávaného EEG,  $a_k$  je prototyp mapy mikrostavu,  $N$  je počet vzorků a  $corr$  je sloupcová korelace.

U délky trvání mikrostavu se řeší buďto celková délka, anebo průměrná délka, po kterou výskyt daného mikrostavu zůstává stabilní. Průměrná délka trvání se stanovuje jako průměrný počet mikrostavů za sekundu. Celková délka je poté brána jako celkový počet mikrostavů za minutu. S délkou mikrostavů se taktéž váže i procentuální čas, což je procento analyzovaného času, po který byly klasifikovány mikrostavy. [26]

Frekvence výskytu je definována jako frekvence výskytu topografické mapy za čas. Většinou bývá uvažována jedna sekunda. Posledním zkoumaným parametrem je výskyt v mikrostavech, který je dán počtem mikrostavů jedné třídy mikrostavu vyskytující se během jedné sekundy. [5]

Pro výpočet parametrů průměrné doby trvání, frekvence výskytu a výskytu v mikrostavech platí následující vztahy [70]:

$$\text{průměrná doba trvání}_k = \frac{\sum_{i=1}^N d_i}{N_m} \quad (4.11)$$

$$\text{frekvence výskytu}_k = \frac{N_m}{t} \quad (4.12)$$

$$\text{výskyt v mikrostavech}_k = \frac{\sum_{i=1}^N d_i}{t_{max}} \quad (4.13)$$

kde  $d_i$  je délka trvání mikrostavu,  $k$  definuje daný mikrostav,  $t$  délka periody, kdy je mikrostav dominantní  $t_{max}$  je celková doba záznamu EEG a  $N_m$  je počet mikrostavů.

## 4.5 Statistické vyhodnocení

Výsledné parametry mikrostavů byly nakonec statisticky zpracovány. U potkanů bylo provedeno snímání EEG před a po podání léčiva, proto lze použít t-test. Byl zkoumán i parametr dvou nezávislých výběrů. V tomto případě byl použit dvouvýběrový nepárový t-test. Předpokladem je, že dané parametry mají normální rozdělení, a proto je nutné nejdříve testovat normalitu dat.

### 4.5.1 Testování normality dat

Existuje mnoho testů, pomocí kterých lze otestovat normalitu dat. Vybrán byl test Jarque-Bera [71]. Nulovou hypotézou testů normality je, že vzorky z náhodného výběru pochází z normálního rozdělení. Pokud vyjde p-hodnota vyšší než zvolená hladina významnosti  $\alpha$ , tak zvolená data pocházejí z normálního rozdělení, pokud je hodnota nižší, normalita dat se zamítá.

Jarque-Bera (JB) test porovnává tvar daného rozdělení, jeho špičatost a šikmost, s normálním rozdělením. Tento test byl použit např. i ve studii [72]. Výpočet JB test je definován následovně [71]:

$$\begin{aligned} JB &= n \left( \frac{(k_3)^2}{6} + \frac{(k_4)^2}{24} \right) \\ K_3 &= \frac{\sum_{i=1}^N (x - \bar{x})^3}{ns^3} \\ K_4 &= \frac{\sum_{i=1}^N (x - \bar{x})^4}{ns^4} - 3 \end{aligned} \quad (4.14)$$

kde  $x_i$  je vzorek z výběru,  $s$  je směrodatná odchylka,  $K_3$  je koeficient šikmosti,  $K_4$  je koeficient špičatosti a  $N$  je počet vzorků.

Tento test byl proveden v MATLABu pomocí balíčku testy normality [73]. Po zjištění normality byl proveden párový t-test a nepárový dvouvýběrový t-test.

#### 4.5.2 T-test

T-test bývá využit ke statistickému zhodnocení výsledků s normálním rozložením. Testované hypotézy jsou:

- Normální rozdělení, z kterého pochází náhodný výběr, má konkrétní střední hodnotu (specifikovanou nulovou hypotézou) a rozptyl je neznámý.
- Dva nezávislé výběry s normálním rozdělením mají stejnou střední hodnotu.

Párový test je jednou z možností t-testu. Vyznačuje se tím, že se pro náhodný výběr poskytuje dvojice hodnot. Tyto hodnoty jsou získány od jednoho probanda z dvou různých měření, jedná se tedy o dvojici na sobě závislých hodnot. Pokud je rozdíl hodnot, viz jmenovatel v rovnici 4.15, brán jakožto jedno číslo lze tento test brát za specifický případ jednovýběrového t-testu. Nulovou hypotézou je v tomto případě: rozdíl středních hodnot párových měření je roven nule. [74]

Dvouvýběrový t-test se využívá pro 2 nezávislé výběry. Nulovou hypotézu pro tento typ testu lze stanovit následovně: Střední hodnota výběru 1 a střední hodnota výběru 2 se na hladině významnosti  $\alpha$  neliší.

Aby bylo možné vyhledat v tabulkách, zda je výsledek statisticky významný či ne, je nutné stanovit si počet stupňů volnosti ( $n = n-1$ ) a hladinu významnosti  $\alpha$ . Pokud  $t$  je větší, než kritická hodnota  $t_\alpha$  získaná z tabulek, jedná se o statisticky významný rozdíl a zamítá se nulová hypotéza. Opakem by bylo  $t < t_\alpha$ . V tomto případě by se nulová hypotéza nezamítala a rozdíl by byl statisticky nevýznamný. Tento test lze využít pro všechny námi zjištěné parametry. T-test byl proveden v prostředí MATLAB pomocí funkce *ttest* a *ttest2* [43]. Vzorec pro výpočet t-hodnoty je dán vztahem [74]:

$$t = \frac{|\bar{x} - \mu_0|}{\sqrt{\frac{s^2}{n}}} \quad (4.15)$$

kde  $\bar{x}$  je aritmetický průměr,  $\mu_0$  je střední hodnotou výběru,  $s^2$  je rozptyl a  $n$  je počet párů.



## 5 Výsledky

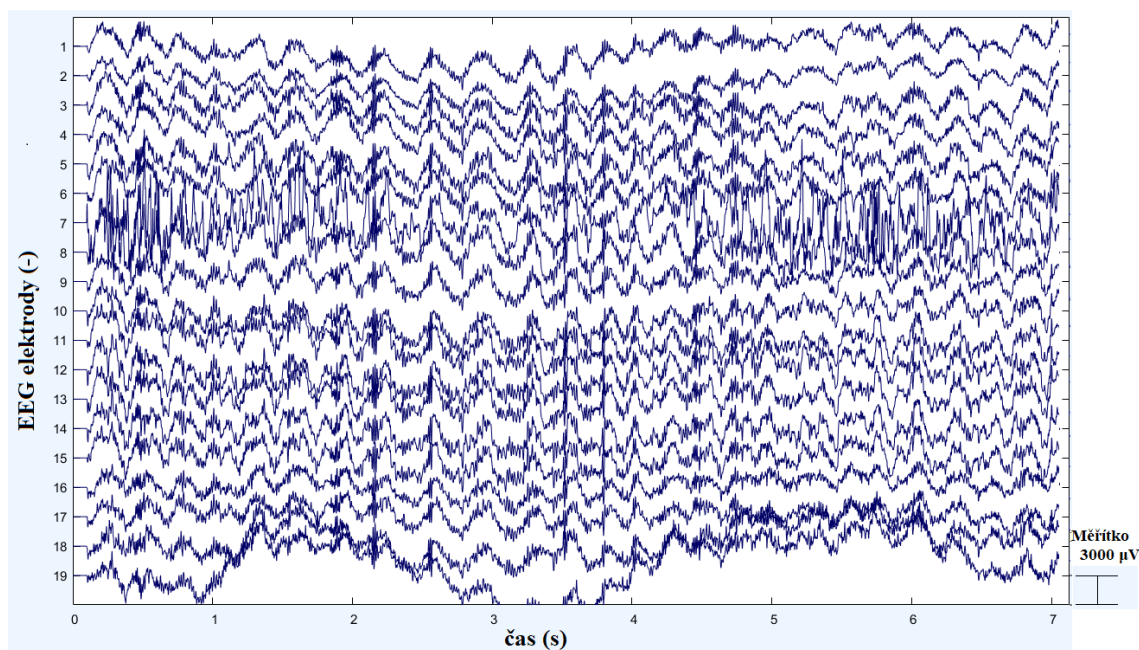
V této kapitole jsou uvedeny výsledky jednotlivých dílčích kroků, které musely být provedeny, aby mohly být získány výsledné topografické mapy a jejich parametry. Výsledky jsou rozděleny do podkapitol. V první podkapitole 5.1 se nachází výstupy z předzpracování signálu. Druhá podkapitola 5.2 se věnuje analýze mikrostavů a tvorbě map mikrostavů a v poslední podkapitole 5.3 se pak nacházejí výsledky ze statistického vyhodnocení.

### 5.1 Předzpracování dat

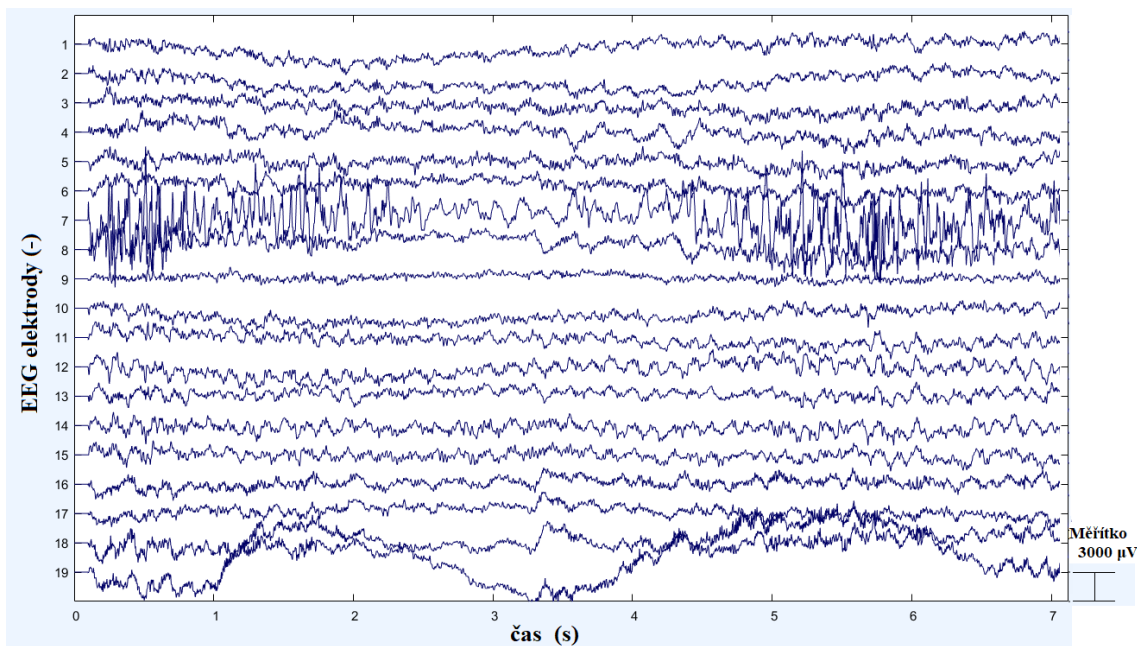
Postupně byly provedeny jednotlivé úpravy záznamu EEG, aby mohl být následně použit pro samotnou analýzu mikrostavů. Na obrázku 5.1 je znázorněn záznam EEG bez jakéhokoliv zpracování. V prvním kroku předzpracování záznamu byla na data aplikována průměrná reference, viz obrázek 5.2. V druhém kroku byly odstraněny úseky s behaviorální aktivitou, viz obrázek 5.3.

V obrázku 5.4 vlevo je znázorněný příklad artefaktu, který byl expertem označen k odstranění. Jedná se o úsek v záznamu mezi 19-20 s. V obrázku 5.4 vpravo, je záznam již po odstranění artefaktu.

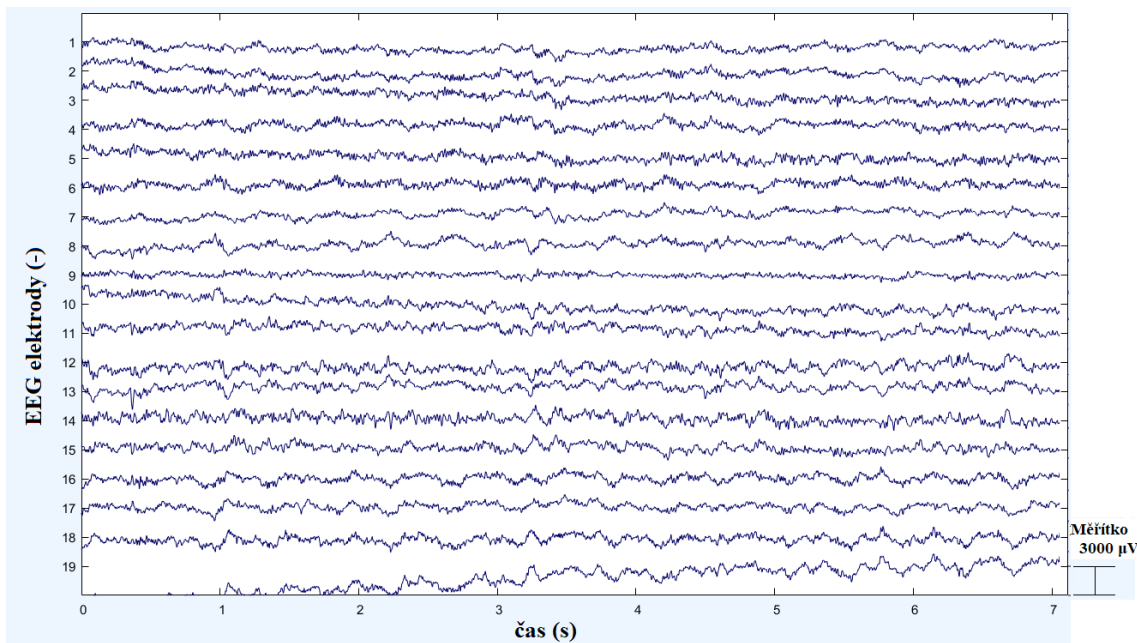
Poslední úpravou, která v rámci zpracování signálu proběhla, byla filtrace pomocí bandpass filtru 1-40 Hz a 2-20 Hz. Záznam po filtraci 1-40 Hz lze nalézt na obrázku 5.5. Takto předzpracovaný záznam byl následně použit při analýze mikrostavů.



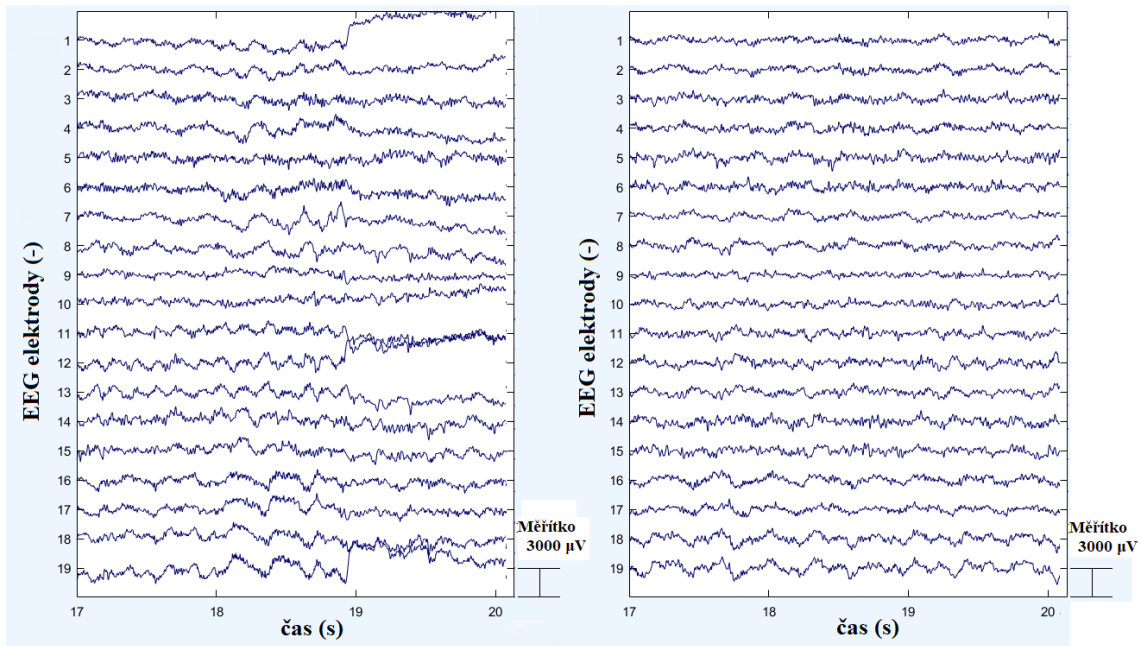
Obrázek 5.1: Záznam EEG potkana kmene Wistar bez jakéhokoliv předzpracování.



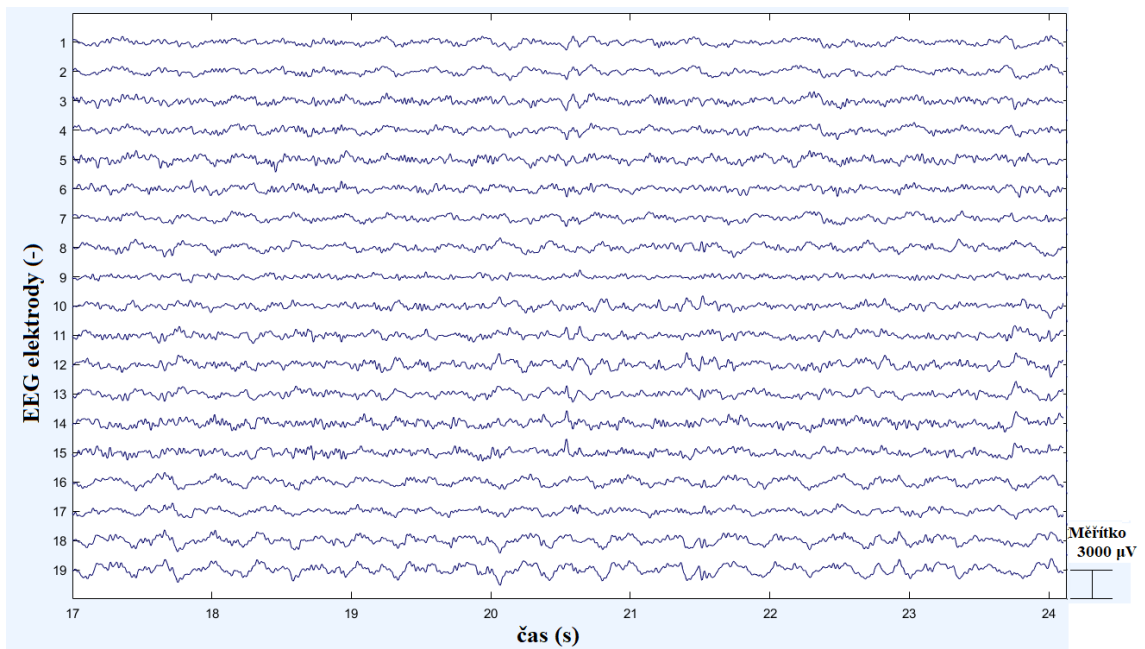
Obrázek 5.2: Průměrná reference záznamu EEG potkana kmene Wistar.



Obrázek 5.3: Záznam po odstranění aktivních behaviorálních segmentů.

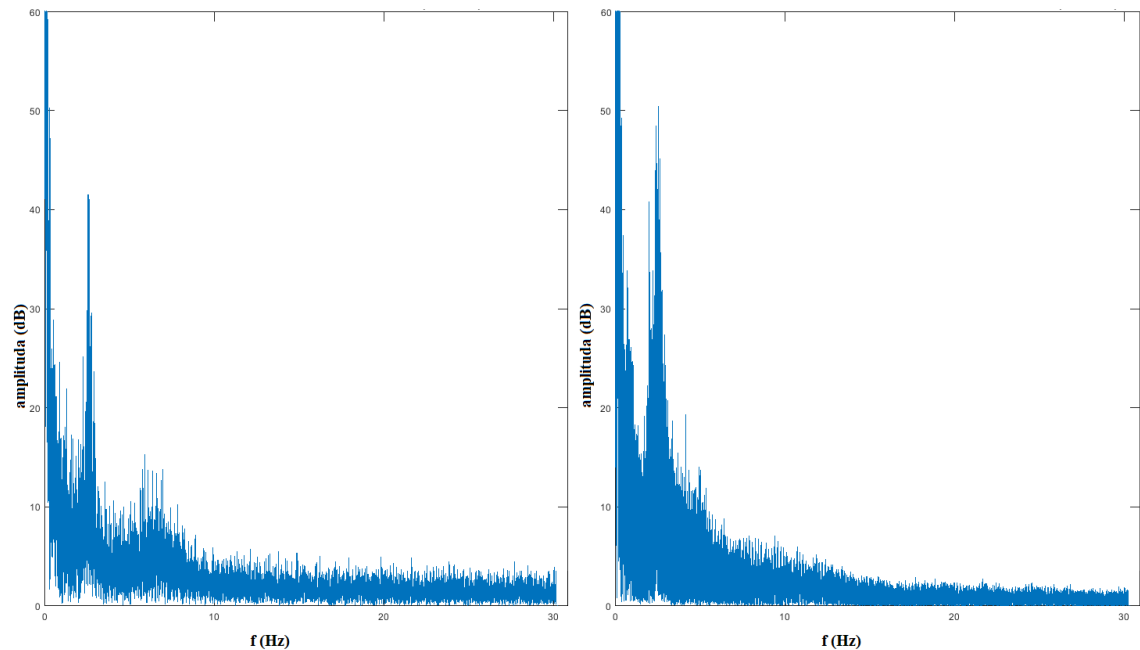


Obrázek 5.4: Záznam před odstraněním artefaktu vlevo a po odstranění artefaktu vpravo.



Obrázek 5.5: Záznam po filtraci 1-40 Hz.

Při odstranění aktivních behaviorálních segmentů došlo k následnému spojení pasivních behaviorálních segmentů pomocí splinu. Frekvenční spektrum dat před a po odstranění aktivních behaviorálních segmentů lze nalézt na obrázku 5.6.



Obrázek 5.6: Spektrum po odstranění aktivních behaviorálních segmentů vlevo a před odstranění aktivních behaviorálních segmentů vpravo.

## 5.2 Analýza mikrostavů a jejich zobrazení

Během analýzy mikrostavů byly vypočteny parametry, které lze statisticky vyhodnotit, mapy mikrostavů a byl validován optimální počet mikrostavů pomocí CV kritéria a metakritéria.

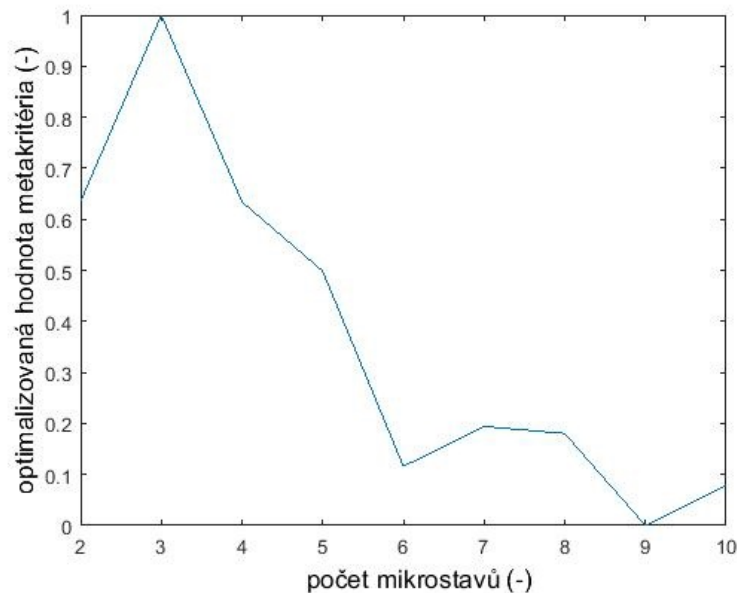
### 5.2.1 Stanovení optimálního počtu mikrostavů

Optimální počet mikrostavů byl zkoumán pomocí metakritéria. Ukázka výsledných hodnot parametrů včetně metakritéria pro jeden subjekt z jednoho výběru špiček z křivky GFP je zobrazen v tabulce 5.1. Hodnoty kritérií jsou normalizované mezi jedničkou a nulou. Obrázek 5.7 graficky znázorňuje normalizovanou hodnotu metakritéria pro jednotlivé počty mikrostavů.

Tabulka 5.1: Ukázka hodnot parametrů pro výpočet metakritéria pro jeden subjekt.

počet mikrostavů	2	3	4	5	6	7	8	9	10
FG	1,00	0,75	0,00	0,76	0,79	0,77	0,78	0,69	0,65
CV	0,96	1,00	1,00	0,96	0,90	0,82	0,72	0,60	0,23
DB	0,00	1,00	1,00	0,97	0,97	0,97	0,98	0,97	0,95
Dunn	1,00	0,75	0,75	0,50	0,00	0,00	0,23	0,23	0,31
KL	x	1,00	0,70	0,67	0,60	0,00	0,21	0,45	x
W	1,00	0,99	0,74	0,62	0,56	0,61	0,15	<0,01	0,00
<b>metakritérium</b>	<b>0,64</b>	<b>1,00</b>	<b>0,63</b>	<b>0,50</b>	<b>0,12</b>	<b>0,19</b>	<b>0,18</b>	<b>0,00</b>	<b>0,08</b>

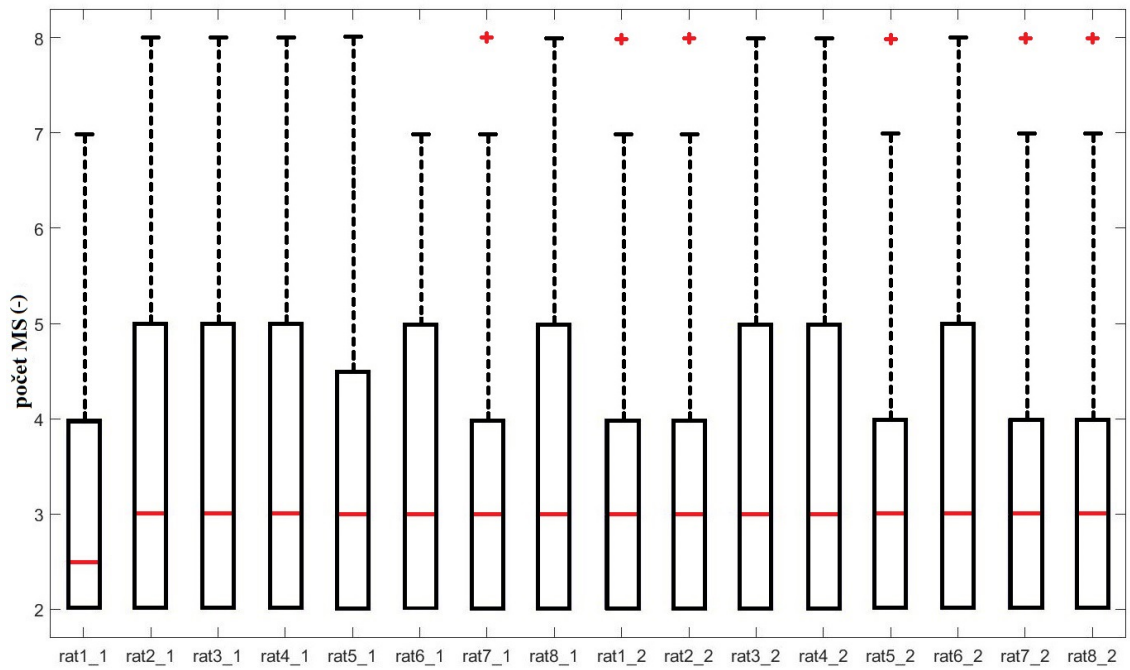
x - symbolizuje hodnotu, která nemohla být vypočtena



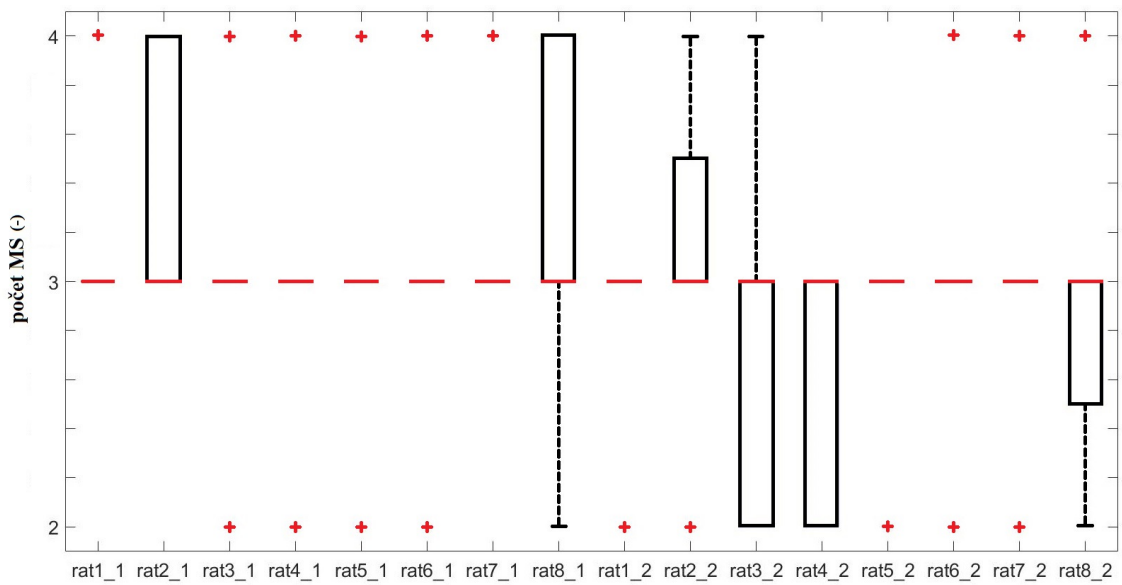
Obrázek 5.7: Výsledek výpočtu jedné iterace metakritéria pro jeden subjekt.

Za účelem porovnání bylo metakritérium počítáno pro každý subjekt. Boxploty zobrazení výsledných hodnot pro metakritéria jsou pro jednotlivé subjekty zobrazeny na obrázku 5.8. Červená čára označuje medián, červený křížek definuje odlehlé hodnoty, hranice samotného boxplotu určuje hodnoty 25 a 75 percentilu a nožičky boxplotu značí extrémní hodnoty, které ještě nejsou definované jako odlehlé hodnoty.

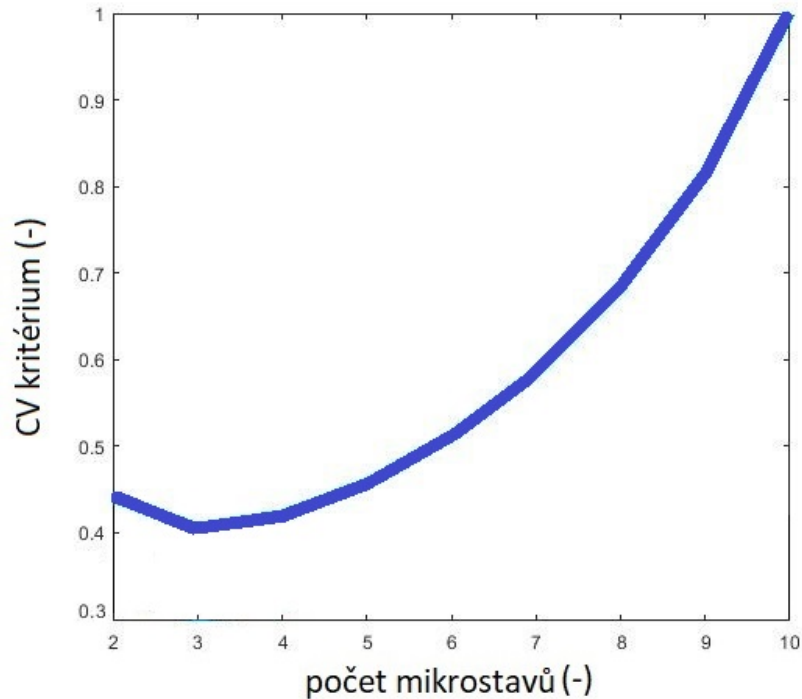
CV kritérium bylo druhým zkoumaným kritériem, pomocí kterého lze určit optimální počet mikrostavů. Hledaná hodnota kritéria je dle definice ta nejnižší. Hodnoty kritéria jsou graficky znázorněny na obrázku 5.9. Pro stanovení hodnot kritéria byl použit medián ze 100 náhodných výběrů špiček z křivky GFP. Obrázek 5.10 prezentuje výsledky CV kritéria taktéž po sto iteracích. Hodnoty CV kritéria byly normalizovány mezi 0-1. Nejnižší hodnoty byly naměřeny při počtu mikrostavů rovnajícím se třem.



Obrázek 5.8: Optimální počet MS pomocí metakritéria pro všechny subjekty.



Obrázek 5.9: Optimální počet MS pomocí CV kritéria - pro všechny subjekty.

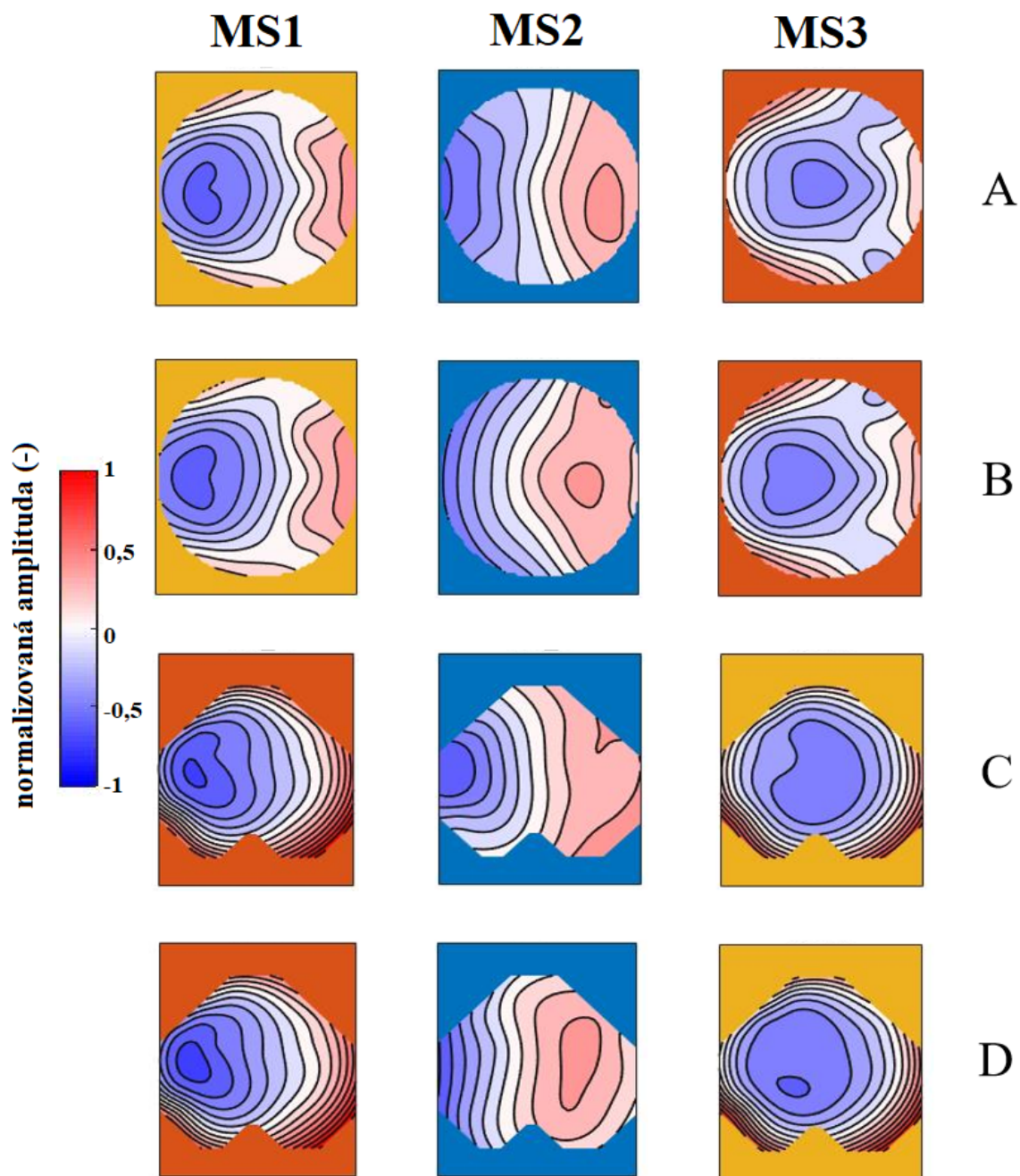


Obrázek 5.10: Optimální počet MS pomocí CV kritéria - jeden subjekt, průměr ze 100 výběrů GFP špiček.

### 5.2.2 Mapy mikrostavů

Topografické mapy jednotlivých mikrostavů byly vytvořeny pro tři mikrostavy, které jsou znázorněné na obrázku 5.11. Topografické mapy byly zobrazeny, jak pomocí šablony hlavy člověka (celý mozek aproximovaný kruhem), tak i potkana (isocortex), které se liší umístěním elektrod, a proto i svým vzhledem. Analýza dat prostřednictvím aproximace na šablonu člověka mohla být provedena z důvodu stejného funkčního rozložení elektrod. Tato analýza byla provedena za účelem predikce možností analýzy prostřednictvím mikrostavů na lidských subjektech. Mapy byly zobrazeny pro dvě různé filtrace a to 1-40 Hz viz obrázek 5.11 A), C) a 2-20 Hz obrázek 5.11 B), D).

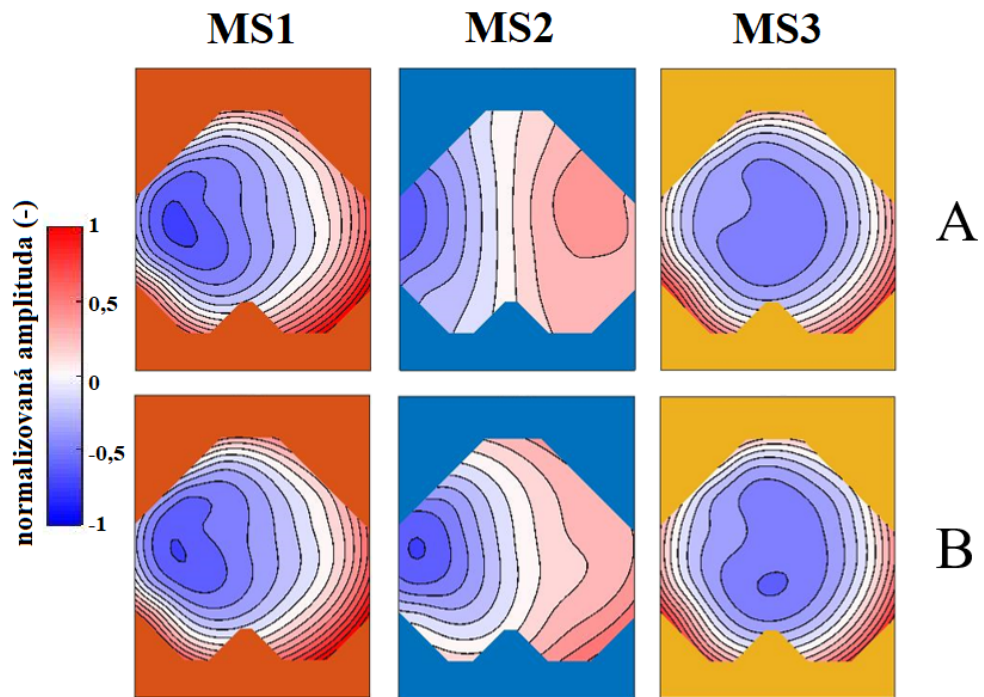
Veličina znázorněná škálou od -1 do 1 u zobrazovaných topografických map je normalizovaná hodnota amplitudy signálu EEG.



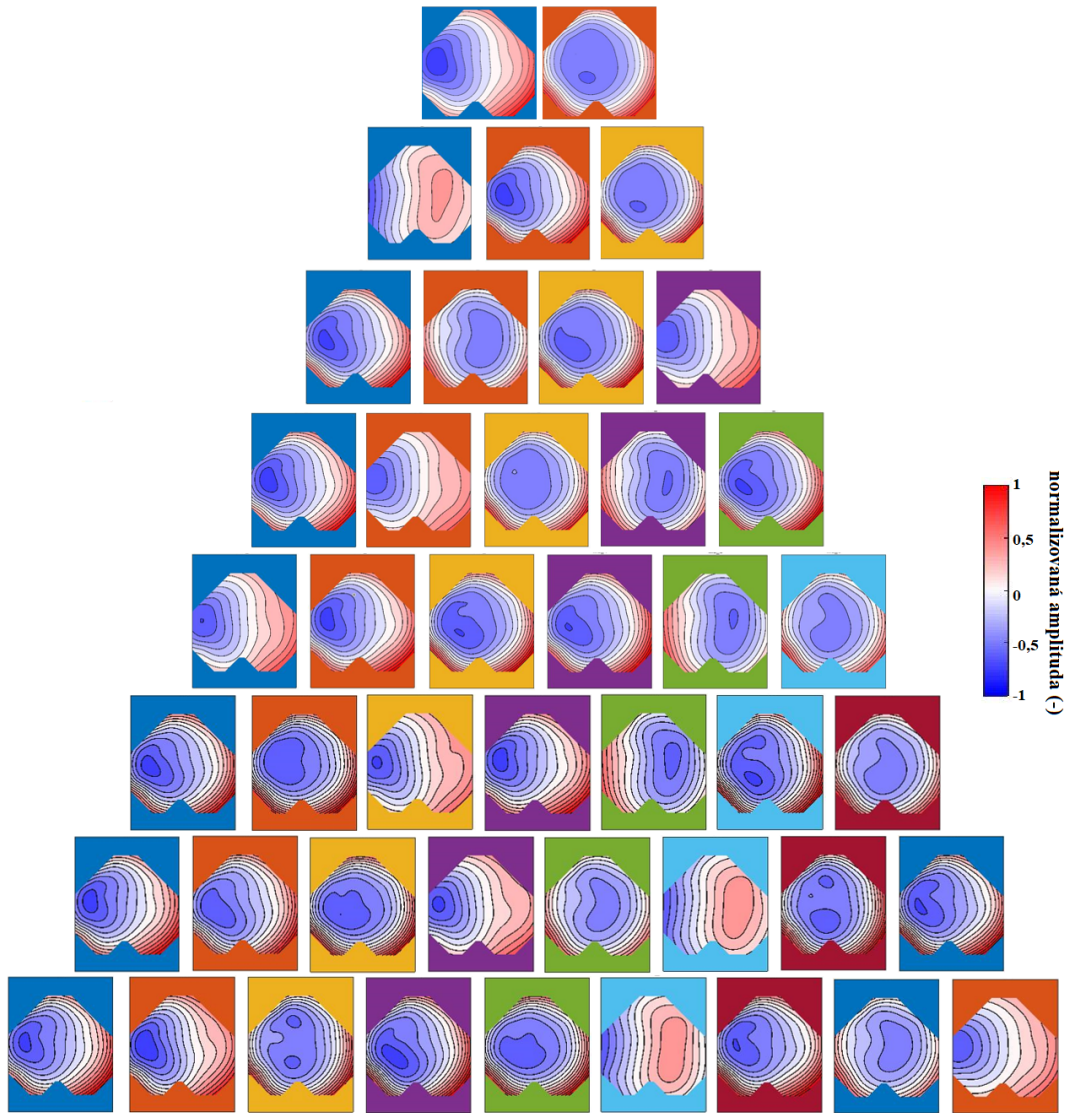
Obrázek 5.11: Mapy mikrostavů při rozložení elektrod jako u člověka A-B) a potkana C-D), přičemž filtrace dat byla rozdílná: A), C) filtrace 1-40 Hz B), D) filtrace 2-20 Hz.



Příspěvky GEV jednotlivých map lze nalézt v tabulce 5.9. Charakteristiky map lze pozorovat v obrázku 5.13.



Obrázek 5.12: Mapy mikrostavů pro průměry skupin dat získaných z potkanů před a po podáním psilocinu.



Obrázek 5.13: Mapy mikrostavů pro jednotlivé počty MS.

### 5.3 Statistické vyhodnocení

Pro hodnocení mikrostavů mezi dvěma skupinami byly vybrány následující parametry: frekvence výskytu, výskyt v mikrostavech a průměrná doba trvání. Zvlášť byl poté vyhodnocován i parametr GEV. Výsledné parametry byly prezentovány zvlášť pro každou skupinu subjektů měření před podáním látky a po podání látky. Tabulka 5.2 popisuje průměrné hodnoty těchto parametrů po filtraci ve frekvenčním rozsahu 2-20 Hz. Tabulka 5.3 popisuje průměrné hodnoty těchto parametrů po filtraci ve frekvenčním rozsahu 1-40 Hz.

Tabulka 5.2: Průměrné parametry tříd mikrostavů při použití filtrace 2-20 Hz.

Parametr	Základní data			Data po podání látky		
	MS1	MS2	MS3	MS1	MS2	MS3
Frekvence výskytu ( $s^{-1}$ )	2,31	2,65	2,53	2,23	2,80	2,54
Výskyt v mikrostavech (-)	0,26	0,40	0,34	0,24	0,43	0,33
Průměrná doba trvání ( $s$ )	0,11	0,15	0,14	0,11	0,15	0,13

Tabulka 5.3: Průměrné parametry tříd mikrostavů při použití filtrace 1-40 Hz.

Parametr	MS1	MS2	MS3	MS1	MS2	MS3
Frekvence výskytu ( $s^{-1}$ )	3,00	3,31	3,09	2,87	3,42	2,93
Výskyt v mikrostavech (-)	0,28	0,40	0,32	0,27	0,44	0,29
Průměrná doba trvání ( $s$ )	0,09	0,10	0,10	0,09	0,13	0,10

S ohledem na výběr statistického testu bylo provedeno testování normálního rozložení dat. Testování normality probíhalo pro každý parametr, každý mikrostav a každou filtraci zvlášť. Pro testování byl použit JB test. Nulová hypotéza byla, **H0**: Data pochází z normálního rozdělení. Výsledné p-hodnoty při použití JB testu na data filtrovaná v rozsahu 1-40 Hz jsou uvedeny v tabulce 5.4. Výsledné p-hodnoty při použití JB testu na data filtrovaná v rozsahu 2-20 Hz jsou uvedeny v tabulce 5.5.

Tabulka 5.4: Výsledky testování normality parametrů pomocí JB testu pro data po filtraci ve frekvenčním rozsahu 1-40 Hz. V tabulce jsou uvedeny p-hodnoty a výsledek přijmutí či zamítnutí nulové hypotézy při hladině významnosti  $\alpha = 0,05$ .

Skupina	Parametr	p-hodnota (-)			H0*
		MS1	MS2	MS3	
základní data	Průměrná doba trvání	0,71	0,63	0,66	1
	Frekvence výskytu	0,95	0,66	0,57	1
	Výskyt v mikrostavech	0,79	0,53	0,30	1
po podání látky	Průměrná doba trvání	0,71	0,82	0,62	1
	Frekvence výskytu	0,76	0,69	0,73	1
	Výskyt v mikrostavech	0,82	0,76	0,99	1

\*Normální rozdělení = 1, nenormální rozdělení = 0

Tabulka 5.5: Výsledky testování normality parametrů pomocí JB testu pro data po filtraci ve frekvenčním rozsahu 2-20 Hz. V tabulce jsou uvedeny p-hodnoty a výsledek přijmutí či zamítnutí nulové hypotézy při hladině významnosti  $\alpha = 0,05$ .

Skupina	Parametr	p-hodnota (-)			H0*
		MS1	MS2	MS3	
základní data	Průměrná doba trvání	0,92	0,38	0,61	1
	Frekvence výskytu	0,80	0,48	0,60	1
	Výskyt v mikrostavech	0,80	0,25	0,50	1
po podání látky	Průměrná doba trvání	0,64	0,78	0,71	1
	Frekvence výskytu	0,77	0,79	0,80	1
	Výskyt v mikrostavech	0,76	0,85	0,75	1

\*Normální rozdělení = 1, nenormální rozdělení = 0

Na základě výsledků testování normality byla zvolena parametrická varianta statistického testu, konkrétně párový t-test, pro testování parametrů průměrné doby trvání, výskytu v mikrostavech a frekvence výskytu. Nulová hypotéza byla, **H0**: Data se před a podání látky na hladině významnosti 5 % neliší. Výsledné p-hodnoty t-testu jsou znázorněné v tabulce 5.6 a 5.7.

Délka trvání mikrostavu byla podrobena dalšímu statistickému zpracování. Tentokrát bylo pomocí nepárového t-testu sledováno trvání jednotlivých mikrostavů před a po podání látky, viz tabulka 5.8. Do nepárového t-testu vstupuje více než 4 000 dat (délek trvání mikrostavu). Nulová hypotéza byla, **H0**: Zkoumaný parametr pro každý mikrostav zvlášť se na hladině významnosti 5 % neliší.

Posledním statisticky zkoumaným parametrem byl GEV. Zkoumány byly jednotlivé příspěvky GEV pro jednotlivé třídy mikrostavů, viz tabulka 5.9, a i GEV souhrnný pro definovaný počet mikrostavů, viz obrázek 5.14.

Tabulka 5.6: Výsledky párového t-testu při porovnávání dat před a po podání látky pro data po filtraci ve frekvenčním rozsahu 1-40 Hz. V tabulce jsou uvedeny p-hodnoty a výsledek přijmutí či zamítnutí nulové hypotézy při hladině významnosti  $\alpha = 0,05$ .

Parametr	p-hodnota (-)			H0*
	MS1	MS2	MS3	
Průměrná doba trvání	0,87	0,21	0,61	0
Frekvence výskytu	0,42	0,62	0,17	0
Výskyt v mikrostavech	0,50	0,16	0,27	0

\*Nulová hypotéza: se zamítá = 1, se nezamítá = 0

Tabulka 5.7: Výsledky párového t-testu při porovnávání dat před a po podání látky pro data po filtraci ve frekvenčním rozsahu 2-20 Hz. V tabulce jsou uvedeny p-hodnoty a výsledek přijmutí či zamítnutí nulové hypotézy při hladině významnosti  $\alpha = 0,05$ .

Parametr	p-hodnota (-)			H0*
	MS1	MS2	MS3	
Průměrná doba trvání	0,64	0,60	0,09	0
Frekvence výskytu	0,65	0,40	0,13	0
Výskyt v mikrostavech	0,27	0,40	0,83	0

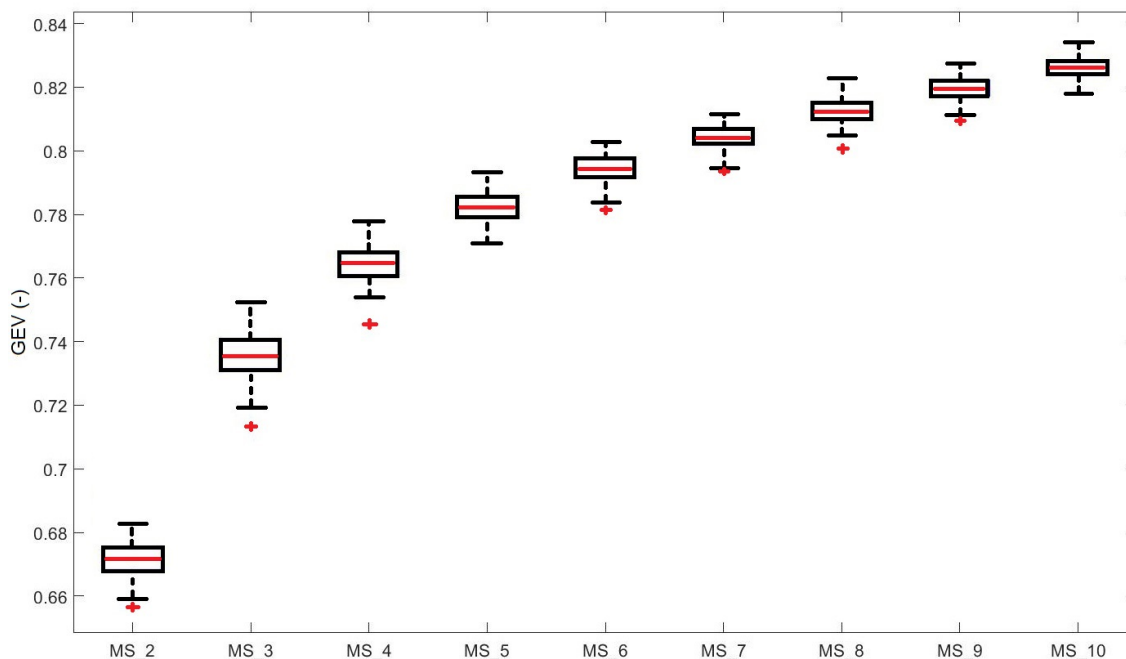
\*Nulová hypotéza: se zamítá = 1, se nezamítá = 0

Tabulka 5.8: Výsledky nepárového t-testu pro parametr délka trvání MS při porovnávání dat před a po podání psilocinu. V tabulce je uvedena p-hodnota při hladině významnosti 5 %. Porovnávání byli potkani jakožto skupina.

#### Délka trvání MS

	MS1		MS2		MS3	
	p-hodnota	H0*	p-hodnota	H0*	p-hodnota	H0*
Filtrace 1-40 Hz	0,045	1	<0,001	1	0,015	1
Filtrace 2-20 Hz	0,06	0	0,08	0	<0,001	1

\*Nulová hypotéza: se zamítá = 1, se nezamítá = 0



Obrázek 5.14: GEV souhrn pro všechny subjekty.

Rozdělení GEV v rámci mikrostavů se pro jednotlivé třídy neliší, viz tabulka 5.9. Z naměřených příspěvků GEV před (viz tabulka 5.9) a po podání (viz tabulka 5.10) psilocinu lze pozorovat, snížení vysvětlenosti dat přibližně o 2%.

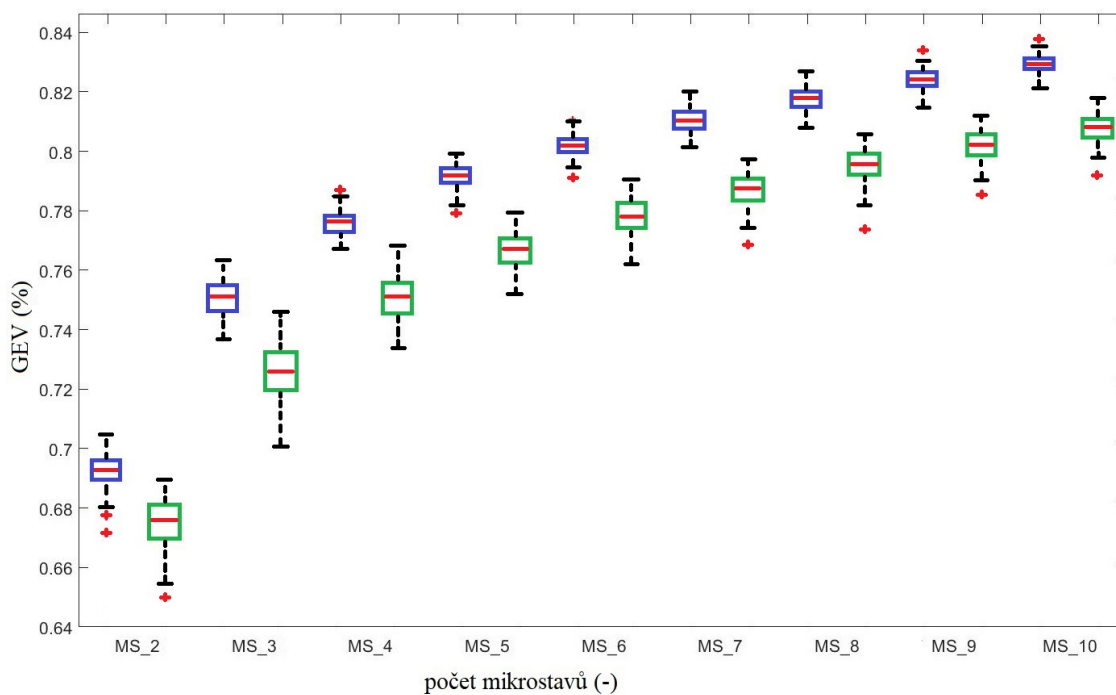
Tabulka 5.9: Příspěvek GEV v % pro každý MS při určitém počtu mikrostavů před podáním látky.

MS1	MS2	MS3	MS4	MS5	MS6	MS7	MS8	MS9
34,53	34,50	-	-	-	-	-	-	-
24,82	25,08	24,85	-	-	-	-	-	-
19,20	19,30	19,46	19,29	-	-	-	-	-
15,69	15,75	15,81	15,70	15,80	-	-	-	-
13,26	13,34	13,29	13,33	13,25	13,31	-	-	-
11,53	11,52	11,54	11,56	11,49	11,45	11,50	-	-
10,20	10,20	10,19	10,16	10,21	10,11	10,12	10,17	-
9,11	9,11	9,13	9,07	9,12	9,12	9,08	9,09	9,09

Na obrázku 5.15 jsou graficky znázorněné rozdíly celkového GEV. U obou skupin je tendence nárůstu a posléze stagnace GEV stejná. U všech počtů mikrostavů byl zaznamenaný signifikantní rozdíl. Výsledné hodnoty GEV na obrázku 5.15 byly stanoveny ze 100 náhodných výběrů špiček z GFP křivky u skupiny potkanů (před a po podání látky).

Tabulka 5.10: Příspěvek GEV v % pro každý MS při určitém počtu mikrostavů po podání látky

MS1	MS2	MS3	MS4	MS5	MS6	MS7	MS8	MS9
33,71	33,68	-	-	-	-	-	-	-
24,00	24,26	24,04	-	-	-	-	-	-
18,59	18,68	18,84	18,68	-	-	-	-	-
15,21	15,26	15,32	15,22	15,31	-	-	-	-
12,86	12,95	12,90	12,94	12,85	12,91	-	-	-
11,21	11,20	11,23	11,25	11,17	11,13	11,18	-	-
9,92	9,93	9,92	9,88	9,94	9,83	9,84	9,89	-
8,87	8,87	8,89	8,83	8,88	8,88	8,84	8,85	8,85



Obrázek 5.15: GEV pro jednotlivé počty mikrostavů před a po podání látky. Boxplot vlevo znázorňuje rozložení GEV před podáním látky (boxplot je znázorněn modrou barvou), zatímco boxplot vpravo po podání látky (boxplot je znázorněn zelenou barvou).

## 6 Diskuze

Hlavním výstupem diplomové práce je navržená a implementovaná metodika řešení analýzy mikrostavů u potkanů kmene Wistar v programovém prostředí MATLAB. Zahrnuto bylo předzpracování dat (s ohledem především na filtraci, odstranění artefaktů a montáž), implementace optimálního počtu mikrostavů a následné zobrazení topografických map mikrostavů. Metodika řešení byla navržena s ohledem na již používané analýzy mikrostavů u lidských záznamů EEG. Výsledky budou použity pro translační výzkum při zkoumání signálu EEG v Národním ústavu duševního zdraví. Metodika bude aplikována i v rámci experimentů s jinými látkami prováděných na potkanech kmene Wistar.

Diplomová práce je dělena na tři hlavní části a to předzpracování dat, analýzu mikrostavů a jejich zobrazení a nakonec statistické vyhodnocení výsledků. Bylo stanoveno, že veškeré předzpracování a další analýza budou prováděny pouze v prostředí MATLABu a jeho toolboxu EEGlab, který je vyvinutý přímo pro zpracování signálu EEG. Některé funkce musely být nově implementovány, protože je v tomto programovém prostředí zatím nikdo nevytvářel. Zpracování v rámci jednoho toolboxu bylo zvoleno za účelem přehlednějšího využití aplikace metodiky pro budoucí využití při analýze dat.

### 6.1 Diskuze vlivu filtrace na výsledek MS analýzy

Během analýzy studií zabývajících se zpracováním mikrostavů v signálu EEG u lidí bylo zjištěno, že nejčastěji bývá pro analýzu mikrostavů použit frekvenční rozsah 1-40 Hz a 2-20 Hz [21]. Z tohoto důvodu byly i u potkanů testovány oba rozsahy frekvencí a výsledky parametrů mikrostavů pro jednotlivé frekvenční rozsahy byly mezi sebou posléze porovnávány. Díky relativně nízké horní hranici frekvenčního rozsahu 40 Hz byla touto cestou odstraněna i většina svalových artefaktů. Proto byly v rámci předzpracování odstraňovány především pohybové artefakty a kabelové defekty, viz obrázek 5.4.

Z charakteristiky topografických map, viz obrázek 5.11, je zřetelné, že výsledné topomapy na základě obou šablon jsou velmi obdobné. Rozložení elektrod není natolik rozdílné, takže byl splněn předpoklad, že výsledné mapy je možné porovnávat. Rozdílná filtrace také nezměnila celkový charakter topografických map. Jsou zde viditelné rozdíly, ale nejvyšší aktivita mozku byla naměřena na stejných místech. Zřejmá je rozdílně velká plocha s nejvyššími hodnotami aktivity mozku při různé filtraci. Tyto rozdíly ovšem nezměnily celkovou podstatu topomapy. Lze tedy potvrdit, že změna ve filtraci při dostatečném odstranění artefaktů zásadně neovlivní výsledný charakter mikrostavu, viz obrázek 5.11.



Lidské mikrostavby mají délku většinou kolem 80-120 ms [21]. Z výsledků vyplývajících z této práce lze usoudit, že při filtraci 1-40 Hz průměrná délka trvání odpovídá tomuto intervalu, zatímco při filtraci 2-20 Hz jsou výsledné hodnoty mírně zvýšené. Tato informace je částečně závislá i na frekvenci výskytu mikrostavů. Čím méně často se mikrostavby v rámci určitého časového období střídají, tím je pravděpodobnější, že jejich trvání bude delší.

Bylo zkoumáno jak přesně filtrace ovlivňuje výsledné hodnoty sledovaných parametrů u jednotlivých mikrostavů, viz tabulky 5.6, 5.7 a 5.8. Frekvence výskytu se při filtraci 2-20 Hz pohybovala kolem  $2,5\text{ s}^{-1}$ , zatímco při filtraci 1-40 Hz vycházely hodnoty  $3,0\text{ s}^{-1}$  a více pro jednotlivé mikrostavby. Naměřený výskyt v mikrostavbech byl pro obě filtrace velmi podobný. Hodnoty se pohybovaly kolem 0,28 - 0,44. Průměrná doba trvání vycházela přibližně o 0,03 s nižší při filtrování pomocí frekvenčního rozsahu 1-40 Hz. Všechny výsledky byly zaznamenány v tabulce 5.2 a 5.3. Viditelné rozdíly se vyskytly u parametru frekvence výskytu a výskytu v mikrostavbech. Dochází zde k předpokládané změně, která zní: Zatímco se navýší frekvence výskytu mikrostavby, tak se průměrná doba trvání sníží.

V porovnání se studií [70] byly zjištěny obdobné hodnoty parametrů frekvence výskytu a výskytu v mikrostavbech. Průměrná doba trvání byla oproti lidským subjektům naměřena delší řádově o 0,05 s, což může být způsobeno tím, že nebyly zkoumány čtyři mikrostavby jako je tomu u lidí, ale jen tři.

## 6.2 Diskuze počtu mikrostavů

U lidských mikrostavů jsou optimálním počtem 4 mikrostavby a charakteristika tříd A-D je brána jako standard, viz obrázek 2.4. Pro zjištění optimálního počtu mikrostavů byla vybrána kritéria nejčastěji využívaná v lidských studiích. Studie nejčastěji zmiňují CV kritérium [23, 25]. Optimálním výsledkem CV kritéria je počet, který určuje nejnižší výsledek kritéria. Počet mikrostavů by v tomto případě vycházel 3, viz obrázek 5.9. Pokud by bylo CV kritérium sledováno v rámci rozpětí normalizovaných hodnot pro jednotlivé počty mikrostavů, tak je zřejmé, že rozdíl mezi hodnotami kritéria mezi 3 a 4 mikrostavby je velmi malý, viz obrázek 5.10. Proto bylo otestováno ještě jedno kritérium zvané metakritérium, které je také hojně využíváno [21, 75]. Většina studií, která se řídí jeho výsledky využívá program Cartool, kde jsou všechna kritéria, která se v rámci metakritéria využívají, již implementována. V rámci toolboxu EEGlabu ani pluginu Microstates ještě nebyla většina kritérií implementována. Proto bylo nutné v rámci této diplomové práce implementovat většinu posléze použitých kritérií. Z výsledku lze odvozovat, že počet mikrostavů mezi jednotlivými iteracemi výběru špiček z GFP křivky osciluje mezi 2-5 mikrostavby, ale nejčastějším počtem mikrostavů jsou 3. Výsledky získané pomocí

CV kritéria a metakritéria se shodují. Lze stanovit, že optimální počet mikrostavů potkana kmene Wistar je 3.

V rámci této práce byly definovány třídy mikrostavů, jejichž charakteristiky jsou:

- MS1: levá temporální,
- MS2: levá pre-frontální až levá occipitální,
- MS3: centrální.

Výsledné topografické mapy jsou poté zobrazeny jak pro šablonu znázorňující lidský mozek, tak i pro šablonu použitou pro mozek potkana, viz obrázek 5.11. Výsledné charakteristiky map se pro každou šablonu mírně liší. Tyto změny byly očekávané díky rozdílnému rozložení elektrod v prostoru.

Obě šablony mohly být použity za následujících předpokladů. Pro každý případ bylo uvažováno jiné rozložení elektrod. Pokud je brána v potaz šablona lidská, tak bylo na začátku zvoleno rozložení elektrod jako u mozku člověka, systém 10-20. V tomto případě lze zkoumat funkce jednotlivých center v mozku a jak se podobají těm lidským, ale nelze provádět úvahy související se vzdálenostmi elektrod. Pomocí této šablony lze stanovit podobnost mezi mikrostavami definovanými v této diplomové práci, viz obrázek 5.11, s čtyřmi již standardně definovanými charakteristikami mikrostavů u člověka mezi mikrostavem A a MS2 a také mezi mikrostavem D a MS3. Tyto topografické mapy pak lze porovnávat s topografickými mapami z jiných studií, které zkoumaly mikrostavu u schizofreniků.

Psilocin u potkanů způsobuje intoxikaci. Model schizofrenie u zdravých jedinců lze vytvářet právě pomocí halucinogenů jako je psilocin [76]. Výsledné mikrostavu lze díky záznamu EEG po podání psilocinu porovnávat se změnami v rámci analýzy mikrostavů u schizofreniků.

Statistickým parametrem, který bývá ve studiích zabývajících se mikrostavami často zmiňován je také GEV. Tento parametr byl zkoumán z několika úhlů. Nejprve byl stanoven GEV pro všechny subjekty dohromady a byl zkoumán jeho vývoj, viz obrázek 5.14. GEV do 6 mikrostavů relativně rychle narůstá a poté je jeho vývoj spíše stagnační. Z obrázku 5.13 lze usoudit, že každá přidaná třída mikrostavu od 6 tříd a výše vzniká rozdělením většinou dvou podobných charakteristik na tři velmi obdobné. Nevyskytuje se zde žádná nová charakteristika, proto i GEV nemůže být stále vyšší a vyšší. Přibližná hodnota pro 3 mikrostavu je kolem 74 % a pro 4 mikrostavu kolem 76 %, Tyto hodnoty jsou srovnatelné s většinou studií s lidskými subjekty, viz obrázek 2.4.

Dalším zkoumaným parametrem byla délka trvání každého mikrostavu. Ze všech osmi záznamů bylo získáno přes 4000 délek jednotlivých mikrostavů před a po podání psilocinu. Ty byly poté zhodnoceny nepárovým dvouvýběrovým t-testem, viz ta-

bulka 5.8. Signifikantní rozdíl vyšel při každé filtraci u jiného počtu mikrostavů. Zde je viditelné, že filtrace 2-20 Hz je více agresivní a tedy signifikantní rozdíly nebyly u všech MS viditelné. Oproti tomu při filtraci 1-40 Hz byly pozorovány signifikantní výsledky u všech mikrostavů. Výsledky získané z tohoto statistického vyhodnocení jsou obdobné výsledkům parametru průměrná délka mikrostavů z tabulky 5.3 a to především v případech, kdy byla vypočtena velmi malá p-hodnota.

U výsledných hodnot parametrů jednotlivých subjektů měření bylo zjišťováno jejich rozdělení a poté byly testovány a definovány signifikantní rozdíly na hladině významnosti 5 %. Všechny parametry vykazovaly normální rozdělení po otestování pomocí testu normality, viz tabulka 5.5 a 5.4. Zamítnutí nulové hypotézy se nepředpokládalo, jelikož 8 subjektů je malý výběr a rozdíl by musel být velmi výrazný, aby se při takto malém výběru projevil jako signifikantní.

### **6.3 Diskuze změny charakteru mikrostavů vlivem podání léčiva**

Při statistickém vyhodnocení výsledků došlo k porovnání vlivu podání léčiva, konkrétně psilocinu, na výsledný charakter mikrostavů a jejich parametrů. Pro všechny parametry byl proveden test normality a bylo zjištěno normální rozdělení dat. Poté byl proveden párový t-test. Bylo stanoveno, že vypočtené hodnoty parametrů před a po podání psilocinu se neliší. Výsledná p-hodnota před a po podání psilocinu se ve většině případů téměř neliší, viz tabulka 5.5 a 5.4.

Před a po podání psilocinu nedošlo ke změně charakteristiky mikrostavu, viz obrázek 5.12. Z výsledku v tabulce 5.2 a tabulce 5.3 je zřetelná změna parametrů před a po podání psilocinu u některých mikrostavů. Zatímco frekvence výskytu MS1 po podání psilocinu znatelně klesla, tak u MS2 došlo k opačnému jevu. U obou filtrací došlo ke stejné změně. Frekvence výskytu MS3 zůstávala stabilní. K drobné změně došlo také u parametru výskytu v mikrostavěch. Zatímco MS2 se vyskytoval častěji, tak u MS1 a MS3 došlo k drobnému snížení výskytu po podání látky. Průměrná doba trvání mikrostavů se před a po podání psilocinu změnila pouze u MS3. Po podání psilocinu došlo k mírnému poklesu délky trvání.

Ve studii [77] zaměřující se na zkoumání schizofrenie bylo zjištěno, že u mikrostavu D nedochází ke změně ve frekvenci výskytu mikrostavu u zdravých a nemocných pacientů. Délka tohoto mikrostavu se u nemocných jedinců mírně snižuje. Stejnou tendenci lze sledovat i u MS3 stanoveného v této práci. Došlo k porovnání právě tohoto mikrostavu, jelikož jeho charakter lze přirovnat k charakteru mikrostavu D. Stejně zjištění vychází ze studie [22].

Studie [77] zjistila, že u mikrostavu A se zvyšuje hodnota frekvence výskytu. Dochází k tomu i u v této práci definovaného MS2. Charaktery těchto mikrostavů jsou obdobné, a proto je lze porovnávat.

Taktéž byl zkoumán parametr GEV před a po podání psilocinu. GEV je po podání psilocinu nižší. Všechny rozdíly mezi počty mikrostavů jsou signifikantní. Rozdíl v GEV se pohybuje kolem 2% a je konstantní, viz obrázek 5.15. Dalším přístupem k hodnocení parametru GEV bylo zjistit, jaké jsou procentuální příspěvky GEV pro jednotlivé mikrostavy. Z tabulky 5.9 lze usoudit, že u žádného počtu mikrostavů nedochází ke zvýšení GEV pro jeden konkrétní mikrostav. Stejně jako z obrázku 5.15 je i z tabulky 5.10 zřejmé, že po podání látky je procentuální vysvětlenost dat konkrétního mikrostavu nižší.

## 6.4 Diskuze shrnutí

Dle navržené metodiky lze provést analýzu mikrostavů potkana kmene Wistar. Pokud by tato metodika měla být použita pro jiný zvířecí druh bude zapotřebí zjistit, zda je navržené předzpracování signálu dostatečné. Také bude nutné si vytvořit šablonu mozku daného zvířete pro zobrazení mikrostavů. Do budoucna lze tuto metodiku aplikovat na jiné testované látky a zjistit, zda je možný translační výzkum z potkana na člověka i v tomto případě.

## 7 Závěr

Cílem diplomové práce bylo vytvořit metodiku hodnocení animálních záznamů EEG v programovém prostředí MATLAB. Metodika byla vytvořena primárně pro potkana kmene Wistar, který se hojně využívá v rámci laboratorního testování. Pro tuto diplomovou práci byla použita reálná data, která byla získána z experimentu probíhajícího v Národním ústavu duševního zdraví.

V rámci analýzy mikrostavů u potkana kmene Wistar byla zkoumána dvě kritéria pro zjištění počtu mikrostavů a to metakritérium a CV kritérium. Pomocí obou kritérií byly identifikovány 3 mikrostavy. Byla vytvořena šablona mozku potkana lišící se svým tvarem od šablony lidského mozku, která je tvořena kruhem. Celkově bylo zpracováno 16 reálných animálních záznamů od osmi jedinců.

Experiment, ze kterého byla použita výsledná data se zabýval vlivem léčiva psilocin na záznam EEG. Výsledky byly porovnány s lidskými studii. Byla zjištěna podobnost parametru průměrná délka trvání mezi MS3 a mikrostavem D. Druhým zjištěním bylo zvyšování frekvence výskytu po podání psilocinu u MS2, které je porovnatelné s mikrostavem A. Porovnávány byly studie schizofreniků, jelikož psilocin se využívá při definování modelu schizofrenie.

Byla implementována a dle dostupné literatury poprvé použita metodika pro hodnocení záznamů EEG u potkanů kmene Wistar. Na datasetu osmi potkanů kmene Wistar byly identifikovány a interpretovány tři základní mikrostavy. Výstupy této práce včetně implementované metodiky lze využít v rámci traslančního výzkumu léčiv.

Interpolační metody v rámci topografického mapování u animálních záznamů byly prezentovány na mezinárodní konferenci o bioinženýrství (EHB) ve městě Iasi (Rumunsko).

## Seznam použité literatury

1. FLETCHER E., et al. Estimation of interpolation errors in scalp topographic mapping. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*. 1996, roč. 98, č. 5, s. 422–434. ISSN 00134694. Dostupné z DOI: [10.1016/0013-4694\(96\)95135-4](https://doi.org/10.1016/0013-4694(96)95135-4).
2. NOUIRA I., et al. EEG potential mapping by 3D interpolation methods. *2014 International Conference on Multimedia Computing and Systems (ICMCS)*. 2014, s. 469–474. ISBN 978-1-4799-3824-7. Dostupné z DOI: [10.1109/ICMCS.2014.6911297](https://doi.org/10.1109/ICMCS.2014.6911297).
3. TOGA, A. *Brain Mapping: An Encyclopedic Reference*. Elsevier Science, 2015. ISBN 9780123973160. Dostupné také z: <https://books.google.cz/books?id=ysucBAAAQBAJ>.
4. FARNSWORTH, B. *EEG vs. MRI vs. fMRI – What are the Differences?* Dánsko, Kodaň, 2019. Dostupné také z: <https://imotions.com/blog/eeg-vs-mri-vs-fmri-differences/>.
5. GIORDANO G., et al. Neurophysiological correlates of Avolition-apathy in schizophrenia: A resting-EEG microstates study. *NeuroImage: Clinical*. 2018, roč. 20, č. 1, s. 627–636. ISSN 22131582. Dostupné z DOI: [10.1016/j.nicl.2018.08.031](https://doi.org/10.1016/j.nicl.2018.08.031).
6. HENNIG J., et al. Functional magnetic resonance imaging: A review of methodological aspects and clinical applications. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*. 2003, roč. 18, č. 1, s. 1–15. ISSN 1053-1807. Dostupné z DOI: [10.1002/jmri.10330](https://doi.org/10.1002/jmri.10330).
7. OJA, E.; HARMELING, S.; ALMEIDA, L. Independent component analysis and beyond. *Signal Processing*. 2004, roč. 84, č. 2, s. 215–216. ISSN 01651684. Dostupné z DOI: [10.1016/j.sigpro.2003.11.005](https://doi.org/10.1016/j.sigpro.2003.11.005).
8. DAUWELS, J.; VIALATTE, F.; CICHOCKI, A. Diagnosis of Alzheimers Disease from EEG Signals: Where Are We Standing? *Current Alzheimer Research*. 2010-09-01, roč. 7, č. 6, s. 487–505. ISSN 15672050. Dostupné z DOI: [10.2174/156720510792231720](https://doi.org/10.2174/156720510792231720).
9. WIESER, H.; SCHINDLER, K.; ZUMSTEG, D. EEG in Creutzfeldt–Jakob disease. *Clinical Neurophysiology*. 2006, roč. 117, č. 5, s. 935–951. ISSN 13882457. Dostupné z DOI: [10.1016/j.clinph.2005.12.007](https://doi.org/10.1016/j.clinph.2005.12.007).
10. ELLENBROEK, B.; YOUN, J. Rodent models in neuroscience research: is it a rat race? *Dis Model Mech*. 2016-10-05, roč. 9, č. 10, s. 1079–1087. ISSN 1754-8403. Dostupné z DOI: [10.1242/dmm.026120](https://doi.org/10.1242/dmm.026120).
11. JIŘÍČEK, S. *Lokalizace zdrojů EEG u potkanů kmene Wistar*. Kladno, 2019.

12. LÖSCHER W., et al. Does prolonged implantation of depth electrodes predispose the brain to kindling? *Brain Research*. 1995, roč. 697, č. 1-2, s. 197–204. ISSN 00068993. Dostupné z DOI: [10.1016/0006-8993\(95\)00843-F](https://doi.org/10.1016/0006-8993(95)00843-F).
13. PALENICEK T., et al. Electroencephalographic Spectral and Coherence Analysis of Ketamine in Rats: Correlation with Behavioral Effects and Pharmacokinetics. *Neuropsychobiology*. 2011-5-3, roč. 63, č. 4, s. 202–218. ISSN 0302-282X. Dostupné z DOI: [10.1159/000321803](https://doi.org/10.1159/000321803).
14. LEE CH., et al. Dipole Source Localization of Mouse Electroencephalogram Using the Fieldtrip Toolbox. *PLoS ONE*. 2013-11-14, roč. 8, č. 11. ISSN 1932-6203. Dostupné z DOI: [10.1371/journal.pone.0079442](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0079442).
15. SANEI S., et al. EEG signal processing. In: *John Wiley & Sons*. Chichester, 2007. ISBN 978-0-470-02581-9. Dostupné z DOI: [978-0-470-02581-9](https://doi.org/10.1002/9780470025819).
16. LEUCHTER A., et al. Assessment of cerebral perfusion using quantitative EEG cordance. *Psychiatry Research: Neuroimaging*. 1994, roč. 55, č. 3, s. 141–152. ISSN 09254927. Dostupné z DOI: [10.1016/0925-4927\(94\)90022-1](https://doi.org/10.1016/0925-4927(94)90022-1).
17. CHEN, A.; RAPPELSBERGER, P. Brain and Human pain: Topographic EEG amplitude and coherence mapping. *Brain Topography*. 1994, roč. 7, č. 2, s. 129–140. ISSN 0896-0267. Dostupné z DOI: [10.1007/BF01186771](https://doi.org/10.1007/BF01186771).
18. LIPSKI, M. *Animální modely psychóz -hodnocení EEG a hladin monoaminů v CNS u potkana*. Praha, 2016.
19. BUBENÍKOVÁ V., et al. Animální modely schizofrenie = Animal models of schizophrenia. *Medvik*. 2003, roč. 7, č. 1, s. 26–30.
20. HORÁČEK, J. Neurobiologie působení halucinogenních látek. *Adiktologie*. 2005, roč. 5, č. 2, s. 135–150. ISSN 1213-3841.
21. MICHEL, Ch.; KOENIG, T. EEG microstates as a tool for studying the temporal dynamics of whole-brain neuronal networks: A review. *NeuroImage*. 2018, roč. 180, s. 577–593. ISSN 10538119. Dostupné z DOI: [10.1016/j.neuroimage.2017.11.062](https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2017.11.062).
22. KOENIG T., et al. A deviant EEG brain microstate in acute, neuroleptic-naive schizophrenics at rest. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience*. 1999-8-13, roč. 249, č. 4, s. 205–211. ISSN 0940-1334. Dostupné z DOI: [10.1007/s004060050088](https://doi.org/10.1007/s004060050088).
23. BRODBECK V., et al. EEG microstates of wakefulness and NREM sleep. *NeuroImage*. 2012, roč. 62, č. 3. ISSN 10538119. Dostupné z DOI: [10.1016/j.neuroimage.2012.05.060](https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2012.05.060).

24. KIKUCHI, M. EEG Microstate Analysis in Drug-Naive Patients with Panic Disorder. *PLoS ONE*. 2011-7-29, roč. 6, č. 7. ISSN 1932-6203. Dostupné z DOI: <10.1371/journal.pone.0022912>.
25. LEHMANN, D. Multimodal analysis of resting state cortical activity: What does fMRI add to our knowledge of microstates in resting state EEG activity? *NeuroImage*. 2010, roč. 52, č. 4, s. 1173–1174. ISSN 10538119. Dostupné z DOI: <10.1016/j.neuroimage.2010.05.033>.
26. KOENIG T., et al. Millisecond by Millisecond, Year by Year: Normative EEG Microstates and Developmental Stages. *NeuroImage*. 2002, roč. 16, č. 1, s. 41–48. ISSN 10538119. Dostupné z DOI: <10.1006/nimg.2002.1070>.
27. CABRAL, J.; KRINGELBACH. Handbook on the Economics of Retailing and Distribution. *Progress in Neurobiology*. 2014, roč. 114. ISSN 03010082. Dostupné z DOI: <10.1016/j.pneurobio.2013.12.005>.
28. MITRA, A. How networks communicate: propagation patterns in spontaneous brain activity. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. 2016-10-05, roč. 371, č. 1705. ISSN 0962-8436. Dostupné z DOI: <10.1098/rstb.2015.0546>.
29. MILZ P., et al. The functional significance of EEG microstates—Associations with modalities of thinking. *NeuroImage*. 2016, roč. 125, s. 643–656. ISSN 10538119. Dostupné z DOI: <10.1016/j.neuroimage.2015.08.023>.
30. KHANNA A., et al. Microstates in resting-state EEG: Current status and future directions. *Neurosci Biobehav Rev*. 2015, roč. 49, s. 105–113. ISSN 01497634. Dostupné z DOI: <10.1016/j.neubiorev.2014.12.010>.
31. HUIBIN, J.; DONGCHUAN, Y. Aberrant Intrinsic Brain Activity in Patients with Autism Spectrum Disorder: Insights from EEG Microstates. *Brain Topography*. 2018. Dostupné z DOI: <10.1007/s10548-018-0685-0>.
32. STRELETS V., et al. Chronic schizophrenics with positive symptomatology have shortened EEG microstate durations. *Clinical neurophysiology : official journal of the International Federation of Clinical Neurophysiology*. 2003, roč. 114, s. 2043–51. Dostupné z DOI: <10.1016/S1388-2457(03)00211-6>.
33. HERNANDEZ L., et al. Towards Using Microstate-Neurofeedback for the Treatment of Psychotic Symptoms in Schizophrenia. A Feasibility Study in Healthy Participants. *Brain Topography*. 2016, roč. 29, č. 2, s. 308–321. ISSN 0896-0267. Dostupné z DOI: <10.1007/s10548-015-0460-4>.
34. ZAPPASODI F., et al. EEG microstates distinguish between cognitive components of fluid reasoning. *NeuroImage*. 2019, roč. 189, s. 560–573. ISSN 10538119. Dostupné z DOI: <10.1016/j.neuroimage.2019.01.067>.



35. MUSSO F., et al. Spontaneous brain activity and EEG microstates. A novel EEG/fMRI analysis approach to explore resting-state networks. *NeuroImage*. 2010, roč. 52, č. 4, s. 1149–1161. ISSN 10538119. Dostupné z DOI: [10.1016/j.neuroimage.2010.01.093](https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2010.01.093).
36. VILLE, D.; BRITZ, J.; MICHEL, Ch. EEG microstate sequences in healthy humans at rest reveal scale-free dynamics. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2010-10-19, roč. 107, č. 42, s. 18179–18184. ISSN 0027-8424. Dostupné z DOI: [10.1073/pnas.1007841107](https://doi.org/10.1073/pnas.1007841107).
37. ZOUBI O., et al. Polarity invariant transformation for EEG microstates analysis. *2018 IEEE Global Conference on Signal and Information Processing (GlobalSIP)*. 2018, s. 484–488. ISBN 978-1-7281-1295-4. Dostupné z DOI: [10.1109/GlobalSIP.2018.8646521](https://doi.org/10.1109/GlobalSIP.2018.8646521).
38. POULSEN A., et al. Microstate EEGLab toolbox: An introductory guide. *bioRxiv*. 2018.
39. KOENIG, T. *Microstates 1.1 plugin* [<http://www.thomaskoenig.ch/index.php/software/10-eeglab-plugin-manual>]. 2019.
40. DRISSI N., et al. Altered Brain Microstate Dynamics in Adolescents with Narcolepsy. *Frontiers in Human Neuroscience*. 2016-8-3, roč. 10. ISSN 1662-5161. Dostupné z DOI: [10.3389/fnhum.2016.00369](https://doi.org/10.3389/fnhum.2016.00369).
41. SVERAK T., et al. Intensive repetitive transcranial magnetic stimulation changes EEG microstates in schizophrenia: A pilot study. *Schizophrenia Research*. 2018, roč. 193, s. 451–452. ISSN 09209964. Dostupné z DOI: [10.1016/j.schres.2017.06.044](https://doi.org/10.1016/j.schres.2017.06.044).
42. ROJAS G., et al. Study of Resting-State Functional Connectivity Networks Using EEG Electrodes Position As Seed. *Frontiers in Neuroscience*. 2018, roč. 12. Dostupné z DOI: [10.3389/fnins.2018.00235](https://doi.org/10.3389/fnins.2018.00235).
43. GRANT, M.; BOYD, S. *Matlab Software 2019a* [školní licence]. 2019.
44. COMPUTATIONAL NEUROSCIENCE, Swartz Center for. *EEGLab [toolbox]* [<https://sccn.ucsd.edu/eeglab/download.php>]. 2019.
45. SUBRAMANIYAM, N. *Common Average vs Infinity Reference in EEG*. 2019. Dostupné také z: <https://sapienlabs.org/>.
46. DUBEY, R. Digital Analysis Of EEG Brain Signal. *WebmedCentral BRAIN*. 2010, roč. 11, č. 1.
47. GÄRTNER M., et al. A stochastic model for EEG microstate sequence analysis. *NeuroImage*. 2015, roč. 104, s. 199–208. ISSN 10538119. Dostupné z DOI: [10.1016/j.neuroimage.2014.10.014](https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2014.10.014).

48. GAO F., et al. Altered Resting-State EEG Microstate Parameters and Enhanced Spatial Complexity in Male Adolescent Patients with Mild Spastic Diplegia. *Brain Topography*. 2017, roč. 30, č. 2. ISSN 0896-0267. Dostupné z DOI: [10.1007/s10548-016-0520-4](https://doi.org/10.1007/s10548-016-0520-4).
49. FRASCHINI M., et al. The effect of epoch length on estimated EEG functional connectivity and brain network organisation. *Journal of Neural Engineering*. 2016-06-01, roč. 13, č. 3. ISSN 1741-2560. Dostupné z DOI: [10.1088/1741-2560/13/3/036015](https://doi.org/10.1088/1741-2560/13/3/036015).
50. GAO; JIA, H.; FENG, Y. Microstate and Omega Complexity Analyses of the Resting-state Electroencephalography. *Journal of Visualized Experiments*. 2018, č. 136. ISSN 1940-087X. Dostupné z DOI: [10.3791/56452](https://doi.org/10.3791/56452).
51. FERREIRA, J.; AARTS, R.; CLUITMANS, P. Removal of Gradient Artefacts during Transient Head Movements for Continuous EEG-fMRI. *Proceedings of the International Conference on Bio-inspired Systems and Signal Processing*. 2014-3-3, s. 213–220. ISBN 978-989-758-011-6. Dostupné z DOI: [10.5220/0004802002130220](https://doi.org/10.5220/0004802002130220).
52. FISCH, B.; SPEHLMANN, R. *Fisch and Spehlmann's EEG primer: basic principles of digital and analog EEG*. 3rd rev. and enl. ed. New York: Elsevier, 1999. ISBN 04-448-2147-3.
53. SÖRNMO, L.; LAGUNA, P. *Bioelectrical signal processing in cardiac and neurological applications*. Boston: Elsevier Academic Press, 2005. ISBN 01-243-7552-9.
54. MOTAMEDI-FAKHR S., et al. Signal processing techniques applied to human sleep EEG signals—A review. *Biomedical Signal Processing and Control*. 2014, roč. 10, s. 21–33. ISSN 17468094. Dostupné z DOI: [10.1016/j.bspc.2013.12.003](https://doi.org/10.1016/j.bspc.2013.12.003).
55. KLASS, D. The Continuing Challenge of Artifacts in the EEG. *American Journal of EEG Technology*. 2015-02-10, roč. 35, č. 4, s. 239–269. ISSN 0002-9238. Dostupné z DOI: [10.1080/00029238.1995.11080524](https://doi.org/10.1080/00029238.1995.11080524).
56. PRINCIPE, J.; SMITH, J. Design and Implementation of Linear Phase FIR Filters for Biological Signal Processing. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*. 1986, roč. BME-33, č. 6, s. 550–559. ISSN 0018-9294. Dostupné z DOI: [10.1109/TBME.1986.325819](https://doi.org/10.1109/TBME.1986.325819).
57. SERRANO J., et al. EEG Microstates Change in Response to Increase in Dopaminergic Stimulation in Typical Parkinson's Disease Patients. *Frontiers in Neuroscience*. 2018-10-15, roč. 12. ISSN 1662-453X. Dostupné z DOI: [10.3389/fnins.2018.00714](https://doi.org/10.3389/fnins.2018.00714).

58. LIU CH., et al. A Modified K-Means Algorithm - Two-Layer K-Means Algorithm. *2014 Tenth International Conference on Intelligent Information Hiding and Multimedia Signal Processing*. 2014. ISBN 978-1-4799-5390-5. Dostupné z DOI: [10.1109/IIH-MSP.2014.118](https://doi.org/10.1109/IIH-MSP.2014.118).
59. WEGNER, F.; KNAUT, P.; LAUFS, H. EEG Microstate Sequences From Different Clustering Algorithms Are Information-Theoretically Invariant. *Frontiers in Computational Neuroscience*. 2018-8-27, roč. 12. ISSN 1662-5188. Dostupné z DOI: [10.3389/fncom.2018.00070](https://doi.org/10.3389/fncom.2018.00070).
60. PIZZAGALLI D., et al. Face-elicited ERPs and affective attitude: brain electric microstate and tomography analyses. *Clinical Neurophysiology*. 2000, roč. 111, č. 3, s. 521–531. ISSN 13882457. Dostupné z DOI: [10.1016/S1388-2457\(99\)00252-7](https://doi.org/10.1016/S1388-2457(99)00252-7).
61. CUSTO A., et al. Electroencephalographic Resting-State Networks: Source Localization of Microstates. *Brain Connectivity*. 2017, roč. 7, č. 10, s. 671–682. ISSN 2158-0014. Dostupné z DOI: [10.1089/brain.2016.0476](https://doi.org/10.1089/brain.2016.0476).
62. PASCUAL-MARQUI, R.; MICHEL, Ch.; LEHMANN, D. Segmentation of brain electrical activity into microstates: model estimation and validation. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*. 1995, roč. 42, č. 7, s. 658–665. ISSN 00189294. Dostupné z DOI: [10.1109/10.391164](https://doi.org/10.1109/10.391164).
63. KOVÁCS, F.; LEGÁNY, C.; BABOS, A. Cluster validity measurement techniques. *Proceedings of the 5th WSEAS International Conference on Artificial Intelligence, Knowledge Engineering and Data Bases*. 2006.
64. KANTOR, J. *Učení bez učitele*. Brno, 2008.
65. CHARRAD M., et al. NbClust: An R Package for Determining the Relevant Number of Clusters in a Data Set. *Journal of Statistical Software*. 2014, roč. 61, č. 6, s. 1–36. Dostupné také z: <http://www.jstatsoft.org/v61/i06/>.
66. SCOTT L., et al. Electrophysiological correlates of facial self-recognition in adults and children. *Cogn. Brain Behav.* 2005, roč. 9.
67. PIORECKÁ V., et al. Methods for Animal Brain Mapping. *Radioengineering*. 2018, roč. 27, s. 806–812. Dostupné z DOI: [10.13164/re.2018.0806](https://doi.org/10.13164/re.2018.0806).
68. PESKOVA P., et al. 3D Barycentric Interpolation Method for Animal Brainmapping. In: 2019, s. 1–4. Dostupné z DOI: [10.1109/EHB47216.2019.8969996](https://doi.org/10.1109/EHB47216.2019.8969996).
69. MURRAY M., et al. Topographic ERP Analyses: A Step-by-Step Tutorial Review. *Brain Topography*. 2008, roč. 20, č. 4, s. 249–264. ISSN 0896-0267. Dostupné z DOI: [10.1007/s10548-008-0054-5](https://doi.org/10.1007/s10548-008-0054-5).

70. PIORECKY M., et al. Computer Analysis of Hidden Layers of Sleep EEG: Dreams Correlates. In: *The 7th IEEE International Conference on E-Health and Bioengineering - EHB 2019*. Iasi: IEEE, 2019. ISBN 978-1-7281-2603-6.
71. JARQUE, C.; BERA, A. Efficient tests for normality, homoscedasticity and serial independence of regression residuals. *Economics Letters*. 1980, roč. 6, č. 3, s. 255–259. ISSN 01651765. Dostupné z DOI: <10.1016/0165-1765(80)90024-5>.
72. PRITCHARD, W.; STAM, C. Nonlinearity in human resting, eyes-closed EEG: An in-depth case study. *Acta neurobiologiae experimentalis*. 2000, roč. 60, s. 109–21.
73. IPEK. *Normality test package* [<https://www.mathworks.com/matlabcentral/fileexchange/60147-normality-test-package>]. 2020. MATLAB Central File Exchange.
74. KIM, T. T test as a parametric statistic. *Korean Journal of Anesthesiology*. 2015, roč. 68, č. 6, s. 540–546. ISSN 2005-6419. Dostupné z DOI: <10.4097/kjae.2015.68.6.540>.
75. KOENIG, T. The EEGLAB plugin for microstates: EEGLab plugin. 2017. <http://www.thomaskoenig.ch/index.php/software/microstates-in-eeqlab/>.
76. HALBERSTADT A., et al. Serotonergic hallucinogens as translational models relevant to schizophrenia. *International Journal of Neuropsychopharmacology*. 2013-11-01, roč. 16, č. 10, s. 2165–2180. ISSN 1469-5111. Dostupné z DOI: <10.1017/S1461145713000722>.
77. LEHMANN D., et al. EEG microstate duration and syntax in acute, medication-naïve, first-episode schizophrenia: a multi-center study. *Psychiatry Research: Neuroimaging*. 2005, č. 138, s. 141–156. Dostupné z DOI: <10.1016/j.psychres.2004.05.007>.

## **Příloha A: Obsah přiloženého DVD**

- Klíčová slova v čj i aj (klicova\_slova.pdf)
- Abstrakt česky (abstrakt\_cesky.pdf)
- Abstrakt anglicky (abstrakt\_anglicky.pdf)
- Naskenované zadání diplomové práce (zadani\_diplomove\_prace.pdf)
- Diplomová práce (17PMBDP\_434190\_Petra.Peskova.pdf)
- Složka s vytvořenými skripty a funkcemi v Matlabu dle metodiky pro zpracování mikrostavů (Mikrostavy)

## **Příloha B: Publikovaný článek**

Článek 3D barycentric interpolation method for animal brainmapping publikovaný na 7. ročníku konference EHB v Iasi, Rumunsko, v roce 2019.



# 3D barycentric interpolation method for animal brainmapping

Petra Pešková<sup>1</sup>, Marek Piorecký<sup>1,2</sup>, Čestmír Vejmla<sup>2</sup>, Vlastimil Koudelka<sup>2</sup>, Vladimír Krajča<sup>1,2</sup>  
and Václava Piorecká<sup>1,2</sup>

*Affiliation 1:* Department of Biomedical Technology, Faculty of Biomedical Engineering,  
Czech Technical University in Prague, Czech Republic, petra.sykorova.1@fbmi.cvut.cz

*Affiliation 2:* National Institute of Mental Health, Klecany, Czech republic

**Abstract**—The evaluation of electroencephalographic (EEG) signals is very crucial for human studies. Mostly there are animal recordings of EEG used for further research as well. One of the often used quantitative EEG methods for EEG analysis is topographical mapping. The barycentric interpolation method for 3D animal brain-mapping was implemented and tested. The 3D spline and spherical spline interpolation methods were used for comparison purpose. The surrogate data and real EEG recording were used for the interpolation methods testing. The Root Mean Square Error (RMSE) and significant probability mapping via Fisher non-parametric permutation test were used for evaluation. The RMSE of surrogate data was 0.070 for 3D spline, 0.594 for spherical spline and 0.321 for 3D barycentric interpolation method. The RMSE of the real EEG recordings nearby the electrodes was 0.1848 for 3D spline, 1.1027 for spherical spline and 0.0001 for 3D barycentric interpolation method. The 3D barycentric method differs from the 3D spline interpolation method in the large area on 0.001 alpha level based on significant probability mapping. The non-significant parts are only in the nearby electrode area. The 3D spline interpolation method gives the best results based on RMSE and significant probability testing.

**Keywords**—animal brainmapping; barycentric interpolation; significant probability mapping; RMSE; EEG.

## I. INTRODUCTION

Studying the electroencephalographic signal (EEG) is a very important part of human studies. It is not well known yet what exactly can be found out in this type of signal, and therefore there is ongoing research in the field of signal acquisition and processing. Many studies cannot be done on humans, for ethical and other reasons. Therefore the EEG signal is recorded from animals, for example from Wistar rats. The knowledge gained of animal EEG recordings can be translationally used to evaluate human EEG recordings. Pilot measurements can be used to monitor anomalies in brain

functionality such as epilepsy or mental disorders [1] or to study the pharmaco-effect on the brain [2] [3].

The distribution of the brain's electrical activity could be done by several parameters (like time, frequency, space, etc), but the most used is amplitude [4]. One of the other methods represent topological maps. These maps can be created using interpolation methods. The spherical spline and the 3D spline methods were used for animal 3D brainmapping purpose [5] [6]. The multiquadratic interpolation, the spherical  $k$ -nearest neighbor interpolation and the 3D spline interpolation using arc length were used in the case of EEG propagation over the human scalp as well [1].

Interpolation methods are mostly evaluated by means of root mean square error (RMSE). Approximation using hemisphere (spherical interpolation) is possible, but the results obtained with this approximation are less accurate based on the RMSE on testing signal 0.593 [5] and real EEG signal 0.629 and 0.639 [6]. 3D spline interpolation achieved the smallest RMSE values for testing signal 0.070 [5] and real EEG signals 0.085 and 0.077 [6].

There are also different interpolation methods which haven't been tried on animal brain yet. Our aim is to try the 3D barycentric interpolation because it can be easier to implement in comparison to the spherical and to the 3D spline interpolation. The comparison of three interpolation methods (barycentric, spherical spline and 3D spline) is included in this study and is performed on surrogate and real data.

## II. DATABASE AND METHODS

### A. Database

The real EEG recordings were used in this study. The EEG signals were recorded using BrainScope data acquisition system (Unimedis, Prague, Czech Republic). The system's dynamic range was 500 V. The data were recorded with the

sampling rate of 250 Hz. The EEG signals were recorded via 12 electrodes that were placed on rat cortex. The method of implantation and electrodes positions are detail described in [2] [3]. The spectral characteristics of the behavioral active data was used for topographic mapping. The five frequency bands were analyzed: delta (1-4 Hz), theta (4-8 Hz), alpha (8-12 Hz), beta (12-30 Hz) and gamma (30-50 Hz). All the experiments respected the Guidelines of the European Union (86/609/EU) and followed the instructions of the National Committee for the Care and Use of Laboratory Animals. The 3D Wistar's rat brain model from Brain Atlas Reconstructor was used [7] [8].

### B. Interpolation methods

The spherical spline interpolation method is based on the transformation of the brain model to the sphere at first. This method is defined by the following system of equations [1] [5]:

$$C' = C \times V, \quad (1)$$

$$U(i) = \sum_{j=1}^M C'(j, 1) \cdot Gx(i, j), \quad (2)$$

where  $C$  represents electrodes coefficients,  $Gx$  represents the brain model points coefficients and  $V$  represents the vector of potential distribution under each of electrode. Electrodes and model points coefficients are defined by Euclidean distance and Legendre polynomials [1] [5].

The 3D spline method interpolating the EEG potential directly and is defined by the following equation [1] [5]:

$$U_m(x, y, z) = \sum_{i=1}^N p_i \cdot H_m + \sum_{d=0}^{m-1} \sum_{k=0}^d \sum_{g=0}^k q_{dkg} \cdot F_m, \quad (3)$$

where  $H_m$  and  $F_m$  describe coordinates relations between brain model and electrode points. Coefficients  $p_i$  and  $q_{dkg}$  are represented by  $P$  and  $Q$  vector and can be obtained by solving the following system [5]:

$$\begin{bmatrix} H & F \\ F^t & 0 \end{bmatrix} \cdot \begin{bmatrix} P \\ Q \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} V \\ 0 \end{bmatrix}, \quad (4)$$

where  $V$  represents the intensity under all of the electrodes. In this system vectors  $H$ ,  $F$  represent the relationship between electrode coordinates. [5]

In principle, there are two possible approaches to implement barycentric interpolation (for details, see [1] [9]). The local barycentric interpolation, also denoted as  $K$ -nearest neighbor interpolation is calculated only with respect to  $K$  nearest points. In contrast, we will use the global barycentric interpolation which involves all electrodes into computation.

Barycentric interpolation is a weighted average of known values measured on other electrodes, while the weights are assigned with respect to the distance of electrodes to the calculated point. The interpolated value  $V_i$  is calculated as follows:

$$V_i = \frac{\sum_{ve} \frac{V_e}{d_{i,e}^m}}{\sum_{ve} \frac{1}{d_{i,e}^m}}, \quad (5)$$

where  $V_i$  represents the interpolated value,  $V_e$  represents the value measured on electrode  $e$ ,  $d_{i,e}$  represents the Euclidean distance between electrode  $e$  and interpolated point  $i$ ,  $m$  represents the order of interpolation.

The distance which is mostly used is Euclidean distance. The distance difference is set up for every coordinate  $(x, y, z)$ . The final distance  $d_{i,e}$  is then the squared sum of differences.

$$d_{i,e} = \sqrt{(i_x - e_x)^2 + (i_y - e_y)^2 + (i_z - e_z)^2}, \quad (6)$$

Order of the interpolation is usually set on  $m=2$ , which shows the best result in the case of using human data [9].

### C. Evaluation methods

One of the most used methods for evaluating topographical maps is the root mean square error (RMSE). The deviation between the interpolated value and the electrical potential measured on the head surface is detected. Minimal RMSE means that the interpolated values are very similar to the measured ones. We used the following formula to compute the deviation [9]:

$$RMSE = \frac{\|V_i - V_e\|}{\|V_e\|}, \quad (7)$$

where  $\|$  represents the Euclidean distance,  $V_i$  represents the interpolated value,  $V_e$  represents the value measured on electrode  $e$ .

The significance probability mapping was the second method that was used for evaluation. This method is based on statistical testing of differences between each point of the topographic map and this method was originally introduced in [10]. The Fisher non-parametric permutation test was used for the statistics analysis purpose.

## III. RESULTS

The RMSE were computed for the surrogate data. TABLE I. describes the RMSE under each of the electrodes. The means across the electrodes were computed as well. The RMSE were computed for the barycentric, spherical and 3D spline interpolation method.

TABLE I. COMPARISON OF THREE INTERPOLATION METHODS BASED ON RMSE COMPUTING IN SURROGATE SIGNAL.

Electrode	RMSE (-) of interpolation method		
	Barycentric	3D spline	Spherical
F4	0.321	0.026	0.534
F3	0.321	0.049	0.534
C4	0.316	0.045	0.617
C3	0.316	0.051	0.618
T4	0.328	0.058	0.480
T3	0.328	0.044	0.460
P4	0.324	0.086	0.797
P3	0.323	0.079	0.804
P6	0.326	0.162	0.723
P5	0.325	0.147	0.721
T6	0.312	0.048	0.416
T5	0.312	0.042	0.419
<b>Mean</b>	<b>0.321</b>	<b>0.070</b>	<b>0.594</b>

The barycentric, spherical and 3D spline interpolation methods were tested on real EEG recordings as well. The

output from frequency analysis from nine files was analyzed. The means across the subjects were computed, see TABLE II.

TABLE II. COMPARISON OF THREE INTERPOLATION METHODS BASED ON RMSE COMPUTING IN REAL SIGNAL.

	Interpolation method		
	<i>Barycentric</i>	<i>3D spline</i>	<i>Spherical</i>
RMSE (-)	0.0001	0.1848	1,1027

The significance probability mapping was used to distinguish differences between two types of different interpolation methods. The Fisher non-parametric permutation test was used. The interpretation of statistical testing can be seen in Figure 1 and Figure 2. The red colors represent the significant differences in the alpha level 0.05 (orange color), 0.01 (light red color) and 0.001 (dark red color). On the gray area no significant difference was found on the alpha level 0.05.

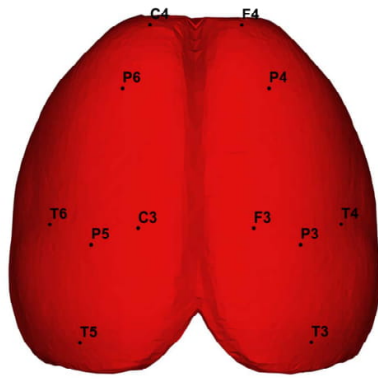


Fig. 1. Significance probability map – comparison between spherical and barycentric interpolation method. Every point in this model is significantly different between those two methods.

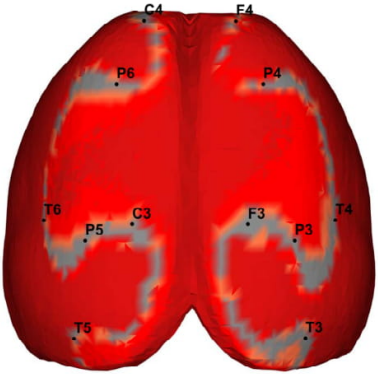


Fig. 2. Significance probability map – comparison between 3D spline and barycentric interpolation method. There are places nearby the electrodes, where is no significant difference between both methods measured. The other points show us significantly different results.

The boxplot graphs represent the RMSE difference between the interpolation methods in five frequency bands across subjects, see Fig. 3, Fig. 4, Fig. 5.

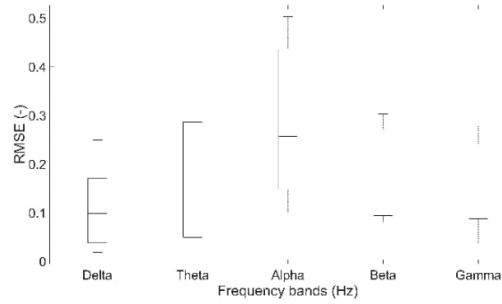


Fig. 3. The boxplot representation of the frequency bands difference across the subjects for the 3D spline interpolation.

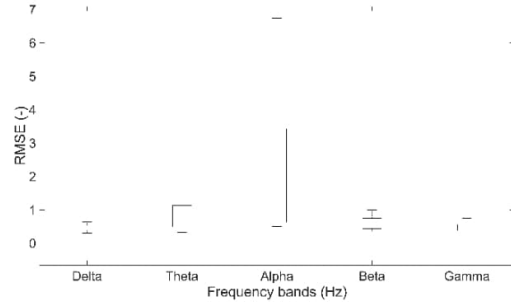


Fig. 4. The boxplot representation of the frequency bands difference across the subjects for the spherical spline interpolation.

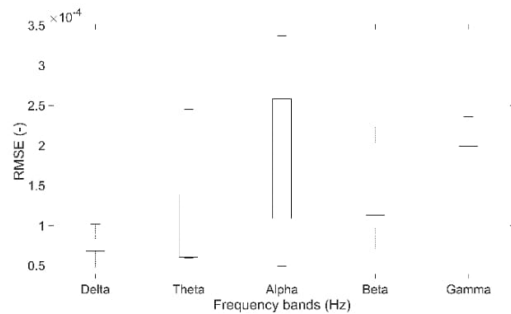


Fig. 5. The boxplot representation of the frequency bands difference across the subjects for the barycentric interpolation.

#### IV. DISCUSSION

The surrogate signal (the signal is set on one under one electrode and zero under other electrodes) is very often used to evaluate the quality of methods. By leaving out one electrode the barycentric interpolation is prone to bigger mistakes, when the nearest electrode has completely different values from the interpolated one (f. e. 100 mV versus 2 mV). The 3D spline interpolation which is using the spline, as well as the spherical spline interpolation, is not prone to such type of mistake. RMSE values measured with testing signal were for 3D spline interpolation 0.070 and for barycentric interpolation 0.321 (see TABLE I. ). In comparison to the 3D spline, spherical spline suffer by using the hemisphere as an auxiliary plane. The rats



brain is not such spherical as the human one, that's why a bigger RMSE 0.594 for the spherical spline was measured. Using the real data for topographical mapping, we can see that the barycentric interpolation is for virtual points nearby electrodes very exact (see TABLE II. ). The RMSE in TABLE II. was set between electrical activity of electrode and the three nearest interpolated virtual points. There are just problems at the half distance between two electrodes, where the biggest failure could be measured. This can be deduced from equation 5. There we can see that the distribution of the electrical activity is tightly bound to the nearest electrode. This hypothesis was also confirmed with significant probability mapping. In the map (see Fig. 1) we can see that the barycentric interpolation approximate the values nearby electrodes comparably to 3D spline interpolation on the level of significance 0.001.

The Euclidean distance was used in this study. This type of distance was chosen based on the literature review. It is possible that a different type of distance can improve the results. The authors didn't find any publication that deals with the distance type in the animal or human brainmapping. One of the future steps can be testing distance type influence on RMSE.

The parameter  $m$ , that represents the order of the barycentric interpolation, was set equal 2. This setting was chosen based on knowledge from human brainmapping. The future task is to test this parameter and adapt this parameter on the Wistar rat brain.

The 3D spline interpolation has shown us the best RMSE 0.070 in case of using testing signal. Implementation made with real signal showed the best results for 3D barycentric interpolation, but according to the maps we can tell that the results are not consistent between electrodes. The best results for 3D barycentric interpolation are just for the area surround electrodes.

The biggest power spectral density lies in the theta band in our case. This can be caused by the EEG recording character, because theta band correspond to the rats behavioral activity. There is a biggest interquartile difference in alfa band for each of the interpolation methods, see Fig. 3, Fig. 4, Fig. 5. This can be caused by closed alpha activity localization. On the other side, the delta band has a most consistent RMSE values. So we assume that delta activity has homogenous propagation on the scalp.

All studies which have been currently took place are using human data. Just [5] [6] has been implementing interpolation methods on animal brain, specifically Wistar rat. The RMSE results for human studies made by [1] [9] are comparable to our results with the use of testing signal.

It is easier to evaluate the results on human brain, because there has been already made high density EEG measurements. For animal brain we have recordings just with 12 electrodes. There is no reference signal measured under more electrodes based on currently Wistar rat animal research.

Further research could be done in the field of implementing another interpolation method or to come with interpolation method which is on another principle for example neuronal networks.

## V. CONCLUSIONS

The shape of the rat's brain and its skull is not suitable for spherical mapping because there are significant spatial variations from the sphere. For the test signal, 3D spline interpolation achieves the best results. 3D barycentric interpolation achieves better results when mapping electrical activity to rat scalp surface, but the best results are just for virtual points nearby electrodes. It is therefore important for the correct selection of the interpolation method how the interpolation results will be further processed.

## ACKNOWLEDGMENT

This work was supported by the Grant Agency of Czech Republic reg. n. 17-20480S and 18-16218S and by the Grant Agency of the Czech Technical University in Prague, reg. no. SGS18/158/OHK4/2T/17 with topic: The topographic brain mapping and by the project Nr. LO1611 with a financial support from the MEYS under the NPU I program.

## REFERENCES

- [1] I. Nouira, A. Ben Abdallah and M. Hedi Bedoui. "EEG potential mapping by 3D interpolation methods." International Conference on Multimedia Computing and Systems (ICMCS). IEEE, 2014, pp. 469-474.
- [2] T. Páleníček, M. Fújaková, M. Brunovský, et al. "Behavioral, neurochemical and pharmacology-EEG profiles of the psychedelic drug 4-bromo-2,5-dimethoxyphenethylamine (2C-B) in rats." *Psychopharmacology*, 2013, vol. 225, no. 1, p. 75-93.
- [3] M. Fújaková, T. Páleníček, M. Brunovský, et al. "The effect of ((-)-2-oxa-4-aminobicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid (LY379268), an mGlu2/3 receptor agonist, on EEG power spectra and coherence in ketamine model of psychosis." *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 2014, vol. 122, p. 212-221.
- [4] Sanei and J. Chambers. *EEG signal processing*. John Wiley and Sons. 2007.
- [5] V. Piorecká, V. Krajča, F. Tylš and T. Páleníček. "Methods for Animal Brain Mapping." *Radioengineering*. 2018, 27(3), 806-812.
- [6] V. Piorecká, V. Krajča and T. Páleníček. *Comparison of Spline Methods for 3D Brain Mapping*. L. Lhotská, L. Sukupová, I. Lackovic a G. S. Ibbott, ed. World Congress on Medical Physics and Biomedical Engineering 2018. Singapore: Springer Singapore, 2019, 2019-05-30, s. 421-423. IFMBE Proceedings.
- [7] E. Calabrese, Badea, A., Watson, C., Johnson, G. A.: A quantitative magnetic resonance histology atlas of postnatal rat brain development with regional estimates of growth and variability. *NeuroImage*, 2013, vol. 71, p. 196-206.
- [8] P. Majka, J. M. Kowalski, N. Chlodzinska, D. K. Wójcik: "3D Brain Atlas Reconstructor Service Online Repository of Three-Dimensional Models of Brain Structures." *Neuroinformatics*, 2013, vol. 11, p. 507-518.
- [9] L. Soufflet, M. Tousaint, R. Luthringer, J. Gresser, R. Minot and J.P. Macher. "A statistical evaluation of the main interpolation methods applied to 3-dimensional EEG mapping." *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*. 5th ed., vol. 79, 1991, pp. 393-402.
- [10] F. H. Duffy, P. H. Bartels and J. L. Burchfiel. "Significance probability mapping: An aid in the topographic analysis of brain electrical activity." *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, 1981, vol. 51, no. 5, pp. 455-462.

## Příloha C: Seznam implementovaných funkcí a skriptů

V rámci této diplomové práce byly implementovány funkce, pomocí kterých byly získány výsledky. Několik funkcí, které byly implementovány jinými autory, byly mírně pozměněny.

Seznam implementovaných funkcí:

- **barycentricInt\_threeD\_3.m** - Tato funkce provádí výpočet 3D barycentrické interpolace.
- **cleanBursts.m** - Tato funkce provádí přepočítání záznamu EEG pokud jsou v něm detekované velké skoky mezi sousedícími hodnotami (pohybové artefakty).
- **DavisBuldin.m** - Tato funkce provádí výpočet Davis a Bouldinova indexu pro stanovení optimálního počtu mikrostavů.
- **dunns.m** - Tato funkce provádí výpočet Dunnova indexu pro stanovení optimálního počtu mikrostavů.
- **GFP.m** - Pomocí této funkce je vypočtena GFP křivka.
- **InterOuterDistances.m** - Tato funkce na výstupu obsahuje mezi-shlukovou a vnitro-shlukovou vzdálenost použitou pro výpočet FG indexu.
- **mask1.m** - Pomocí této funkce je vytvořena šablona mozku potkana
- **preprocess.m** - Pomocí této funkce je provedeno předzpracování dat.
- **RejectBadIntervals1.m** - Tato funkce odstraňuje aktivní behaviorální segmenty a ponechává pouze pasivní behaviorální segmenty záznamu.

Seznam skriptů:

- **MikrostavyAnalyza\_potkan\_diplomka.m** - Skript obsahuje metodiku analýzy mikrostavů. Obsahuje funkce, pomocí kterých je určen optimální počet mikrostavů, jednotlivé mikrostavy jsou posléze detekovány, setříděny a zobrazeny. Ve skriptu lze najít i statistické vyhodnocení zkoumaných parametrů.
- **preprocessing.m** - Skript převádí data z formátu .d do formátu .m. Výsledné dataseť jsou v EEGlab struktuře a samotná data jsou předzpracována (montáž, odstranění aktivních behaviorálních úseků, odstranění artefaktů, filtrace)
- **testy\_normality\_JB.m** - Pomocí tohoto skriptu lze určit, zda mají data normální rozdělení.