



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA ELEKTROTECHNIKY A KOMUNIKAČNÍCH TECHNOLOGIÍ

FACULTY OF ELECTRICAL ENGINEERING AND COMMUNICATION

ÚSTAV BIOMEDICÍNSKÉHO INŽENÝRSTVÍ

DEPARTMENT OF BIOMEDICAL ENGINEERING

VYUŽITÍ VIZUÁLNÍCH EVOKOVANÝCH POTENCIÁLŮ PRO HODNOCENÍ ZRAKU

USE OF VISUALLY EVOKED POTENTIALS FOR ASSESSMENT OF VISUAL ACUITY

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bohdana Hnízdilová

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. Martin Mézl, Ph.D.

BRNO 2019

Bakalářská práce

bakalářský studijní obor **Biomedicínská technika a bioinformatika**

Ústav biomedicínského inženýrství

Studentka: Bohdana Hnízdilová **ID:** 195737 **Ročník:** 3 **Akademický rok:** 2018/19

NÁZEV TÉMATU:

Využití vizuálních evokovaných potenciálů pro hodnocení zraku

POKYNY PRO VYPRACOVÁNÍ:

1) Seznamte se s měřením elektroencefalogramu (EEG) a vizuálně evokovaných potenciálů (VEP). Zaměřte se na využití evokovaných potenciálů v oblasti optometrie pro stanovení zrakové ostrosti a kontrastní citlivosti. 2) Proveďte rešerši používaných metod (flash VEP, pattern reversal VEP, a další) včetně požadavků na akvizici jednotlivých signálů. 3) Proveďte pilotní akvizici signálů pomocí EEG systému dostupného na UBMI a vlastní stimulační sekvencí. Ověřte vhodnost zařízení pro požadovanou aplikaci. 4) Navrhněte a realizujte software pro automatické generování stimulační sekvence a současný záznam dat. 5) Zpracujte naměřená data a vyhodnoťte vhodné charakteristiky zraku na vzorku alespoň 10 dobrovolníků. 6) Proveďte diskuzi výsledků a srovnání Vámi navrženého postupu s postupy používaných v elektrofyziologických laboratořích na očních odděleních.

DOPORUČENÁ LITERATURA:

[1] KOTHARI, Ruchi, Pradeep BOKARIYA, Smita SINGH a Ramji SINGH. A Comprehensive Review on Methodologies Employed for Visual Evoked Potentials. Scientifica. 2016, 2016, 1-9. DOI: 10.1155/2016/9852194. ISSN 2090-908X.

[2] ALMOQBEL, Fahad, Susan J. LEAT a Elizabeth IRVING. The technique, validity and clinical use of the sweep VEP. Ophthalmic and Physiological Optics. 2008, 28(5), 393-403. DOI: 10.1111/j.1475-1313.2008.00591.x. ISSN 02755408.

Termín zadání: 4.2.2019

Termín odevzdání: 24.5.2019

Vedoucí práce: Ing. Martin Mézl, Ph.D.

Konzultant:

prof. Ing. Ivo Provazník, Ph.D.

předseda oborové rady

UPOZORNĚNÍ: Autor bakalářské práce nesmí při vytváření bakalářské práce porušit autorská práva třetích osob, zejména nesmí zasahovat nedovoleným způsobem do cizích autorských práv osobnostních a musí si být plně vědom následků porušení ustanovení § 11 a následujících autorského zákona č. 121/2000 Sb., včetně možných trestněprávních důsledků vyplývajících z ustanovení části druhé, hlavy VI. díl 4 Trestního zákoníku č.40/2009 Sb.

Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií, Vysoké učení technické v Brně / Technická 3058/10 / 616 00 / Brno

Abstrakt

Tato bakalářská práce se věnuje vizuálním evokovaným potenciálům. V teoretické části je popsáno, jak evokované potenciály vznikají, jak se měří a zaznamenávají. Popsáno je také využití evokovaných potenciálů v oftalmologii, pro určení zrakové ostrosti. Dále jsou v práci popsány jednotlivé podněty a jejich odpovědi na zábleskové stimuly, offset/onset či pattern-reversal stimuly. Praktická část se zabývá zaznamenáváním evokované odpovědi na pattern-reversal stimul. Pro měření bylo zvoleno zařízení Bitalino, kterým je snímán signál z elektrodencefalogramu a luxmetru. Ke zpracování a vyhodnocování signálů dochází pomocí poloautomatického softwaru, kdy jsou uživatelem vybrány jednotlivé úseky signálu, který chce zprůměrovat a na výstupu je zobrazena epocha zvolených úseků.

Klíčová slova

Neuron, vznik a přenos akčního potenciálu, vizuální evokované potenciály, pattern – reversal VEP, zařízení Bitalino, EEG

Abstract

In this thesis is described the usage of visual evoked potentials. The theoretical part describes how evoked potentials are measured and recorded. In this thesis is described the usage of evoked potentials in ophthalmology to determine visual acuity. Furthermore, it explains flash stimuli, onset / offset stimuli, pattern-reversal stimuli, and their responses. Practical part deals with evoked response to pattern-reversal stimuli. Signals from encephalogram electrodes and lux meter were measured using Bitalino device. The signals are processed and evaluated by semi-automatic software, where individual sections of the signal are selected by the user. The output is the epoch of the selected section.

Keywords

Neuron, the emergence and transfer of action potential, visual evoked potential, pattern – reversal VEP, device Bitalino, EEG

BIBLIOGRAFICKÁ CITACE VAŠÍ PRÁCE

HNÍZDILOVÁ, Bohdana. Využití vizuálních evokovaných potenciálů pro hodnocení zraku. Brno, 2019. Dostupné také z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/118292>. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií, Ústav biomedicínského inženýrství. Vedoucí práce Martin Mézl.

Prohlášení

Prohlašuji, že svou závěrečnou práci na téma Využití vizuálních evokovaných potenciálů pro hodnocení zraku jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího *bakalářské* práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou všechny citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce.

Jako autor uvedené závěrečné práce dále prohlašuji, že v souvislosti s vytvořením této závěrečné práce jsem neporušila autorská práva třetích osob, zejména jsem nezasáhla nedovoleným způsobem do cizích autorských práv osobnostních a jsem si plně vědoma následků porušení ustanovení § 11 a následujících autorského zákona č. 121/2000 Sb., včetně možných trestněprávních důsledků vyplývajících z ustanovení části druhé, hlavy VI. díl 4 Trestního zákoníku č. 40/2009 Sb.

V Brně dne **24. května 2019**

.....
podpis autora

Poděkování

Děkuji vedoucímu Ing. Martinu Mězlovi, Ph.D. za metodickou, pedagogickou a odbornou pomoc a také trpělivost při zpracování mé bakalářské práce. Dále bych ráda poděkovala rodině za podporu během celého studia.

V Brně dne 24. května 2019

..... podpis autora

Obsah

1. ÚVOD.....	9
1 ZÁKLADY NEUROFYZIOLOGIE.....	10
1.1 NEURON.....	10
1.2 VZNIK A PŘENOS AKČNÍHO POTENCIÁLU	10
1.2.1 Vznik akčního potenciálu.....	10
1.2.2 Synaptický přenos akčního potenciálu	10
1.2.3 Šíření nervového vzruchu.....	11
2 MĚŘENÍ EEG.....	12
3 EVOKOVANÉ POTENCIÁLY.....	14
3.1 OBECNÁ CHARAKTERISTIKA	14
3.2 VZNIK EVOKOVANÉHO POTENCIÁLU	14
3.3 TECHNICKÉ PŘEDPOKLADY REGISTRACE EVOKOVANÉHO POTENCIÁLU	15
3.3.1 Stimulátory.....	15
3.3.2 Registrační elektrody.....	15
3.3.3 Diferenční předzesilovač.....	16
3.3.4 Zprůměřovač.....	17
4 VYUŽITÍ EVOKOVANÝCH POTENCIÁLŮ V OBLASTI OPTOMETRIE PRO STANOVENÍ ZRAKOVÉ OSTROSTI A KONTRASTNÍ CITLIVOSTI	18
4.1 HISTORICKÝ VÝVOJ ZRAKOVÝCH EVOKOVANÝCH POTENCIÁLŮ	18
4.2 METODIKA	18
4.2.1 Elektrody a jejich rozložení	19
4.2.2 Výběr stimulu.....	20
4.3 STIMULY A JEJICH ODPOVĚDI	20
4.3.1 Pattern – reversal VEPS.....	20
4.3.2 Pattern onset/offset.....	22
4.3.3 Flash VEP.....	22
4.4 TECHNICKÉ PARAMETRY STIMULACE OVLIVŇUJÍCÍ VÝSLEDNÝ ZÁZNAM	23
4.4.1 Velikost stimulační plochy a prvků stimulačního vzorce.....	23
4.4.2 Luminance stimulační plochy.....	25
4.4.3 Kontrast mezi prvky.....	25
4.4.4 Frekvence stimulace.....	26
4.4.5 ISCEV standard.....	26
4.5 FAKTORY VZTAŽENÉ K PACIENTOVI OVLIVŇUJÍCÍ ZÁZNAM	27
4.6 KOMERČNÍ ZAŘÍZENÍ PRO MĚŘENÍ VEP	27

4.6.1	<i>Diopsy</i>	27
4.6.2	<i>Biopac</i>	28
4.6.3	<i>Visual evoked response (VER)</i>	28
5	PILOTNÍ MĚŘENÍ	29
5.1	ZAŘÍZENÍ NA MĚŘENÍ VEP	29
5.2	POSTUP MĚŘENÍ VEP POMOCÍ PATTERN REVERSAL STIMULU	30
6	MĚŘENÍ SIGNÁLU EEG SE SYNCHRONIZACÍ ČASOVÉ OSY	33
6.1	MĚŘENÍ S LUXMETREM.....	33
6.2	SYNCHRONIZACE ČASOVÉ OSY EEG SIGNÁLU A SIGNÁLU Z LUXMETRU	34
7	ZPRACOVÁNÍ DAT	35
7.1	SOFTWARE PRO VYHODNOCENÍ NAMĚŘENÝCH DAT	35
7.1.1	<i>Popis ovládání softwaru</i>	35
7.1.2	<i>Popis vyhodnocovacího algoritmu</i>	37
8	VYHODNOCENÍ NAMĚŘENÝCH DAT	38
8.1	URČENÍ ZRAKOVÉ OSTROTI POMOCÍ VEP	42
9	DISKUZE O SROVNÁNÍ ZÍSKANÝCH VÝSLEDKŮ A POSTUPŮ POUŽÍVANÝCH VE FYZIOLOGICKÝCH LABORATOŘÍCH	43
10	ZÁVĚR	44
11	CITOVANÁ LITERATURA	45
12	SEZNAM OBRÁZKŮ	47
13	SEZNAM TABULEK	48
14	PŘÍLOHY	49

Úvod

S evokovanými potenciály se v běžném světě nejspíš nepotkáte. Měří se v elektrofyziologických laboratořích a slouží ke zhodnocení správné činnosti nervových drah. Tato bakalářská práce pojednává o vizuálních evokovaných potenciálech (dále jen VEP), které slouží především k detekci nemocí, jako je roztroušená skleróza, či poškození zrakového nervu. Podstatou měření VEP je vyhodnocení limitní velikosti stimulace (v tomto případě velikosti vzoru šachovnice), která ještě vyvolá správnou odezvu ve zrakové dráze. Tato odpověď může mimo jiné pomoci k objektivnímu určení zrakové ostrosti. Využívá se tak u nespolupracujících pacientů či malých dětí, kdy se pacient pouze dívá na stimulační monitor.

Bakalářská práce je rozdělena na dvě části. Teoretickou a praktickou. První z nich se věnuje vzniku akčního potenciálu, jeho vedením a měřením. V práci jsou dále popsány základní druhy vizuálních stimulů, a to zábleskový podnět, onset/offset, pattern-reversal a jednotlivé parametry pro akvizici těchto signálů. V praktické části byla ověřena vhodnost zařízení Bitalino k měření vizuálních evokovaných potenciálů za pomoci pattern-revesal stimulu. Na zpracování naměřených dat byl vytvořen software pro detekci evokované odpovědi na stimul. V závěru práce bylo provedeno srovnání mnou navrženého postupu měření a zpracování signálu s postupy používanými v elektrofyziologických laboratořích.

1 Základy Neurofyzologie

1.1 Neuron

Neuron je základní stavební jednotkou nervové soustavy. Skládá se z těla, ze kterého vybíhají dendrity a axon. Dendrity slouží k přijímání a vedení vzruchů směrem k nervové buňce. Axon vede vzruch směrem od těla buňky a může být dlouhý až 1 m. Axon neboli neurit je pokryt myelinovou pochvou, která je produktem podpůrných buněk nervové soustavy. Myelinová pochva bývá přerušována tzv. Ranvierovými zářezy, ve kterých je axon odhalen a je tak v kontaktu s extracelulárním prostředím.

1.2 Vznik a přenos akčního potenciálu

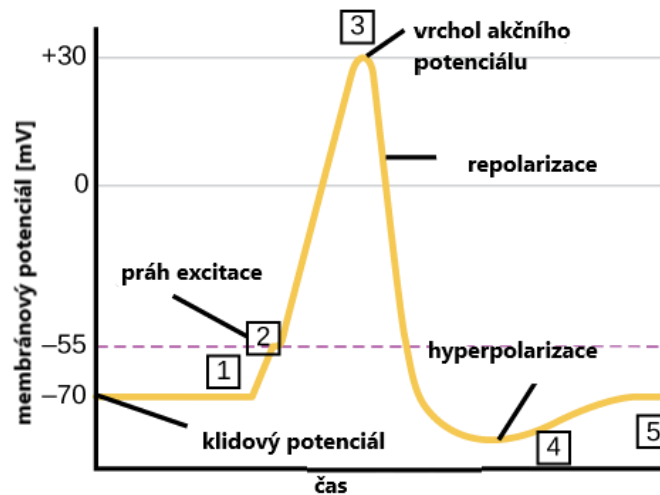
1.2.1 Vznik akčního potenciálu

Na to, aby neuron mohl vést nervový vzruch, je třeba nad prahový podnět, takzvaný stimul o určité prahové energii. Ten vyvolá akční potenciál, který se šíří dál po membráně nervového vlákna. Akčním potenciálem (dále jen AP) rozumíme rychlou změnu napětí na membráně buněk. AP může být vyvolán chemicky nebo i malou změnou napětí na membráně. Více se o tomto zajímali vědci Alan Lloyd Hodgking a Adnrew Fielding Huxley, kteří dělali pokus s dlouhými nervovými axony sépie. Tito pánové vyslovili hypotézu sodíkové elektrogenese AP. Proces začíná nejprve tzv. depolarizací, což znamená otevření sodíkových kanálků, propustnost Na^+ iontů do nitra buňky a překmit membránového potenciálu z přibližně původní hodnoty -75 mV do kladných hodnot. Téměř současně probíhá i přesun draslíkových iontů pomocí kanálů ven z buňky a při tom dochází k překmitu a poklesu potenciálu, tzv. repolarizaci. Akční potenciál se řídí podle pravidla „vše nebo nic“. Tzn., pokud není intenzita podnětu dostatečně silná, AP prostě nevznikne [1].

1.2.2 Synaptický přenos akčního potenciálu

Synapse je definována jako spojení dvou buněčných membrán, z nichž alespoň jedna je membrána nervové buňky a je schopna zajistit převod vzruchu z jedné buňky na druhou. Můžeme rozlišit dva hlavní druhy synapsí: elektrické a chemické. Při elektrických synapsích jsou membrány buněk od sebe vzdáleny nanejvýš 3 nm. Protilehlé membrány jsou spojeny bílkovinnými konexony, které mají funkci iontových kanálků a prochází tudy AP z jedné buňky na druhou. Průběh akčního potenciálu je zobrazen na obrázku 1. Vzruch se může šířit oběma směry. Těchto druhů synapsí v centrální nervové soustavě moc není. Nachází se spíše v hladké a srdeční svalovině.

Mnohem více synapsí v dospělém organismu tvoří synapse chemické. Vzruch se jimi šíří pouze jedním směrem. Od těla jednoho neuronu, axonem k tělu druhého neuronu. Mezera mezi membránami sousedních buněk je větší, než byla u elektrických. Pohybuje se okolo 20-50 nm. Signál je v chemických synapsích převáděn pomocí tzv. mediátoru neboli neurotransmiteru. Touto látkou bývají z chemického hlediska aminokyseliny, aminy nebo peptidy. Ke změně potenciálu na membráně buňky dochází, zjednodušeně řečeno, vylitím mediátoru do synaptické štěrbině [1].



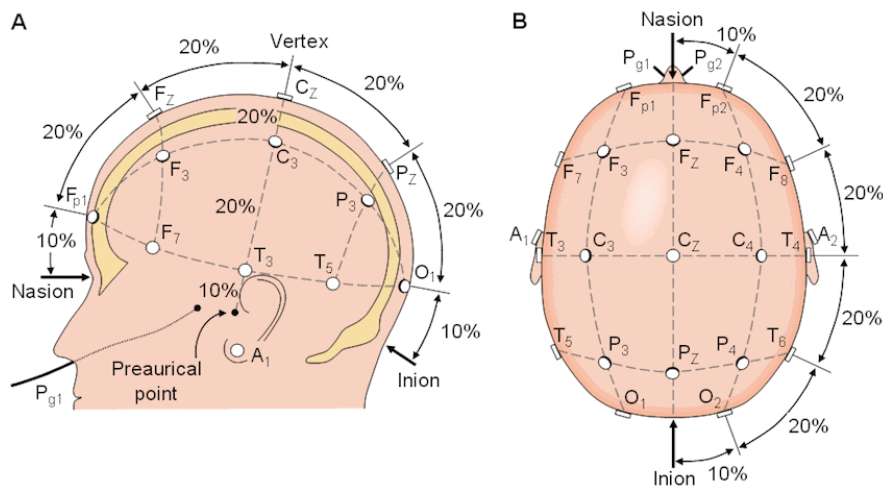
Obrázek 1 Akční potenciál buňky: 1. stimul přicházející z předchozího neuronu 2. pokud je překročen práh dráždivosti, otevřou se Na kanály a membrána se depolarizuje 3. Otevření draslíkových kanálků a vyplavení K⁺ z buňky a zároveň se Na⁺ kanály zavřou 4. membrána je hyperpolarizovaná 5. Uzavření K⁺/Na⁺ kanálků [2]

1.2.3 Šíření nervového vzruchu

Vzruch se neurony může šířit dvěma způsoby. Kontinuálně nebo saltatorně. Kontinuálně se nervový vzruch může šířit po vláknech, bez myelinové pochvy. Princip šíření vysvětlen výše. Rychlejším šířením AP je pak šíření saltatorní, které vzniká v Ranvierových zářezích myelinové pochvy vlákna. Činnost sodíko-draslíkové pumpy je omezena pouze na oblast zářezů myelinové pochvy, atak je ve výsledku mnohem méně energeticky náročná. Rychlost vedení vzruchu se pohybuje v rozmezí od 0,5 do 120 m/s.

2 Měření EEG

Elektroencefalografie je neinvazivní metoda, která se využívá v medicíně, pro zjištění správné činnosti mozku. Snímá se pomocí elektrod umístěných na povrchu hlavy. Elektrody jsou rozmístěny tzv. systémem 10-20. Tento způsob rozložení definuje umístění 19 základních měřících elektrod a je zobrazen na obrázku 2.



Obrázek 2 Systém rozložení elektrod 10/20. Popis: F (frontální), T (temporální), C (identifikace centrální části), P (parietální), O (occipitální). Čísla 2,4,6,8 popisují elektrody na pravé hemisféře a čísla 1,3,5,7 elektrody na levé hemisféře mozku. "Z" značí elektrodu umístěnou uprostřed hlavy [3].

Elektrody snímají elektrické potenciály, které vznikají činností neuronů v mozku. EEG signál je tedy vážená sumace akčního potenciálu velkého množství neuronů. Snímané vlny se vzájemně liší amplitudou i frekvencí a jsou měřeny v μV . Kromě samotných snímacích elektrod EEG obsahuje zesilovač a procesor. Zesilovač je na vstupu připojen ke dvěma měřícím elektrodám a na výstupu je přiveden rozdíl signálů ze vstupu. Data se po zesílení dále zpracovávají a je získán záznam, tzv. encefalogram, který je dále hodnocen.

Na EEG záznamu lze rozlišit několik základních rytmů, podle velikosti amplitudy a lokací na povrchu lebky [4]. Jednotlivé rozdělení je uvedeno v Tabulce 1.

Tabulka 1 Základní typy aktivity EEG [4]

Typ rytmu	Rozsah frekvence (Hz)	Amplituda (μV)	Podmínky přítomnosti
Alfa	8-12	5-100	Bdění, relaxace, zavřené oči
Beta	18-30	2-20	Bdění, motorický klid
Gama	30-50	30-50	Bdění
Delta	0,5-0,4	0,5-4,0	Ospalost bdění
Theta	5-7	5-7	Bdění, vzrušení nebo stres

3 Evokované potenciály

3.1 Obecná charakteristika

Evokované potenciály (dále jen EP) jsou odpovědí nervového systému na vnější podnět. Dochází při nich ke změně elektrické aktivity mozku, díky stimulaci receptorů. EP mají široké uplatnění při objasňování příčin nervových onemocnění. Provádí se při podezřeních na postižení senzitivní, zrakové či sluchové dráhy.

Podle druhu podnětu, kterým jsou EP vyvolány, v praxi vyšetřujeme 4 základní typy, a to VEP (vizuální evokované potenciály), SEP (somatosenzorické evokované potenciály), AEP (sluchové evokované potenciály) a MEP (motorické evokované potenciály).

U nasnímaných signálů se hodnotí jejich tvar, amplituda a latence (čas mezi aplikovaným podnětem a zachycenou odpovědí). Naměřené hodnoty jsou konečně srovnány s již danými normami [5] [6].

3.2 Vznik evokovaného potenciálu

Evokovaný potenciál je změna napětí, která se šíří neurony, a pak dále pasivně do okolních tkání tzv. objemovým vodičem.

Díky tomu, že se EP šíří objemovým vodičem, je možno jej snímat z povrchu těla pacienta pomocí elektrod, nad příslušným periferním nervem, míšním segmentem nebo skalpem. Ovšem jejich amplituda je velmi malá (μV) a je znehodnocena různými artefakty. Proto je nutná opakovaná aplikace podnětu a sumace stovek odpovědí do výsledné křivky evokované odpovědi. Tento potenciál, tzv. field potencial, česky nazývaný „potenciál elektrického pole“, je podle Chungovy definice „souborem akčních potenciálů participujících neuronů a podprahových postsynaptických potenciálů“ [6][str. 16.].

Field potencial se k registrační elektrodě dostává pouze šířením objemovým vodičem, protože za normálních okolností není možné, aby se elektroda dostala do úzkého kontaktu s generátory evokované odpovědi kdekoli v nervovém systému. Kvůli tomuto šíření, mají evokované potenciály trifázický tvar a tzv. P-N-P charakter. První P vrchol je projevem tzv. iniciální hyperpolarizace, N vrchol depolarizace a následující P vrchol značí další hyperpolarizaci, která vrací vodič do původního stavu.

Tvar evokované odpovědi závisí na umístění registrační a referenční elektrody. Již výše naznačený, typický tvar signálu může být získán, jestliže je registrační elektroda umístěna blíže generátoru odpovědi než elektroda referenční.

Potenciál, šířící se objemovým vodičem, je jinak definován vzdáleností od generátoru. Jestliže je mezi registrační elektrodou a předpokládaným generátorem jen tenká vrstva tkáně, např. kůže, nazývá se tento potenciál „near field“, česky „potenciál blízkého pole“. Naopak, je-li vrstva tkáně mezi registrační elektrodou a předpokládaným generátorem silná, např. celá mozková hemisféra, nazývá se tento potenciál „far field“, česky „potenciál vzdáleného pole“ [6].

3.3 Technické předpoklady registrace evokovaného potenciálu

Aby bylo možné snímat evokované potenciály, je potřeba odpovídajícího vybavení. Mezi nezbytné součásti celého systému patří:

- stimulátory odpovídající dané modalitě
- registrační elektrody
- diferenční předzesilovač
- odpovídající přístroj umožňující další zesílení, zprůměrnění a zobrazení signálu [6].

3.3.1 Stimulátory

Pomocí stimulace je možné vyvolat reakci nervového systému prostřednictvím evokovaných potenciálů. Stimulovat je možné jak zrakovou, tak například sluchovou nebo motorickou dráhu. Podle modality evokované odpovědi, kterou je vyšetřována, byla stimulace v klinických zařízeních standardizována. Komerčně bývají stimulátory již součástí přístrojů určených k registraci evokovaných potenciálů [6].

3.3.2 Registrační elektrody

Pro registraci evokovaných potenciálů lze použít různé druhy elektrod. Nejčastěji bývají využívány povrchové diskovité elektrody. Tyto elektrody jsou tvořeny vrstvou Ag/AgCl. Standardně jsou o průměru 5-7 mm a ve středu mají vyboulený malý otvor, kvůli lepšímu kontaktu s médiem. Elektrody se umísťují na očištěný povrch těla (scalp, kůže), aby bylo docíleno, co nejlepších výsledků a jsou upevněny pomocí vodivé pasty. Kožní odpor (měřený ve všech svodech) by měl být nižší než 5 k Ω . Konektory elektrod jsou zapojeny do předzesilovače. Dle zaužívané konvence se do první zdířky předzesilovače zapojuje aktivní elektroda (ta, která se klade do blízkosti generátoru) a do druhé referenční elektroda. Spojení elektrod se nazývá svod.

Kromě již zmíněných diskových elektrod, lze použít k povrchovému snímání jehlových elektrod, které ovšem v praxi znamenají jistý diskomfort pro pacienty a zanáší do snímaného signálu řadu artefaktů z okolního prostředí. Vpichových elektrod se využívá pro intraoperační monitorování [7] [6].

3.3.2.1 Zapojení elektrod:

Elektrody jsou zapojovány dle základního a mezinárodního systému 10/20 pro rozložení EEG elektrod. Ovšem ne všechny z těchto svodů jsou užívány pro měření evokovaných potenciálů. **Bipolárního zapojení**, kdy elektrody jednoho svodu jsou uloženy blízko sobě a zároveň u generátoru, se při měření EP nevyužívá. Zapojení, kdy se aktivní elektroda referenčního svodu klade blízko k předpokládanému generátoru, se nazývá **referenční**. Dle umístění je zapojení pojmenováno: cefalická reference, semicefalická reference a non-cefalická reference.

- Cefalická reference je elektroda, která je umístěna na povrchu skalpu a využívá se k registraci periferních nebo míšních potenciálů.
- Semicefalická reference je elektroda umístěná na ušní boltec (nebo na oba ušní boltce). Jsou-li oba ušní lalůčky spojeny, jde o složenou referenční elektrodu a značí se A+A. Využíváme ji při registraci potenciálů generovaných v mozku nebo mozkovém kmeni.
- Non-cefalická reference je uložena kdekoli na těle kromě hlavy. Výhodou je, že elektroda je prakticky inaktivní ovšem nevýhodou je příměs pohybových artefaktů [6].

3.3.3 Diferenční předzesilovač

Elektrotechnicky nezbytnou součástí pro měření EEG signálu je diferenční předzesilovač. Má dva vstupy a jeden společný výstup. Jeden ze vstupů je tzv. přímý vstup (neinvertující) – po jehož průchodu signál zůstává nezměněn. A druhý invertující vstup, kde signál do něj vstupující je invertovaný (matematicky řečeno vynásoben mínus jedničkou). Na výstupu bude signál, který je roven rozdílu těchto dvou. Zesílení signálu udává poměr velikostí výstupního signálu se vstupním. V dnešní době je možné signál zesílit 1000 až 500 000x. Avšak je tu několik důležitých charakteristik, které ovlivňují kvalitu předzesilovače. Jako je například dbát na to, aby rozdíl mezi výstupní a vstupní impedancí byl co nejvyšší. Impedance elektroda-kůže má být co nejmenší a vstupní impedance zesilovače co největší. Důležitou součástí zesilovače tvoří filtrace. Používaná je pásmová propust, jejíž vlastnosti jsou voleny podle očekávaných jednotlivých modalit evokovaných potenciálů [6].

3.3.4 Zprůměrnovač

Po výstupu signálu z diferenčního předzesilovače dochází k dalšímu zesílení, zprůměrnění a odstranění artefaktů. Dále je signál zobrazen v hodnotitelné podobě a uložen. V těle přístroje je uložen digitální zesilovač, pomocí kterého dochází k dalšímu zesílení záznamu. Takto získaný záznam ovšem ještě stále není hodnotitelný. Aby byly evokované odpovědi vidět, je třeba provést zprůměrnění signálu. Zprůměrněvaný úsek signálu se nazývá epocha. Počet epoch není pevně nastaven. Obecně platí čím mohutnější a čistší signál, tím méně zprůměrnění bude potřeba.

Důležitou charakteristikou zprůměrnovače je vzorkovací frekvence, která udává schopnost A/D převodníku převést analogový signál na číslicový. Pro udržení kvality záznamu je třeba dbát na Nyquistovo pravidlo, které udává, že minimální vzorkovací frekvence by měla být alespoň dvojnásobek nejvyšší frekvence ve vstupním signále [6].

4 Využití evokovaných potenciálů v oblasti optometrie pro stanovení zrakové ostrosti a kontrastní citlivosti

Pro určení zrakové ostrosti v optometrii se běžně využívá tzv. optotypů. Určování zrakové ostrosti touto metodou je věc subjektivní a u některých pacientů složitěji zjištělná. Pokud pacient z nějakých důvodů nekomunikuje, jedná se o malé dítě, či je to osoba s funkční poruchou zraku, těžko se bude běžné vyšetření hodnotit. Proto je zájem určovat vizus (zrakovou ostrost) pomocí objektivní metody vizuálních evokovaných potenciálů (dále jen VEP), kdy se pacient pouze dívá na stimulační monitor. Tato metoda byla úspěšně využita například při diagnostice glaukomu, zánětu zrakového nervu či určení zrakové ostrosti [8].

4.1 Historický vývoj zrakových evokovaných potenciálů

K vývoji pro testování evokovaných potenciálů senzomotorických drah došlo v 60. letech minulého století. Bylo to umožněno rozvojem počítačové techniky, díky které se mohly průměrovat úseky EEG obsahující reakce na pravidelně se opakující senzorní podněty. Bez metody průměrování EEG signálu, byly amplitudy vyvolané EP příliš malé, v řádech několika μV , a nebyly tak v záznamu rozlišitelné.

Základy metody pro určování zrakové ostrosti pomocí VEP se objevily v sedmdesátých letech, kdy Harter a White a o rok později Campbell a Maffei prokázali blízkou proporcionální souvislost amplitud VEP s logaritmem klesajícího kontrastu stimulů. První používanou variantou VEP byly reakce na světelné záblesky (flash VEP), které jako jeden z prvních popsal v roce 1961 bratislavský neurolog Leodegar Cigánek. Dále se pro zjednodušení techniky vyvíjely různé „poddruhy“ VEP, jako například Sweep, Petter reversal, Onset/Offset, steady state atd. V klinické praxi se asi nejvíce uchytily Pattern-reversal VEP, které jsou standardem dodnes [8] [9].

4.2 Metodika

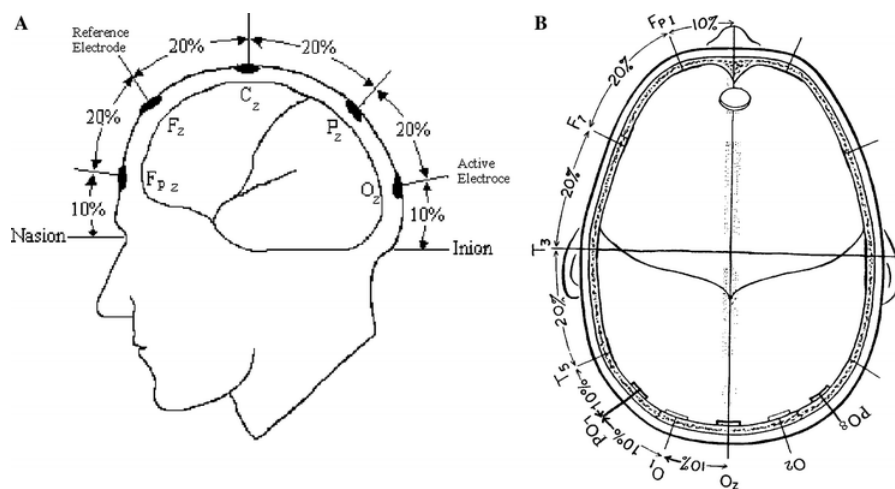
„VEP jsou odpovědi mozku na dráždění fotoreceptorů sítnice definovaným zrakovým podmětem“ [10] [str.173]. Tato elektrická aktivita je měřena v oblasti okcipitálního laloku, pomocí elektrod umístěných na kůži pacienta. Optické podněty jsou vyvolávané pomocí generátorů. Jako generátor se nejčastěji využívá monitor, který ovšem nelze použít při vyšetření pomocí zábleskových podnětů. Další nevýhodou monitoru je vykreslení vzoru na obrazovce, které může trvat až několik ms, což způsobí, že nebudou receptory podrážděny všechny naráz a způsobí prodloužení latence vln. Výhodou je cena a dostupnost monitorů. Mezi další generátory optických podnětů patří LED brýle, jak

pro stimulaci záblesky, tak i změnu struktury. Dále pak stroboskop, který se využívá pouze v případě Flash VEP [6].

VEP využívá 3 typů stimulů. **Flash VEP** (pomocí záblesků), **pattern reversal VEP** (strukturovaný podnět, nejčastěji černobílá šachovnice) a **pattern onset/offset** (černobílá šachovnice, kde se střídají větší a menší políčka). Naměřený záznam je pak obvykle ve frekvenčním pásmu od 1 do 300 Hz. Pro odfiltrování vysokých frekvencí a následné „vyhlazení“ křivky se používá filtr horní propust. Je nezbytné zachovávat stejně nastavené parametry u všech vyšetření, kvůli reprodukovatelnosti. Většinou bývá zaznamenáván úsek 300 ms od stimulu, který obsahuje všechny potřebné vlny k interpretaci [6] [11].

4.2.1 Elektrody a jejich rozložení

Pro VEP záznam jsou doporučené stříbrno-chloridové, či zlaté elektrody. Elektrody se umísťují na odmaštěnou a očištěnou kůži za pomoci vodivého gelu. Odpor zapojení elektroda-kůže by neměl překročit 5 k Ω . Umístění elektrod je dáno mezinárodním 10/20 systémem, který je zobrazen na obrázku 3.



Obrázek 3 umístění elektrod. 1A. Rozložení aktivní a referenční elektrody pro standartní odpovědi. Aktivní elektroda je umístěna podél středové čáry Oz. Referenční elektroda je umístěna na Fz. 1B. Umístění elektrod laterálně. O1, O2, PO7 a PO8 jsou umístěny podélně s aktivní elektrodou Oz. [12]

Záznam je nejlepší provádět alespoň na třech svodech současně. Aktivní elektroda je umístěná na skalpu přes oblast vizuální kůry uprostřed týlního laloku (Oz) a referenční elektroda je umístěna na

kosti čelní (Fz). Nejčastěji se zemní elektrody dávají na přední část hlavy, vertex (Cz), mastoid či na ušní lalůčky (A1 nebo A2) spojené k sobě [12] [7].

4.2.2 Výběr stimulu

Odpovědi vyvolané tzv. „patterned visual stimuli“ mají mnohem menší interindividuální variabilitu, než odpovědi na tzv. „unpatterned“ stimuly. Jsou také senzitivnější a přesnější, např. ve srovnání s Flash VEP.

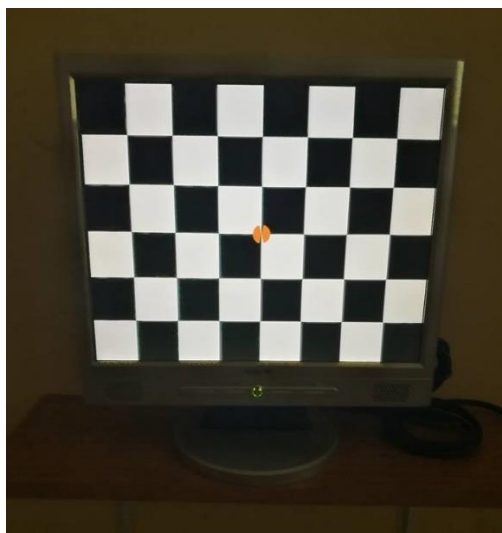
Stimuly „bez vzorku šachovnice“ (unpatterned VEP) se obecně využívá u pacientů, kteří nejsou schopni fixovat svůj zrak na tento stimul. Nebo také pro studování steady-state VEP. Díky různému nastavení velikosti kostiček šachovnice či velikosti šachovnicového pole můžeme selektivně zkoumat úseky zrakové dráhy. Výběr správného stimulu by měl být individuálně přiměřený klinickým okolnostem pro pacienta.

4.3 Stimuly a jejich odpovědi

4.3.1 Pattern – reversal VEPS

Pattern-reversal stimuly patří v klinické praxi mezi nejčastěji užívané. Standartní vzor je formou šachovnice s černými a bílými políčky, která se v pravidelných intervalech mění v negativ a naopak. Během vyšetření nesmí dojít ke změně luminiscence obrazovky, což vyžaduje stejný počet černých a bílých políček šachovnice. Vyšetřovací vzdálenost od monitoru bývá mezi 50 až 150 cm, podle velikosti monitoru. Takový monitor je zobrazen na obrázku 4.

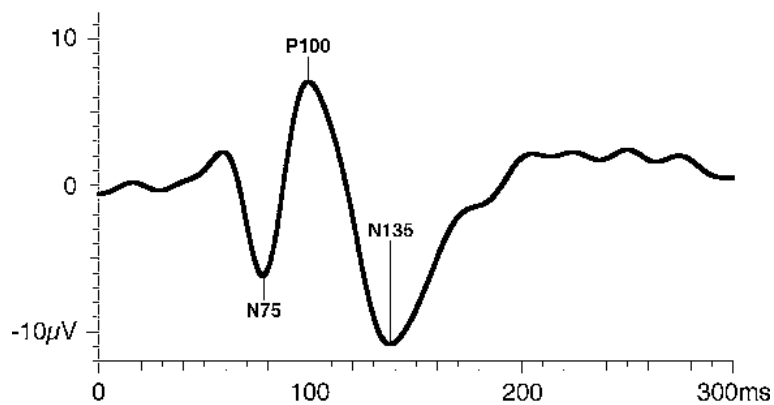
Standarty rozdělují velikost značek do dvou skupin. Větší $1^\circ \pm 20\%$ a menší $0,25^\circ \pm 20\%$ na každou stranu. Není nutností, aby vzorem byly čtverce, ovšem všechny značky musí mít jednotný tvar a být stejně velké. Jejich poměr mezi šířkou a výškou by neměl překročit 4:3. Velikost testovaného pole je nejméně 15° v nejužším místě a fixační značka je umístěna v jeho centru. Průměrná hodnota jasu šachovnice by měla být $50 \text{ cd} \cdot \text{m}^{-2}$ a kontrast mezi černou a bílou by měl být alespoň 80 %. Kontrast a jas stimulů by se neměl lišit v centru a v periférii testovacího pozadí. Povolené maximum rozdílu je 30 % [11] [12].



Obrázek 4 stimule pattern-reversal VEP

4.3.1.1 Odpověď

Odpověď je zobrazena na obrázku 5. Vlna je tvořena negativními a pozitivními amplitudami. Obsahuje důležité píky N75, P100 a N135. Je doporučeno měřit amplitudu P100 od předcházejícího píku N75. Pozitivní výchylka P100 je obvykle vyčnívající a při opakovaném měření v čase či u různých subjektů jsou rozdíly minimální. Latence píku P100 je způsobena nepatologickými parametry, jako například velikost vzoru šachovnice, její kontrast, špatná fixace zraku či věk pacienta [11].



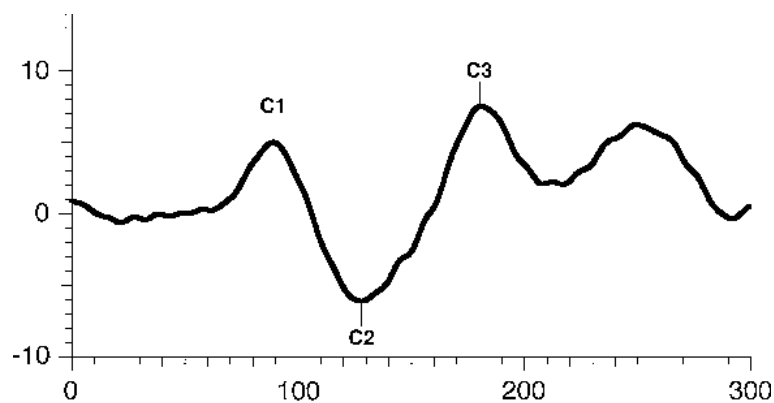
Obrázek 5 pattern-reversal VEP [11]

4.3.2 Pattern onset/offset

Toto vyšetření je vhodné pro potvrzení diagnózy nystagmu či jeho vyvrácení. Tato technika je totiž méně citlivá na špatnou fixaci očí. Vzor, nejčastěji černobílá šachovnice, je náhle vyměněn s difúzním šedým pozadím. Hodnota jasu šedého pozadí a šachovnice, musí být během vyšetření stále stejná. Pattern onset podnět by měl trvat 200 ms a být oddělen 400 ms difúzního pozadí. Tento časový vzorec zajistí, že vlna pattern onset nebude kontaminována odpovědí pattern offset. Ke stimulaci by měly být použity nejméně dvě velikosti stimulů (1° , $0,25^\circ$) [13] [11].

4.3.2.1 Odpověď

Křivka na obrázku 6 se skládá ze tří hlavních vrcholů. C1 (kladný pík, přibližně 75 ms), C2 (negativní pík, přibližně 125 ms) a C3 (kladný pík, přibližně 150 ms). Amplitudy jsou měřeny od předcházejícího záporného píku.



Obrázek 6 pattern onset/offset VEP [11]

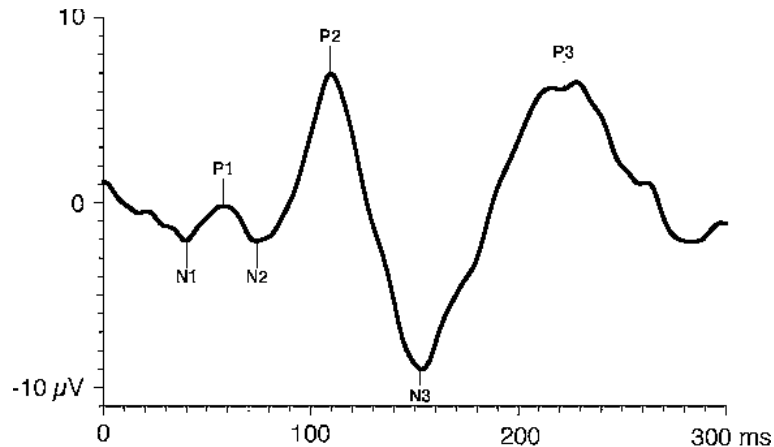
4.3.3 Flash VEP

Vyšetření se provádí ve slabě osvětlené místnosti. Podnětem je krátký světelný záblesk (≤ 5 ms), který by měl subjekt pozorovat nejméně pod úhlem 20° . Síla stimulu je $3 \text{ cd} \cdot \text{s} \cdot \text{m}^{-2}$ a frekvence záblesku by měla být 1/s. Nejčastěji je využíván stimulující záblesk na obrazovce či stroboskop [13] [11].

4.3.3.1 Odpověď

Výsledná křivka je zobrazena na obrázku 7. Odpověď na flash podněty je více variabilní než na podněty pattern. Je často využívána pro pacienty, kteří nejsou schopni spolupracovat, nebo k potvrzení hodnot z předchozích technik. Křivka na obrázku 7 se skládá ze série pozitivních a negativních vln zaznamenaných v časovém rozmezí 30 až 300 ms. Jsou to záporné amplitudy N1, N2, N3 a pozitivní P1,

P2, P3. Nejvíce viditelné píky u dospělého pacienta jsou N2, P2. Amplituda P2 by měla být zaznamenána v čase asi 120 ms a pík N2 okolo 90 ms.



Obrázek 7 Flash VEP [11]

4.4 Technické parametry stimulace ovlivňující výsledný záznam

4.4.1 Velikost stimulační plochy a prvků stimulačního vzorce

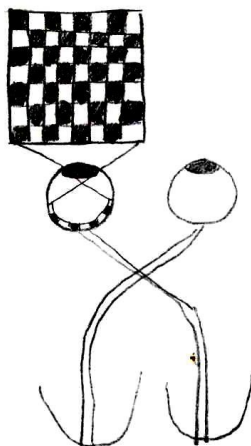
Velikost stimulační plochy a prvků stimulačního vzorce je dána zorným úhlem, který zabírá stimulační obrazec v zorném poli vyšetřovaného pacienta. Udává se v úhlových stupních a minutách, kdy jeden stupeň zabírá 1/360 kruhu. Zorný úhel lze popsat funkcí, která se dá vypočítat jako tangent poloviny šířky stimulační plochy a vzdálenosti oka od ní. Stimulace je rozlišována podle toho, jestli je stimulováno celé zorné pole, či pouze jeho polovina. Při tzv. **full-field** (stimulaci celého zorného pole) by velikost stimulační plochy měla být větší, než 8°. (Úhly 2°-6° reprezentují pouze falveolární krajinu a její nejbližší okolí). Při zvětšování pole, dochází tak k dalšímu mírnému zvyšování amplitudy vlny P100. Co se týče **half-field** stimulace, tak by měla velikost stimulační plochy přesáhnout 20°. V případě příliš malého monitoru – malé stimulační plochy zorného pole, pacient hůře fixuje střed. Tento problém lze vyřešit tak, že pacient fixuje zrak na bod na okraji obrazovky. Pak sice není stimulován ideální polovinou čtvercového stimulačního pole, ale je dosaženo dostatečné velikosti stimulační plochy.

Šachovnice s černými a bílými políčky je nejvíce používaným prvkem stimulačního vzorce. Zásadní význam má velikost čtverců šachovnice. Při jejich zmenšování dochází k poklesu amplitudy a prodlužování latence vln. Bývá tak ovlivněna nejdůležitější komponenta – vlna P100. Zmenšování prvků zvyšuje citlivost vyšetření k poruchám zrakové dráhy a ovlivní i výsledky měření u pacientů se sníženou

zrakovou ostrotí. Velikost stimulačních prvků lze také vyjádřit „prostorovou frekvencí“. Říká, kolik prvků se vejde vedle sebe do prostorového úhlu o velikosti 1° [6].

4.4.1.1 Full-field PR VEP

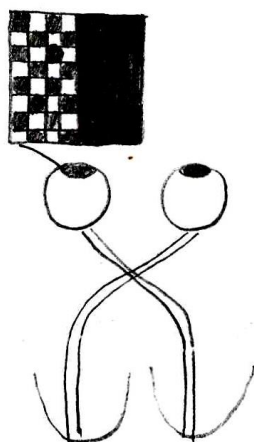
Full-field stimulace je znázorněna na obrázku 8. Při stimulaci obou polovin zorného pole v rozsahu asi 8° vzniká evokovaný potenciál podrážděním mozkové kůry obou okcipitálních laloků, společně s následnými výboji v thalamo–kortikálních okruzích. Za normální okolností má vykreslený komplex trifázický charakter. Na aktivní elektrodě uložené na střední čáře jsou zaznamenávány vlny s maximální amplitudou. Jediná vlna, u které je známo s největší pravděpodobností místo jejího vzniku, je vlna P100 a vzniká ve spodině fisura calcarina okcipitálního kortexu [6].



Obrázek 8 schéma normální registrace kortexu při stimulaci jednoho oka plným polem. Aktivované dráhy jsou vykreslené tlustou čarou. Podrážděny jsou obě okcipitální oblasti, záznam je stranově symetrický [6]

4.4.1.2 Half-field PR VEP

Odlišný záznam je získán při stimulaci horní a dolní či pravé a levé poloviny zorného pole. Tvar komplexu je podobný jako při stimulaci plným polem, ovšem vlna P100 má nižší amplitudu. Amplitudu P100 je možné zaznamenat nad druhou hemisférou obvykle v místech elektrod vzdálených 5 cm laterálně od střední čáry. V záznamu vzniklém half-field stimulací můžeme pozorovat změnu lokace tzv. „přechodové zóny“, což může být známkou patologie [6]. Schéma stimulace polovinou zorného pole je zobrazeno na obrázku 9.



Obrázek 9 Schéma normální registrace při podráždění kortexu při stimulaci jednoho oka polovinou zorného pole. Aktivované dráhy jsou vykresleny tlustou čarou [6].

4.4.2 Luminance stimulační plochy

Hodnota luminance by měla zůstat u všech vyšetření stejná, jelikož její zvýšení vede k prodloužení latence a pokles amplitud vln. (Snížením průměrné luminance o jednu logaritmickou jednotku prodlouží latenci o 15 ms a sníží amplitudu o 18 %) [13].

4.4.3 Kontrast mezi prvky

V běžném vyšetření se nastavuje na nejvyšší hodnotu. Čím vyšší kontrast, tím větší amplituda vln a menší latence. Kontrast mezi dvěma světelnými prvky lze vypočítat pomocí Michaelsonovy rovnice, viz rovnice 4.1.

$$C = \frac{(L_{max} - L_{min})}{(L_{max} + L_{min}) \times 100} \quad (4.1)$$

Kde: L_{max} [$cd \cdot m^{-2}$] je luminance světlých prvků,

L_{min} [$cd \cdot m^{-2}$] je luminance tmavých prvků.

Běžně se využívá stimulů černobílé barvy. Byly vyzkoušeny i jiné barevné kombinace, avšak zatím nejsou klinicky použitelné [6].

4.4.4 Frekvence stimulace

Tvar vlny VEP závisí na frekvenci stimulace. Obvykle se využívá frekvence 2 Hz, při které je možné analyzovat všechny komponenty odpovědi. Takový záznam nazýváme jako transientní evokovaný potenciál. Při frekvencích nad 5-8 Hz dochází ke splývání jednotlivých vln, které vzájemně interferují a dávají tvar sinusovky. Záznam pak nazýváme **steady-state VEP** a jeho hodnocení je na rozdíl od transientních VEP odlišné [11] [13].

4.4.5 ISCEV standard

ISCEV standard slouží jako mezinárodní příručka pro klinickou elektrofyziologii vize, která popisuje principy léčby pacientů s různými vizuálními poruchami. Je veřejně přístupná a obsahuje několik celosvětově standartních klinických protokolů elektrofyziologických vyšetření. Vybrané parametry ze standardu pro VEP z roku 2016 jsou zobrazeny v Tabulce 2.

Tabulka 2 ISCEV standard VEP [12]

STANDARTNÍ

STIMULY

TYP STIMULU	velikost pole (minimální)	provedení	stimuly	střední luminance (cd.s.m^{-2})	Rychlost změny stimulů
PATTERN REVERSAL	15°	jedno oko	kontrolní šířka: 1°; 0,25°	50 (40-60)	2 (1,8-2,2) otočení/s
PATTERN ONSET/OFFSET	15°	jedno oko	kontrolní šířka: 1°; 0,25°	50 (40-60)	1,67 Hz. (200 ms on; ≥400 ms off)
FLASH STIMUL	≥ 20°	jedno oko	záblesk ≥ 20°	3 cd.s.m^{-2}	1 (0,9-1,1) Hz

4.5 Faktory vztažené k pacientovi ovlivňující záznam

Vliv na výsledky vyšetření může mít i samotný pacient. Jeden z nich například pomáhá k **objektivnímu stanovení zrakové ostrosti**. Čím je zraková ostrost pacienta nižší, tím delší je latence vlny P100 a amplituda komponenty je nižší. Čím více budeme snižovat velikost vzorů (čtverečků šachovnice) u pacienta s dobrou zrakovou ostrostí, tím vyšší bude amplituda vlny P100. Pokud by byla velikost čtverečků menší, než je schopen pacient rozeznat, amplituda P100 by klesala a latence vlny se prodlužovala. **Věk** hraje při vyšetření také důležitou roli. Čím jsou čtverce menší a nižší luminiscence, tím je jeho vliv výraznější. U lidí do 20 let dochází ke zkracování latence vlny P100 a s každou dekádou dále vzrůstá o 2-5 ms. Dále je zjištěno, že u žen je latence vlny P100 menší než u mužů, což je přisuzováno velikosti hlavy, tudíž kratší délce zrakové dráhy. Také amplituda vlny 100 je u obou **pohlaví** odlišná. U žen bývá vyšší a je zdůvodňována hormonálními rozdíly. Při vyšetření je nutné si dávat pozor na **pacienty, kteří nevědomě nespolupracují**, což může zanést chyby do záznamu. Občas je třeba si stoupnout vedle stimulační obrazovky a kontrolovat její, zdali se dívá, kam má. Mezi další faktory způsobující rozdílné velikosti amplitud a latencí vln v záznamu patří např. **dominantní oko, pohyby očí, teplota či užívání některých léků** [6] [13].

4.6 Komerční zařízení pro měření VEP

4.6.1 Diopsys

Diopsys je americká společnost, která pomáhá odborníkům v očním lékařství sledovat postup onemocnění a přizpůsobit léčbu pomocí objektivních výsledků vizuální funkce. Diopsys se zabývá metodami elektroretinografie (ERG) a vizuálních evokovaných potenciálů (VEP). Díky těmto technologiím jsou lékaři schopni provádět funkční vyšetření zraku, které napomáhá k odhalení zrakových poruch či sledování léčby pacienta. Výsledky těchto testů pomáhají k odhalení i tak častých onemocnění jako jsou například diabetická retinopatie, glaukom či optická neuritida [14].

4.6.1.1 Diopsys VEP

Testování zraku pomocí Diopsys® VEP umožňuje získat objektivní informace o funkci celého systému vidění, od předního segmentu až po vizuální kortex. Testy Diopsys® VEP na rozdíl od běžných vyšetření nabízejí objektivitu výsledků, jelikož při vyšetření nevyžadují žádné slovní odpovědi pacienta či stisknutí tlačítka.



Obrázek 10 Vyšetření pomocí Diopsys® VEP

Ve spojení s dalšími diagnostickými testy tento přístroj zlepšuje specifitu a senzitivitu v diagnostice neuro – vizuálních poruch. Dále obsahuje různé hladiny kontrastu a stimulů v závislosti na patologiích. Testování obsahuje dva módy. První *Diopsys® VEP/Multi-Contast (LX) Protocol*, který vyhodnocuje odpovědi pomocí nízkého či vysokého kontrastu. Druhý *Diopsys® VEP/User Defined Protocol* umožňuje přenastavení parametrů obsluhou přístroje dle zkoumané patologie. Přístroj je zobrazen na obrázku 10.

Úspěšnost tohoto zařízení byla měřena pomocí „tranzistentních vizuálních potenciálů“ (tVEP) v diskriminaci normálního oka od oka postiženého glaukomem. Hodnotily se odlišnosti vln P100 a P75, jejichž latence a amplitudy byly na konec vyhodnoceny. Vyhodnocení testu zároveň pro zdravé i postižené oko vyšlo: senzitivita 89,6 % a specifita 86,2 % [14].

4.6.2 Biopac

Biopac je firma, která vyrábí kvalitní vědecké nástroje pro měření a interpretaci biologických signálů. Je po celém světě uznávána jak pro hardwarový, tak softwarový výzkum. Kromě možnosti měření EEG nabízí Biopac také dodatečnou stimulaci pro měření evokovaných potenciálů.

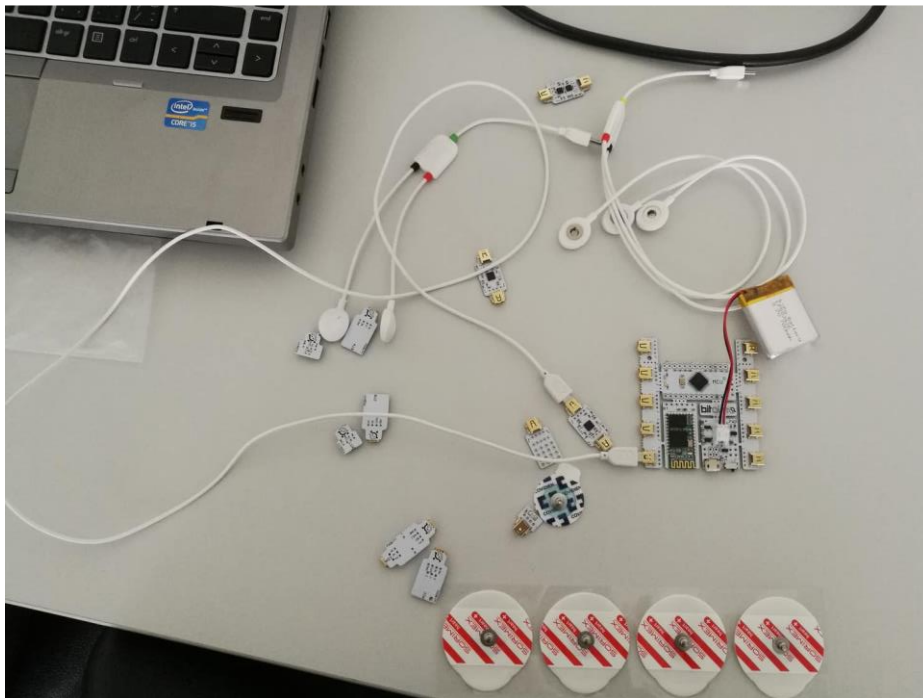
4.6.3 Visual evoked response (VER)

Tato firma nabízí několik balíčků pro měření evokovaných odpovědí na vizuální podněty. Při zaznamenávání odpovědí na zábleskový podnět (Flash VEP), je třeba pořídit si sadu obsahující stroboskop. Pro záznam evokované odpovědi se používá software Evoked Response nebo elektroencefalogramový zesilovač, zatímco software provádí online zprůměrování. Kromě jiného můžou být evokované potenciály vyvolány šachovnicovým vzorem dodávaným systémem prezentace podnětů, které jsou synchronizovány se zařízením. Potenciál je zaznamenán pomocí elektrod umístěných na hlavě pacienta [15].

5 Pilotní měření

5.1 Zařízení na měření VEP

Na snímání EEG signálu bylo použito zařízení BITalino (r)evolution Board Kit (<https://plux.info/kits/33-bitalino-revolution-board-bt-810121001.html>), které je vyfoceno na obrázku 11. Toto zařízení je tvořeno základní deskou, ke které jsou připojeny odnímatelné moduly pro snímání různých biologických signálů viz obrázek 11. Základem této desky je zkušební a skutečný mikrokontrolér ATmega328, který může být konfigurován se vzorkovací frekvencí až do 1000 Hz a je schopen podporovat šest analogových vstupů (čtyři na 10 bitů, dva na 6 bitů), stejně jako čtyři digitální vstupy a čtyři digitální výstupní kolíky. Dále bylo konkrétně k tomuto měření využito třech elektrod, které byly součástí setu k Bitalinu. Zařízení bylo pomocí Bluetooth propojeno s programem *Open Signals* v počítači a byly nasnímány základní signály [16].



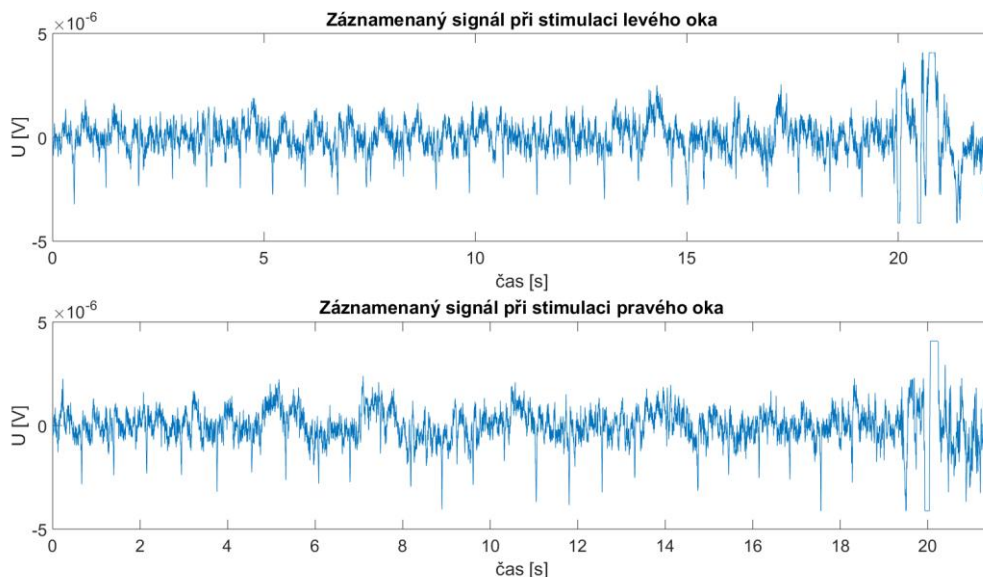
Obrázek 11 BITalino (r)evolution Board Kit

5.2 Postup měření VEP pomocí pattern reversal stimulu

Nejprve bylo spárováno zařízení Bitalino pomocí Bluetooth s programem Open Signals (<https://bitalino.com/en/software>) v počítači. Pro snímání evokovaných potenciálů byly použity 3 elektrody, které byly umístěny na hlavu pacienta dle ISCEV standard 2016 [11].

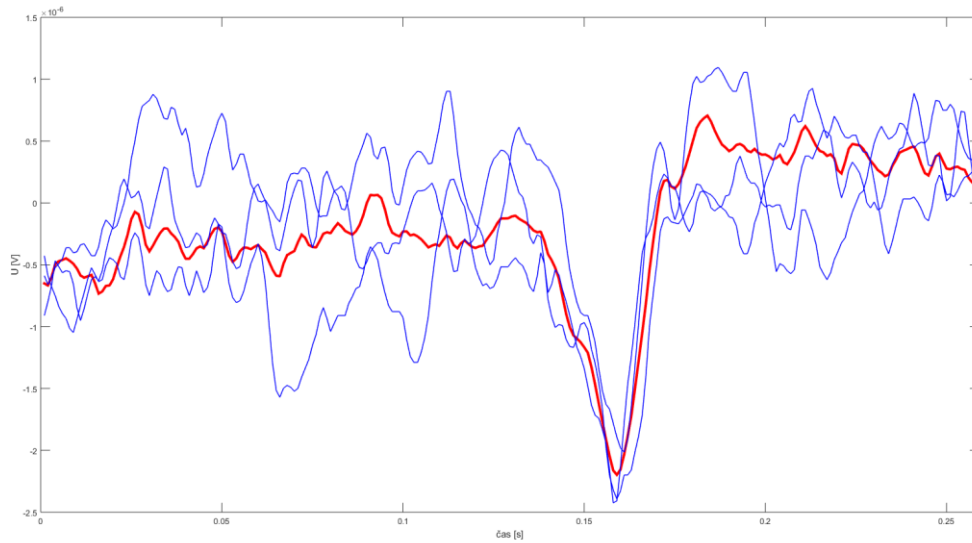
Referenční elektroda je umístěna na frontálním laloku hlavy pacienta, aktivní elektroda na okcipitálním laloku a zemní elektroda na levém uchu. Vyšetřovaná osoba seděla na židli přibližně metr od obrazovky počítače, měla zakryté jedno oko a tím druhým sledovala měnící se vzor šachovnice na monitoru, po dobu přibližně 20 sekund. Čtverečky šachovnice se měnily z bílé barvy na černou a obráceně s frekvencí 2 Hz.

Výsledná evokovaná odezva aktivity mozku na podnět je zobrazena na následujícím obrázku 12.

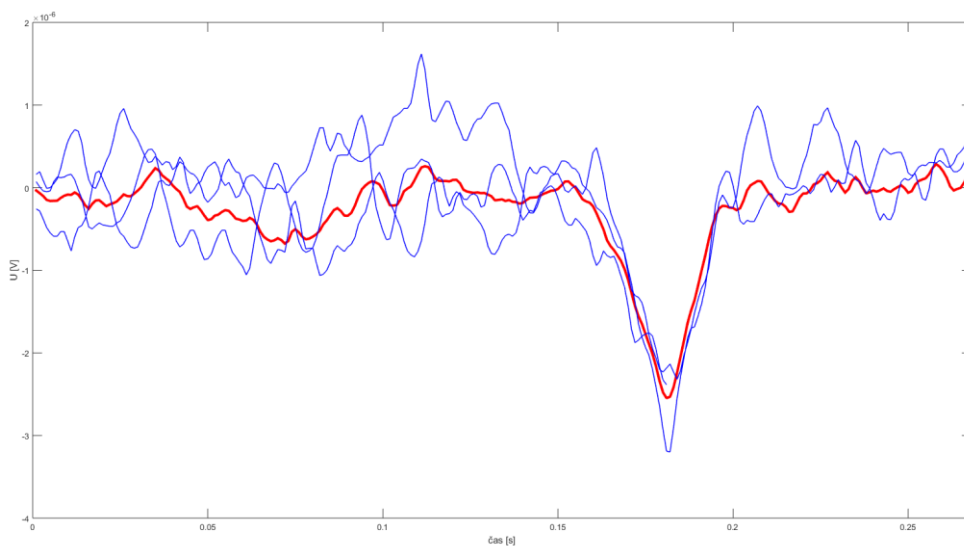


Obrázek 12 Raw zaznamenaný signál

V naměřeném signálu byly ručně vyhledány repetitivní úseky odpovědi na *pattern-reversal* stimul a provedena kumulace jejich realizací jak v odpovědi naměřené pro pravé oko, tak pro oko levé. Výsledky jsou zobrazeny na obrázcích 13 a 14. Kumulovány byly píky s největší amplitudou, bez znalosti času, kdy došlo ke změně *pattern-reversal*.



Obrázek 13 Odpověď při stimulaci levého oka



Obrázek 14 Odpověď při stimulaci pravého oka

Pattern-reversal VEP má relativně nízkou variabilitu signálu i latenci vln. Základními komponenty jsou vlny N75, P100 a N135. Na obrázcích nelze jednotlivé vlny zcela rozlišit. Velký negativní pík v čase mezi 0,15 a 0,2 sekund pravděpodobně značí EKG artefakt, který se repetitivně vyskytuje v naměřeném signále.

Na obrázku 15 je uvedeno srovnání naměřených jednotlivých mozkových aktivit pacienta v přirozených podmínkách při otevřených očích. Rozložení elektrod zůstává stejné.



Obrázek 15 Snímání EEG bez stimulu.

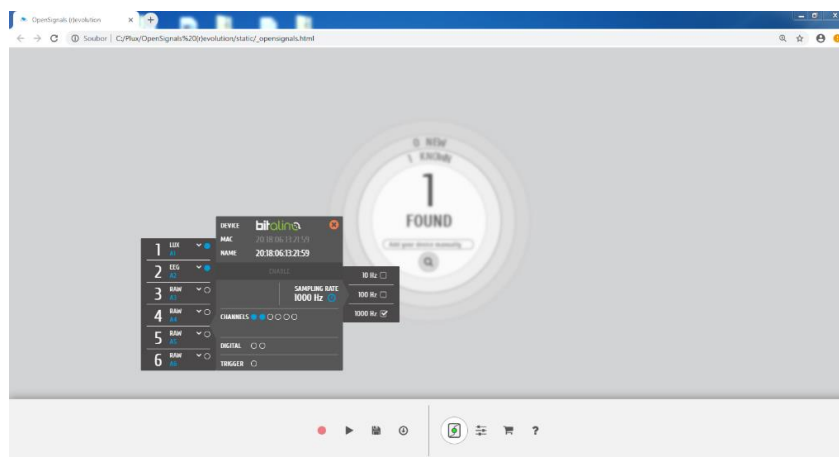
6 Měření signálu EEG se synchronizací časové osy

Aby bylo možné rozeznat jednotlivé změny pattern-reverzal stimulu v záznamu EEG, bylo třeba přijít se zařízením, které bude změny zaznamenávat ve stejné časové ose, jako je EEG signál snímán. K tomuto účelu bylo použito luxmetru, který je součástí odnímatelných modulů Bitalina.

6.1 Měření s luxmetrem

Luxmetr je zařízení měřící osvětlení. Byl tedy umístěn do horního levého rohu měničícího se šachovnicového stimulu. Tam slouží k detekci změn černé a bílé barvy políčka šachovnice. Signál luxmetru nabývá několika hodnot v závislosti na zatemnění vyšetřovací místnosti. Nejvíce hodnot se pak vyskytuje na úrovni minima a maxima signálu.

Měření pomocí Bitalina probíhalo na dvou vstupních kanálech. K prvnímu vstupu byl připojen luxmetr a k druhému elektrody EEG, jak je zaznamenáno na obrázku 16. Vzorkovací frekvence byla nastavena na 1000 Hz a ostatní nastavení zůstalo stejné.

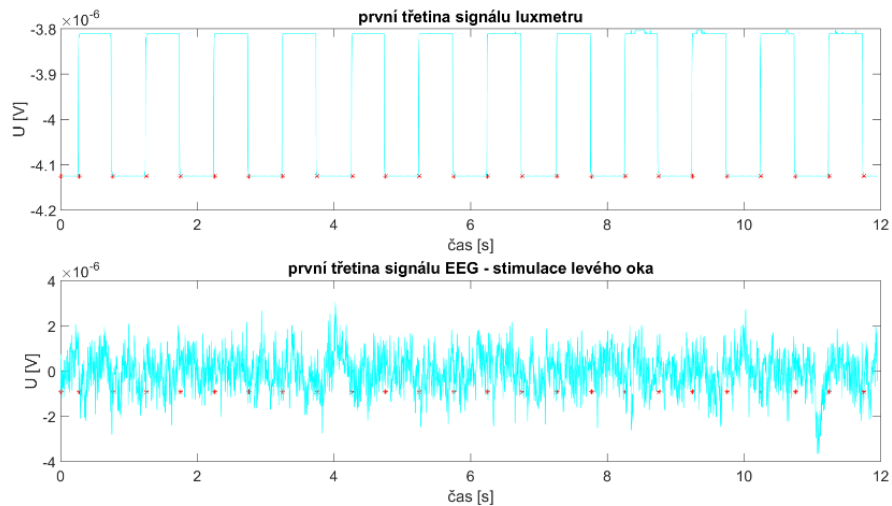


Obrázek 16 Ukázka nastavení Bitalina

Výsledné naměřené signály v programu Open Signals byly uloženy v textovém formátu k dalšímu zpracování.

6.2 Synchronizace časové osy EEG signálu a signálu z luxmetru

Aby bylo vidět, zdali a jak mozek zareagoval na změny šachovnicové struktury, bylo třeba si změny vyznačit přímo ve snímaném EEG signále. Tyto a další úpravy probíhaly v následném zpracování v Matlabu.



Obrázek 17 Ukázka signálu luxmetru a EEG

Na obrázku 17 je vidno, že nejprve byly pomocí algoritmu detekovány vzestupné a sestupné hrany v signále luxmetru. Dále pak bylo využito časové synchronizace obou měřených signálů. Algoritmus pracuje tak, že najde pozice změn v signále luxmetru a zaznačí je na téže časových pozicích EEG signálu za pomoci hvězdiček.

7 Zpracování dat

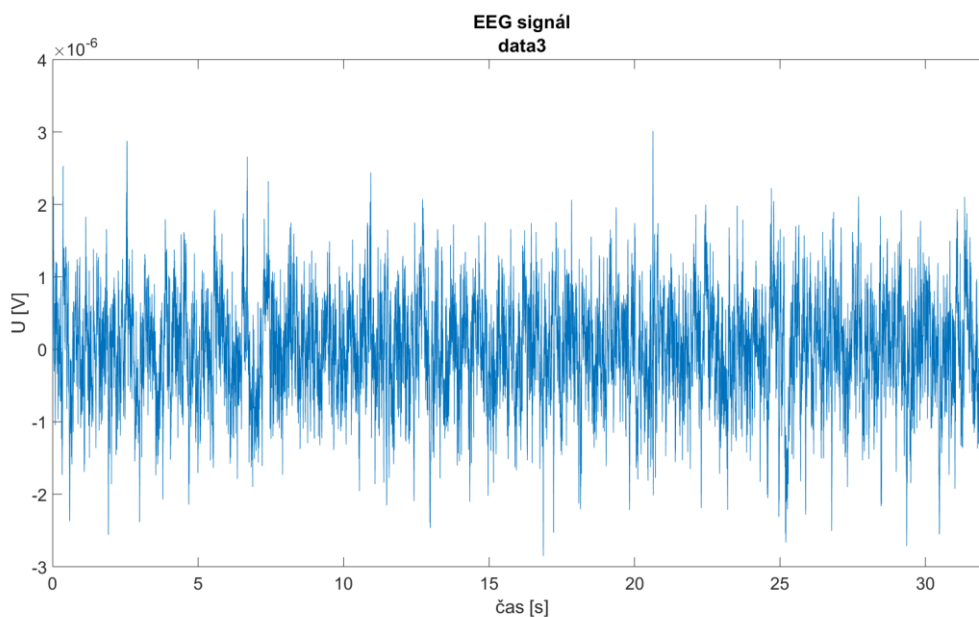
Měření bylo provedeno na deseti dobrovolnících. Jak je již zmíněno výše, nahrané signály se z programu Open Signals uložily do textového souboru. Pro další zpracování v Matlabu byla data převedena do souboru mat. Uložená data obsahují počet řádků podle délky nahrávání a osm sloupců, přičemž data z luxmetru a elektrod obsahují pouze sloupce šestý a sedmý.

7.1 Software pro vyhodnocení naměřených dat

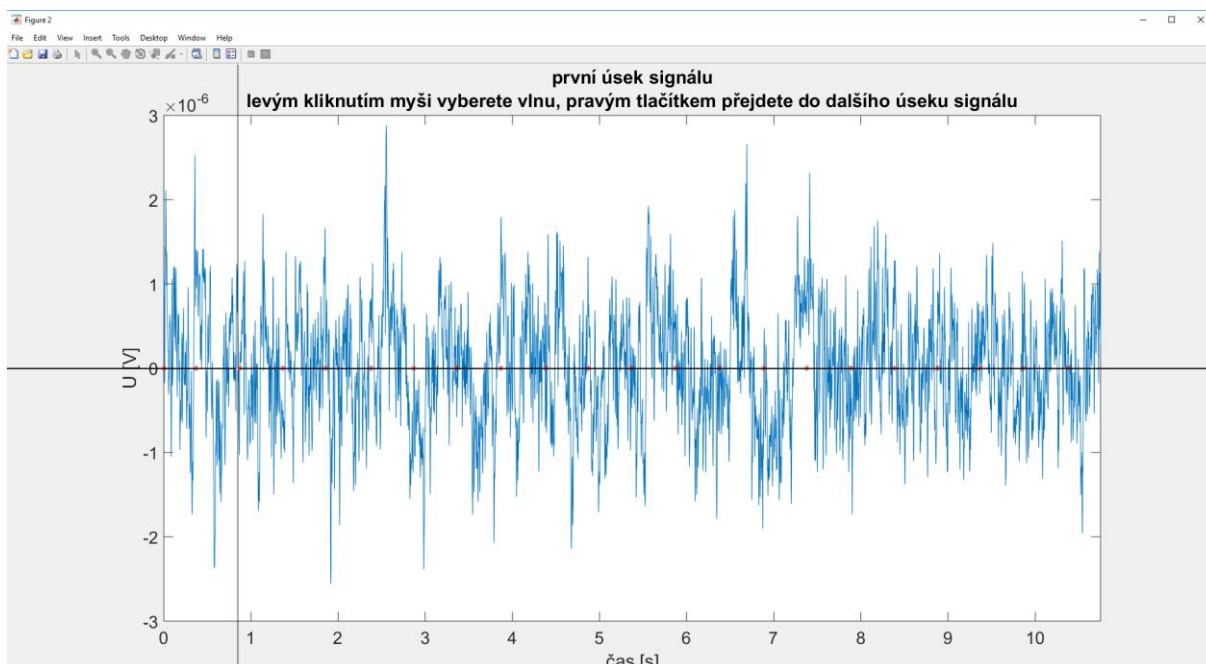
Jelikož naměřené signály Bitalinem nejsou v celém rozsahu hodnotitelné, je software proveden jako poloautomatické zařízení, které vytvoří výsledný obraz sumace vln podle jejich výběru uživatelem. Ten si pak může prohlédnout výslednou vlnu tvořenou sumací zvolených úseků – odezvu mozku na pattern-reversal stimul.

7.1.1 Popis ovládání softwaru

Po spuštění skriptu je uživatelem vybrán některý z již naměřených signálů, který má být vyhodnocen. Dále se otevřou dvě okna, která jsou zobrazena níže na obrázcích 18 a 19. V jednom uživatel vidí celkový nasnímaný EEG signál, spíše pro vizuální představu, a v druhém okně se postupně objeví části signálu, ve kterých si je třeba zvolit, ze kterých vln má být výsledný obraz vytvořen. Program umožňuje vybrat neomezený počet úseků signálu ke kumulaci. Původní signál je rozdělen na třetiny kvůli přehlednosti.



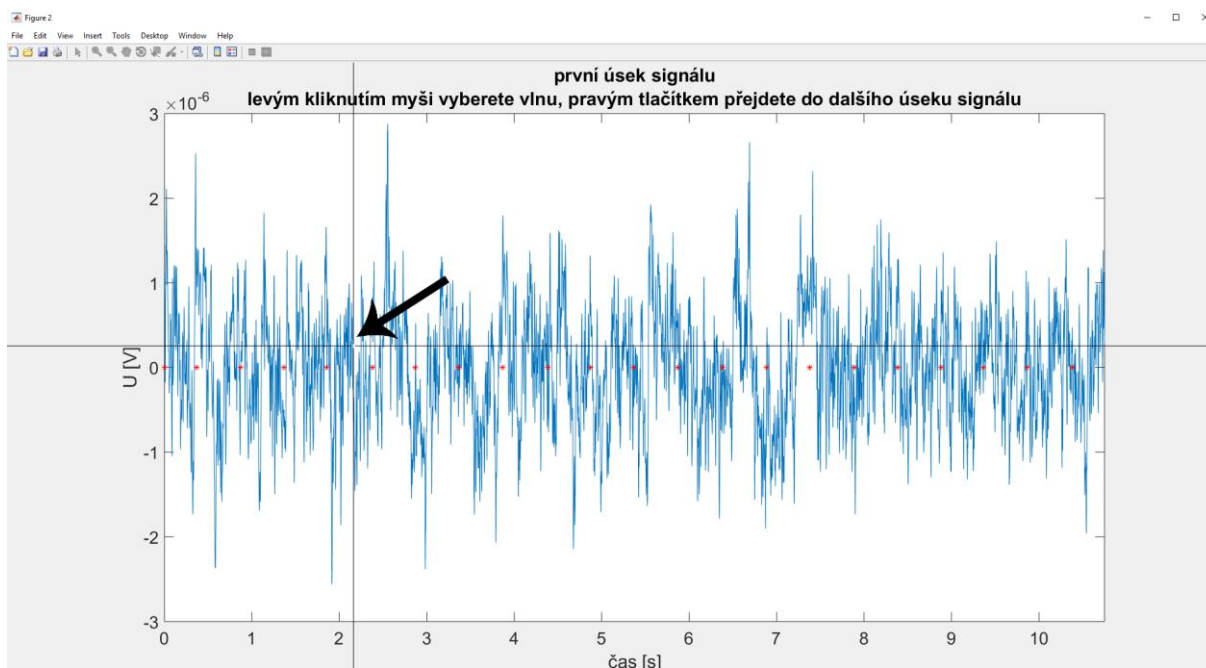
Obrázek 18 Celý záznam EEG signálu



Obrázek 19 Uživatelské zobrazení první třetiny signálu, hvězdičkami jsou zaznamenané změny pattern-reversal stimulu

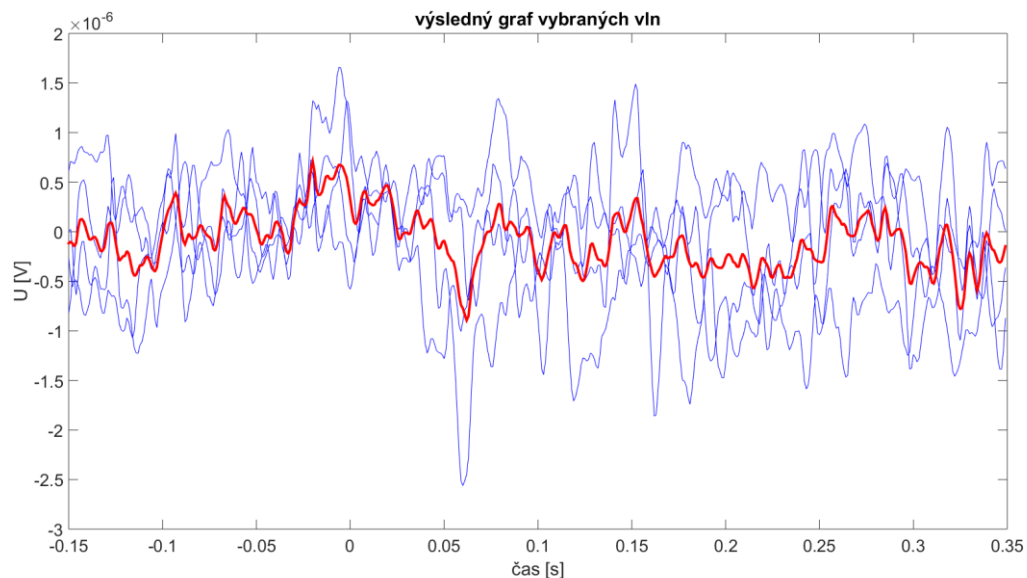
Dle obrázku 19, pro vybrání vlny je třeba kliknout v programu levým tlačítkem myši a pravým klikem dojde k přesunu do další části signálu.

Program je navržen tak, že když uživatel klikne mimo hvězdičku, do vyhodnocení se vezme ta nejbližší k ní. Není tudíž nutné zaměřovat ručně změny přesně na pixel. Na obrázku 20 je zobrazeno nevhodné kliknutí.



Obrázek 20 Ukázka nepřesného kliknutí uživatelem

Výstupem programu je jedna reprezentativní vlna, která je na obrázku 21 vyznačena červeně. Tato vlna vznikla zprůměrováním uživatelem vybraných úseků signálu.



Obrázek 21 Modře jsou na obrázku jednotlivé vlny a červeně je vyznačen signál kumulovaný

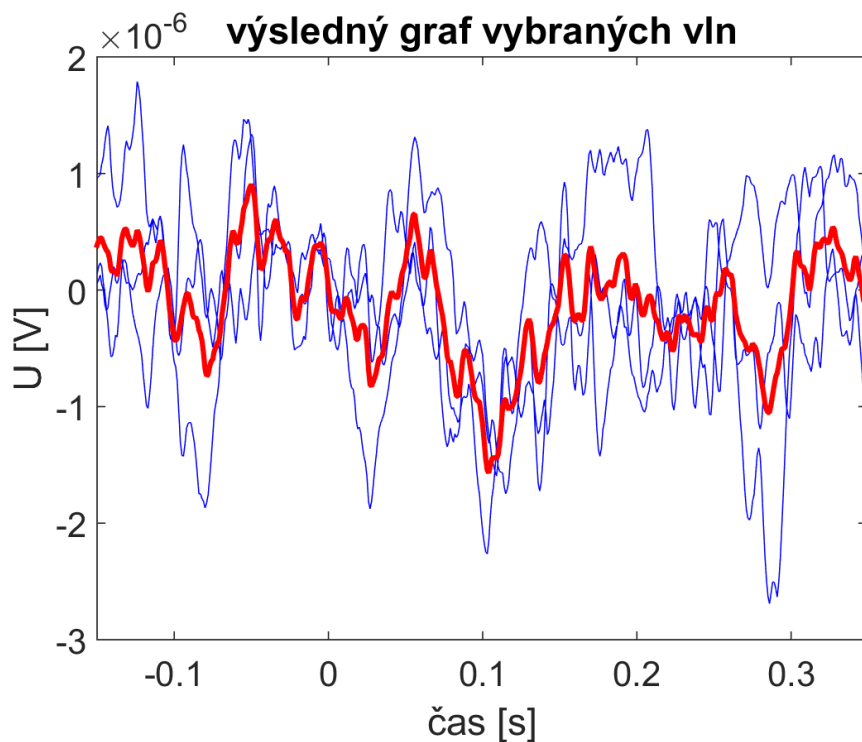
7.1.2 Popis vyhodnocovacího algoritmu

Algoritmus je tvořen sedmi funkcemi, které postupně zpracovávají naměřené signály. Nejprve jsou signály luxmetru a EEG načteny. Pro vizualizaci se zobrazí okno s celým EEG záznamem. Dále dochází ve funkci luxmetr ke zjištění změn detekovaných jako minima a maxima v signálu luxmetru. Tyto změny jsou zjištěny v EEG záznamu a pomocí hvězdiček do něj zaznačeny. Pak nastane postupné vykreslování signálu po třetinách a uživateli je umožněn výběr úseků signálu, který chce kumulovat. Kliknutím levým tlačítkem na vybranou hvězdičku dochází k uložení pozice dané změny a pravým tlačítkem myši se uživatel posune do dalšího úseku signálu. Vytvořený algoritmus zajistí výběr nejbližší změny od kliku myši a zabrání tak kumulaci nesmyslných úseků v signále. Nakonec se vytvoří matice vybraných komponent, která uloží záznam 0,15 sekund od kliku (nejbližší hvězdičky) doleva a 0,349 sekund doprava. Na výstupu tohoto algoritmu je graf se všemi vybranými komponenty a zvýrazněna jejich kumulace, jak je zobrazeno na obrázku 21.

8 Vyhodnocení naměřených dat

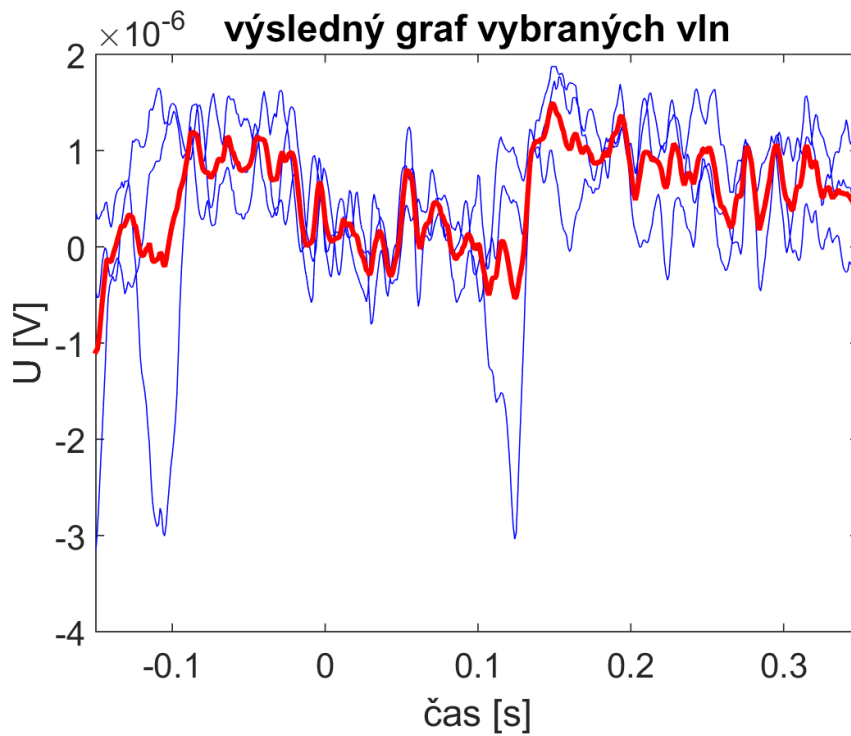
Všechny signály byly nasnímány za stejných podmínek. Tedy v tmavé místnosti, dobrovolník seděl ve vzdálenosti jednoho metru od monitoru, měl zakryté jedno oko a elektrody na hlavě byly kvůli lepšímu kontaktu přitlačené čelenkou. I přes tato opatření se v mnoha signálech nachází poměrně vysoká hladinu šumu a v některých záznamech pravděpodobně i EKG artefakty.

Po zobrazení celého úseku signálu (viz příloha) je u většiny záznamů vidět, že převažuje jeho repetitivní charakter. Pomocí vytvořeného algoritmu se podařilo najít jednotlivé, co nejvíce si podobné, repetitivní úseky a vytvořit tak jejich kumulaci jeden reprezentativní úsek signálu. Výsledky vybraných dobrovolníků jsou zobrazeny níže na obrázcích 22-27. Modře jsou v grafu jednotlivé vybrané komponenty signálu a červeně je zvýrazněna reprezentativní složka vytvořená kumulací.



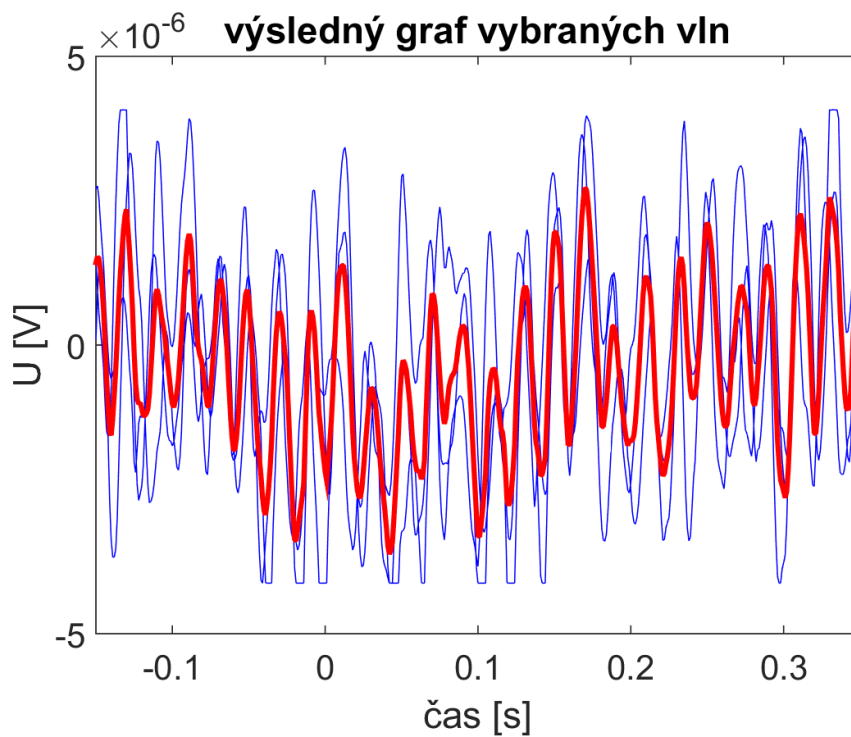
Obrázek 22 Výsledná kumulace záznamu levého oka pro data1.

Na obrázku 22 je zobrazena kumulace záznamu levého oka, vytvořená ze záznamu data1. Tato odpověď se, ze všech nasnímaných signálů, nejvíce přibližuje očekávané. Krátce po změně reversal-stimulu v čase 0 s je vidět pokles signálu přibližně na úroveň $-1,5 \mu V$, dále pak vzestup na hodnotu asi $0,8 \mu V$ a na konec prudký pokles k hodnotám okolo $-2 \mu V$.



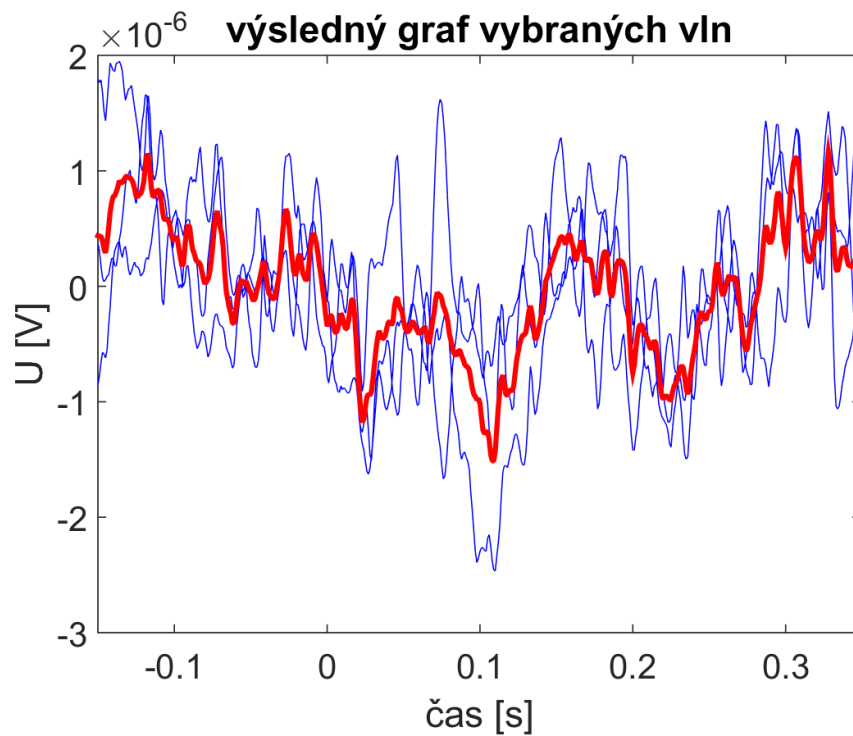
Obrázek 23 Výsledná kumulace záznamu levého oka pro data4.

Na obrázku 23 lze mezi časy 0,1 a 0,2 sekund modrou čarou vidět EKG artefakt. Může se jednat o opačnou vlnu R. K otočení polarity záznamu mohlo dojít při přehození aktivní a zemní elektrody při snímání signálu. Stejně tak byl naměřen i signál pro pravé oko, který je na obrázku 26.



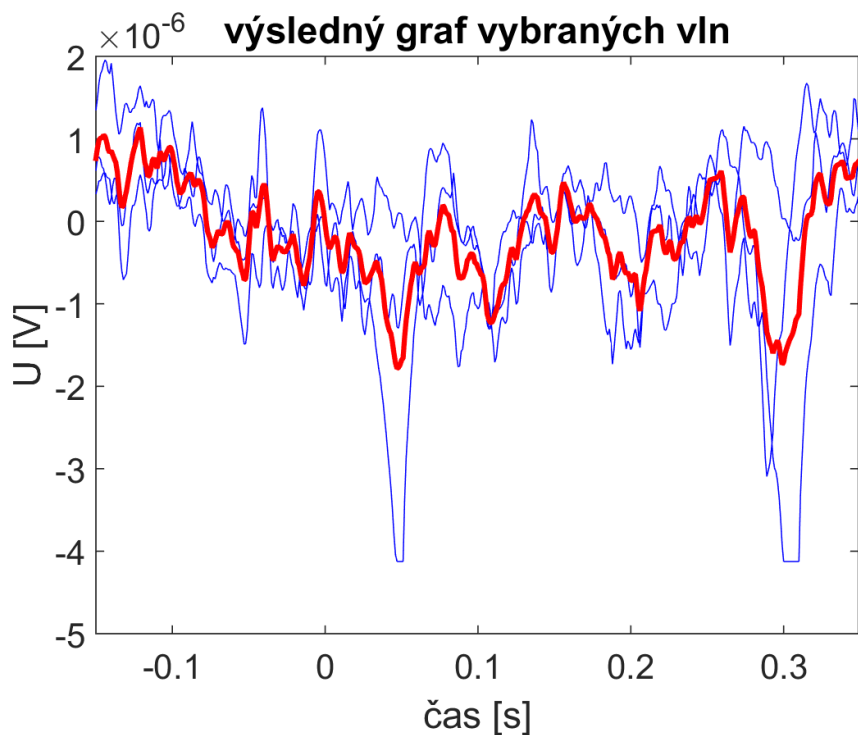
Obrázek 24 Výsledná kumulace záznamu levého oka pro data7.

Na obrázku 24 je zobrazena kumulace signálu, který byl postižen harmonickým šumem.



Obrázek 25 Výsledná kumulace záznamu pravého oka pro data3.

Při zpracování naměřeného signálu ze stimulace pravého oka, jsou na obrázku 25, počínaje časem 0 s, pozorovatelné dva záporné píky hned za sebou. Dále pak se vlna vrací nazpět do kladných hodnot a na konec mezi časy 0,2 a 0,3 s zase poklesne do hodnot záporných. Takto opakující se „zdvojená“ záporná odpověď na stimul, může značit patologie.



Obrázek 26 Výsledná kumulace záznamu pravého oka pro data4.

I když je procesem kumulace získána reprezentativní vlna všech vybraných, není natolik jednoznačná, aby v ní bylo možno rozeznat jednotlivé komponenty, ze kterých se evokovaná odpověď skládá.

V následujících tabulkách 3 a 4 bylo provedeno subjektivní hodnocení naměřených signálů.

Tabulka 3 Hodnocení naměřených dat pro stimulaci levého oka

Název souboru	Výskyt EKG artefaktu	Míra zašumění signálu	Počet hodnotitelných vln v signále
Data1	ne	nízká	17
Data2	ne	střední	11
Data3	ne	střední	10
Data4	ano	nízká	14
Data5	ne	nízká	12
Data6	ano	střední	6
Data7	-	vysoká	2
Data8	ne	střední	11
Data9	ne	nízká	15
Data10	-	vysoká	2

Tabulka 4 Hodnocení naměřených dat pro stimulaci pravého oka

Název souboru	Výskyt EKG artefaktu	Míra zašumění signálu	Počet hodnotitelných vln v signále
Data1	ano	nízká	10
Data2	ne	střední	11
Data3	ne	nízká	5
Data4	ano	střední	5
Data5	ano	nízká	8
Data6	ano	střední	13
Data7	-	vysoká	2
Data8	ne	střední	10
Data9	ano	nízká	15
Data10	-	vysoká	2

8.1 Určení zrakové ostrosti pomocí VEP

Z odpovědi na vizuální evokovaný potenciál se dá mimo jiné také objektivně vyhodnotit zraková ostrost vyšetřovaného. Vyšetření probíhá tak, že člověk sleduje pouze centrální fixační značku. A na obrazovce se v rychlém sledu mění počet čtverců. Hustota šachovnice je udávána v cyklech na jeden úhlový stupeň a během vyšetření je počet změn během cyklu konstantní, rychle narůstá prostorová frekvence a je tak získán funkční vztah stimulace a odpovědi. Pro vyhodnocení takovéto odpovědi je třeba ze získaných dat dostat tzv. hraniční frekvenci, tj. frekvenci při které systém ještě reaguje. K jejímu určení jsou zapotřebí amplitudy VEP a prostorové frekvence. Dokončení výpočtu probíhá pomocí matematických operací.

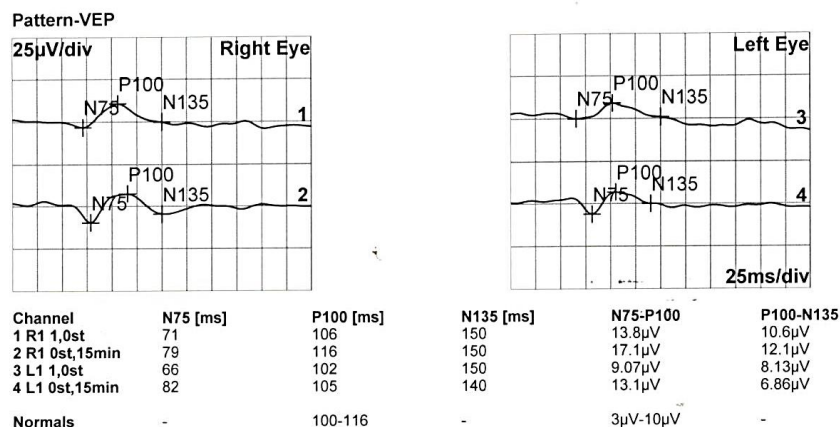
Pro signály, které byly zařízením Bitalino obdrženy, nelze daný postup realizovat. Proto se určení zrakové ostrosti tato práce dále nevěnuje.

9 Diskuze o srovnání získaných výsledků a postupů používaných ve fyziologických laboratořích

Průběh vyšetření byl sestaven tak, aby se co nejvíce podobal běžně používaným v elektrofyziologických laboratořích. Tento postup byl zmiňován již výše. První věc, která se liší, je zapojení elektrod, které snímají EEG signál. Klinické zařízení používá elektrody aktivní. První snímá oblast týlního laloku, dále jsou zapojeny elektroda referenční na čele a elektroda zemnicí na ušním lalůčku. Konektory elektrod jsou zapojeny do předzesilovače, kde je odpověď zesílena, dále pak filtrována a počítačově vyhodnocena. Výsledkem je jedna vlna, která vznikne zprůměrováním celého signálu a obsluze přístroje není dovoleno do procesu zpracování signálu nijak zasahovat. Protokol z měření VEP můžete vidět na obrázku 27.

V měření se zařízením Bitalino nebylo jasně uvedeno, která elektroda je aktivní. Bylo tak zvoleno rozmístění elektrod, které dávalo vizuálně nejlepší signál. Naměřená data byla následně zpracována a vyhodnocena pomocí navrženého algoritmu a výstupem je zprůměrněná vlna z vybraných úseků signálu.

Kvůli velké šumové složce, která je obsažena v naměřených signálech, artefaktů z mrkání či EKG, nebylo vhodné vytvořit software, který by automaticky zprůměroval celý signál.



Obrázek 27 Protokol z měření VEP na přístroji RETIport32

V praxi se hodnotí především vlna P100, která je ovlivněna několika faktory, jako například velikostí políček šachovnicového vzoru, jeho kontrastu či luminancí. Pomocí Bitalina se nepodařilo naměřit dostatečně kvalitní záznam na to, abychom komponentu P100 mohli jednoznačně identifikovat a hodnotit.

10 Závěr

Cílem této práce bylo seznámit se s měřením elektroencefalogramu a vizuálně evokovaných potenciálů. Dále pak využití evokovaných potenciálů v oblasti optometrie, pro stanovení zrakové ostrosti. Pro akvizici jednotlivých signálů bylo využito zařízení Bitalino, které snímalo jak signál EEG z elektrod umístěných na hlavě dobrovolníka, tak signál z luxmetru, který byl umístěn v rohu monitoru a detekoval změnu pattern-reversal stimulu.

Provedlo se měření deseti zdravých subjektů. Měřilo se každé oko zvlášť po dobu přibližně 30 s. Stimulační sekvence, měnící se šachovnice, byla automaticky generována ve formátu gif s pevnou opakovací frekvencí 2 Hz. Současným snímáním, pomocí zařízení Bitalina, signálu z luxmetru a signálu z elektrod EEG, došlo k synchronizaci časové osy.

Zaznamenané signály byly dále zpracovány a vyhodnoceny pomocí navrženého algoritmu v Matlabu. Jelikož byly nahrané signály postiženy šumem a dalšími artefakty, program funguje na bázi poloautomacie. Uživatelem jsou vybrány vlny, které mají být zprůměrněny a výsledkem je jedna reprezentativní epocha vizuálně evokovaného potenciálu.

Přes to, že záznamy EEG vykazují po většině repetitivní charakter, tak při zpracování naměřených signálů bylo zjištěno, že vyhodnocení zrakové ostrosti dobrovolníka není možné. A to z důvodu neschopnosti rozeznání jednotlivých komponent odpovědi na evokovaný podmět. S uvedeným zařízením Bitalino, které je velice jednoduché, tak patrně nejde korektně naměřit a vyhodnotit jednotlivé evokované odpovědi na podmět. Řešením by bylo použití zařízení z klinických praxí. Ovšem pořízení takového zařízení by bylo značně nákladnější.

11 Citovaná literatura

- [1] HRAZDIRA, DrSc., a Doc. MORNSTEIN CSC. *Lékařská biofyzika a přístrojová technika*. 2004. Březová 18, 637 00 Brno: Neptun, 2001. ISBN 80-902896-1-4.
- [2] Nerve Impulse Transmission within a Neuron: Action Potential. *Libretexts* [online]. 2017 [cit. 2018-11-14]. Dostupné z:
https://bio.libretexts.org/TextMaps/Introductory_and_General_Biology
- [3] Electrode Positioning – The 10-20 System. In: *Adafruit* [online]. New York: Adafruit, 2017 [cit. 2018-11-16]. Dostupné z: <https://blog.adafruit.com/2017/06/19/tdcs-electrode-positioning-the-10-20-system/>
- [4] TROJAN, Stanislav. *Lékařská fyziologie*. Praha: Grada Avicenum, 1994. ISBN 80-7169-036-8.
- [5] Neurologické vyšetření: Vyšetření evokovaných potenciálů. In: *Dětská neurologie* [online]. ČR: Institut biostatistiky a analýz Masarykovy univerzity, 2018 [cit. 2018-10-18]. Dostupné z: <http://telemedicina.med.muni.cz/pdm/detska-neurologie/index.php?pg=neurologicke-vysetreni--vysetreni-evokovanych-potencialu>
- [6] KAŇOVSKÝ, Petr. *Evokované potenciály v klinické praxi*. První. Brno: institut pro další vzdělávání pracovníků ve zdravotnictví v Brně - Vinařská 6, 656 02 Brno, 2000. ISBN 80-7013-306-6.
- [7] Visual evoked potentials standard. *Documenta Ophthalmologica* [online]. Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 2004, 2004, 115-123 [cit. 2018-11-08]. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/8259283_Visual_evoked_potentials_standard_2004
- [8] PAŠTA, Jiří a Pavel ROZSÍVAL. Objektivní určení centrální zrakové ostrosti pomocí zrakových evokovaných potenciálů. In: *Objektivní určení VA pomocí VEP*. Brno: ČOS Brno, 2007, s. 227-233. DOI: ISBN 978-80-87086-01-8. ISBN 978-80-87086-01-8.
- [9] KUBA, Miroslav. *MOTION-ONSET VISUAL EVOKED POTENTIALS AND THEIR DIAGNOSTIC APPLICATIONS*. Hradec Králové, 2008. Disertace. Lékařská fakulta UK v Hradci Králové.
- [10] STEJSKAL, Lubor. *Evokované odpovědi a jejich klinické využití*. Praha: Praha Publishing, 1993.

- [11] ISCEV standard for clinical visual evoked potentials. *Documenta Ophthalmologica* [online]. 2016, 2016, 10 [cit. 2018-11-08]. DOI: 10.1007/s10633-016-9553-y. Dostupné z: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10633-016-9553-y>
- [12] ISCEV standard for clinical visual evoked potentials. In: *Springer link* [online]. Švýcarsko: Springer Nature Switzerland AG. Part of Springer Nature, 2018 [cit. 2018-11-08]. Dostupné z: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10633-016-9553-y>
- [13] ISCEV standard for clinical visual evoked potentials. *ISCEV STANDARDS* [online]. 2009, 2009, 111-119 [cit. 2018-11-09]. DOI: 10.1007/s10633-009-9195-4. Dostupné z: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2Fs10633-009-9195-4.pdf>
- [14] Diopsys VEP. *Diopsys* [online]. New Jersey, 1998 [cit. 2018-12-20]. Dostupné z: <http://diopsys.com/visual-electrophysiology-products/visual-evoked-potential-vep/>
- [15] Visual evoked response: Biopac. *Biopac* [online]. USA, 2016 [cit. 2018-12-20]. Dostupné z: <https://www.biopac.com/application/ers-evoked-response/advanced-feature/visual-evoked-response-ver/>
- [16] Bitalino. *Bitalino* [online]. Lisabon, 2017 [cit. 2018-12-19]. Dostupné z: <http://bitalino.com/en/plugged-kit-bt>

12 Seznam obrázků

Obrázek 1 Akční potenciál buňky	11
Obrázek 2 Systém rozložení elektrod 10/20	12
Obrázek 3 umístění elektrod.	19
Obrázek 4 stimulace pattern-reversal VEP.....	21
Obrázek 5 pattern-reversal VEP [11]	21
Obrázek 6 pattern onset/offset VEP [11].....	22
Obrázek 7 Flash VEP [11].....	23
Obrázek 8 schéma normální registrace kortexu při stimulaci jednoho oka plným polem	24
Obrázek 9 Schéma normální registrace při podráždění kortexu při stimulaci jednoho oka polovinou zorného pole.....	25
Obrázek 10 Vyšetření pomocí Diopsys® VEP.....	28
Obrázek 11 BITalino (r)evolution Board Kit.....	29
Obrázek 12 Raw zaznamenaný signál	30
Obrázek 13 Odpověď při stimulaci levého oka.....	31
Obrázek 14 Odpověď při stimulaci pravého.....	31
Obrázek 15 Snímání EEG bez stimulu.	32
Obrázek 16 Ukázka nastavení Bitalina	33
Obrázek 17 Ukázka signálu luxmetru a EEG	34
Obrázek 18 Celý záznam EEG signálu.....	35
Obrázek 19 Uživatelské zobrazení první třetiny signálu	36
Obrázek 20 Ukázka nepřesného kliknutí uživatelem	36
Obrázek 21 Modře jsou na obrázku jednotlivé vlny a červeně je vyznačen signál kumulovaný.....	37
Obrázek 22 Výsledná kumulace záznamu levého oka pro data1.	38
Obrázek 23 Výsledná kumulace záznamu levého oka pro data4.	39
Obrázek 24 Výsledná kumulace záznamu levého oka pro data7.	39
Obrázek 25 Výsledná kumulace záznamu pravého oka pro data3.	40
Obrázek 26 Výsledná kumulace záznamu pravého oka pro data4.	41
Obrázek 27 Protokol z měření VEP na přístroji RETIport32	43

13 Seznam tabulek

Tabulka 1 Základní typy aktivity EEG [4]	13
Tabulka 2 ISCEV standard VEP [12]	26
Tabulka 3 Hodnocení naměřených dat pro stimulaci levého oka	41
Tabulka 4 Hodnocení naměřených dat pro stimulaci pravého oka	42

14 Přílohy

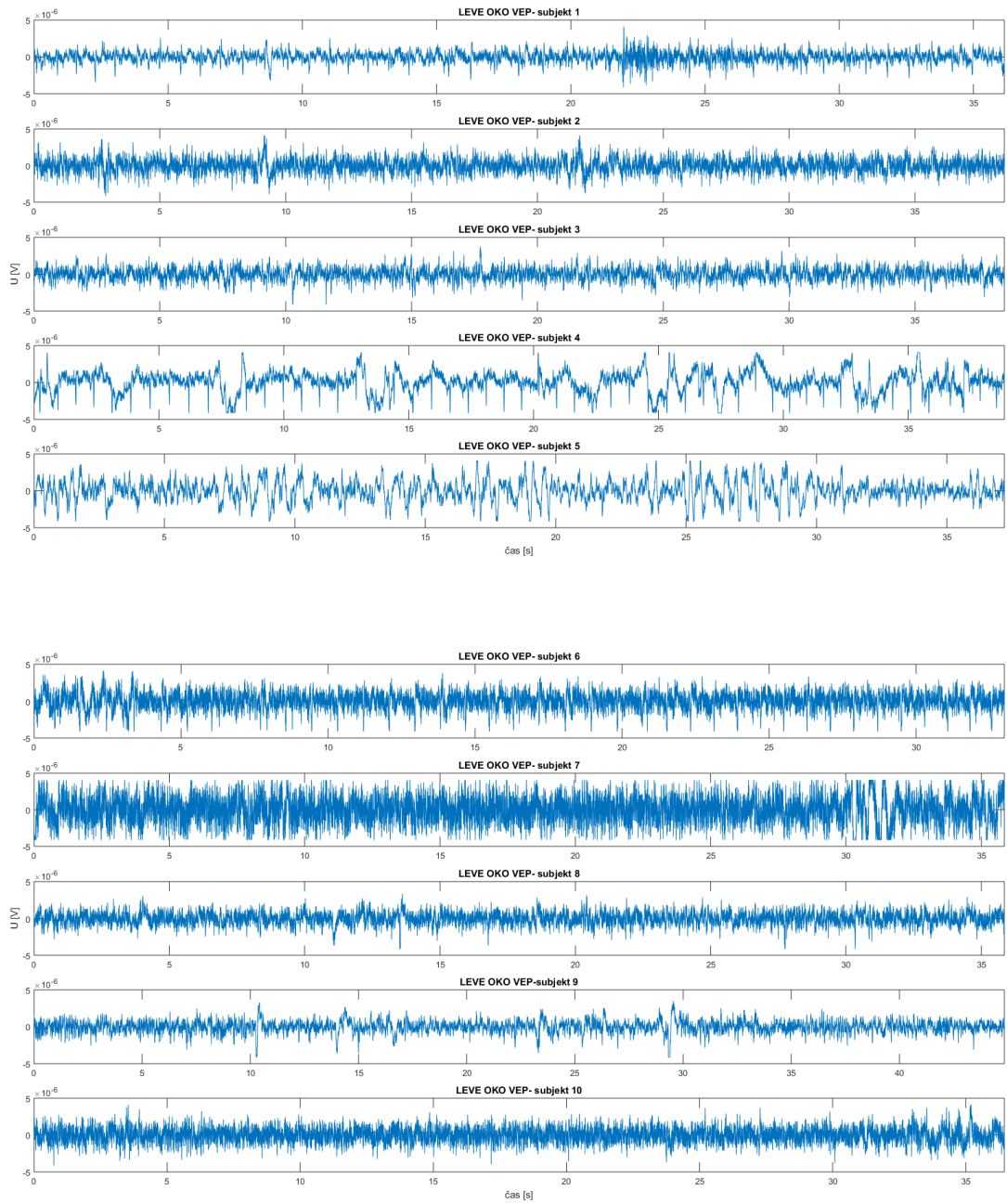
Příloha 1: Naměřené EEG deseti dobrovolníků.

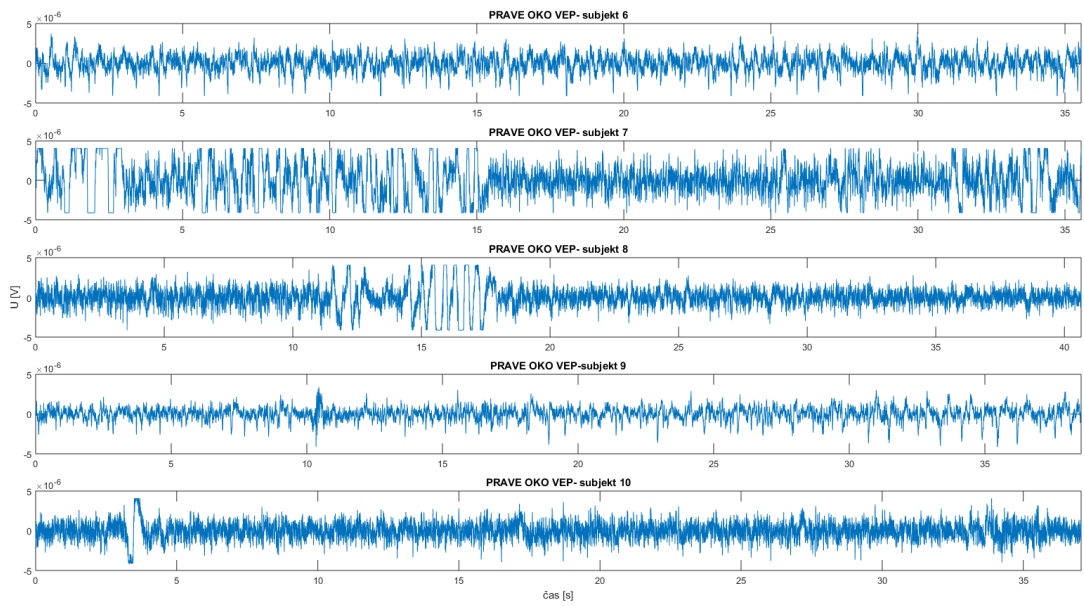
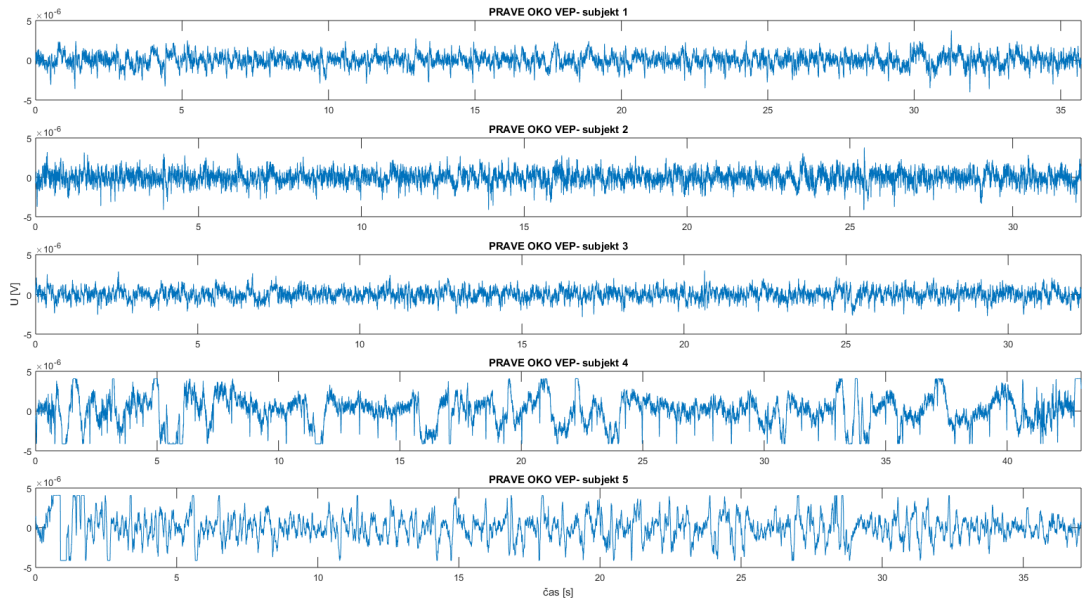
Příloha 2: Výsledné odpovědi na evokovaný podmět všech deseti dobrovolníků.

Příloha 3: Pattern-reversal stimul pro měření vizuálních evokovaných potenciálů

Příloha 4: EEG záznam postížen pravidelnými EKG artefakty

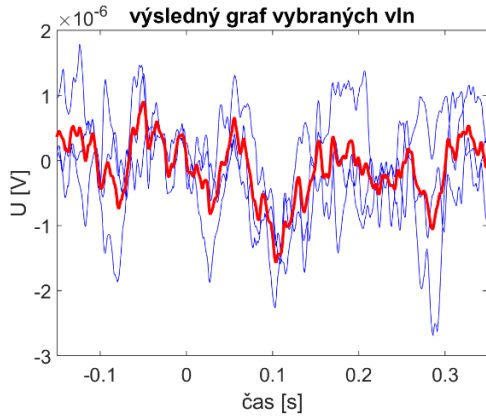
Příloha 1: Naměřené EEG deseti dobrovolníků.





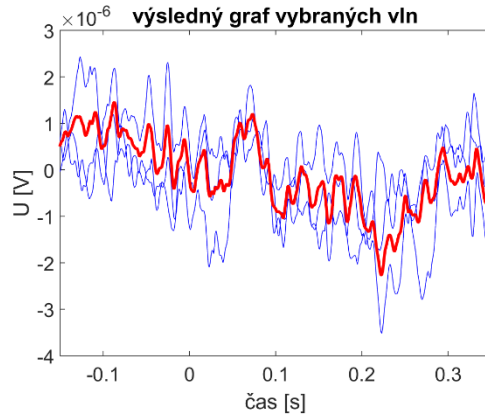
Příloha 2 Výsledné odpovědi na evokovaný podmět všech deseti dobrovolníků.

Levé oko

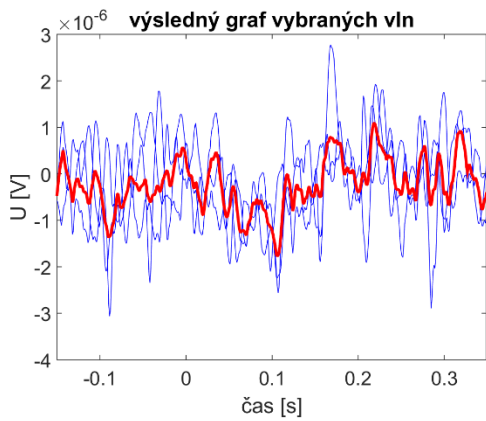


Obrázek 28 data1 levé oko

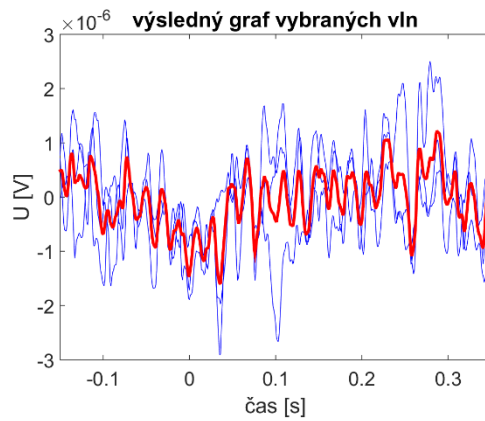
Pravé oko



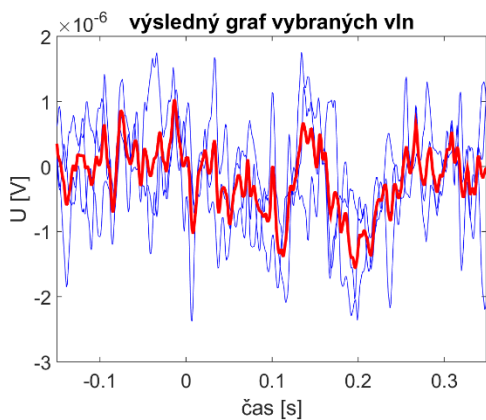
Obrázek 29 data1 pravé oko



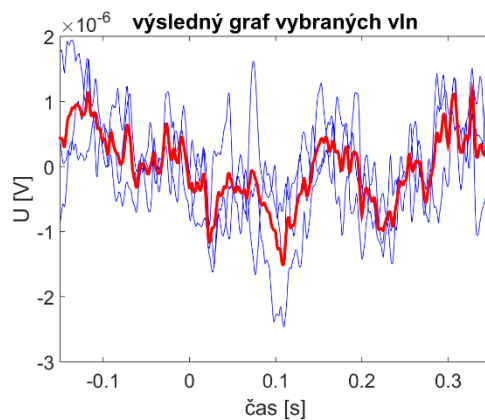
Obrázek 30 data2 levé oko



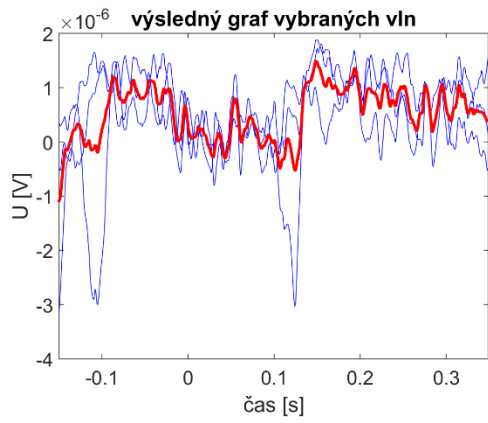
Obrázek 31 data2 pravé oko



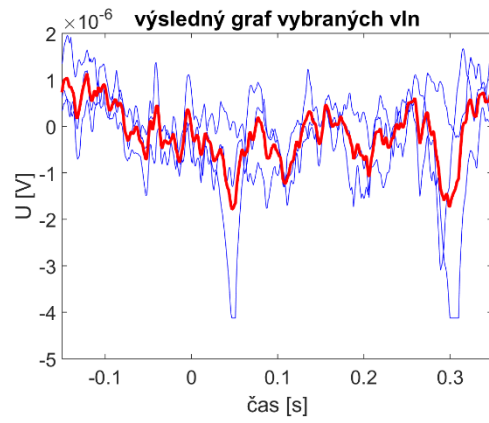
Obrázek 32 data3 levé oko



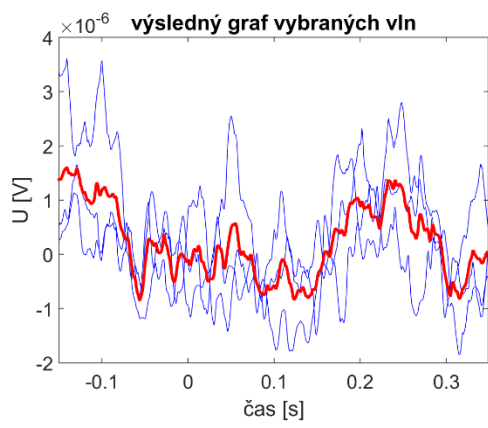
Obrázek 33 data3 pravé oko



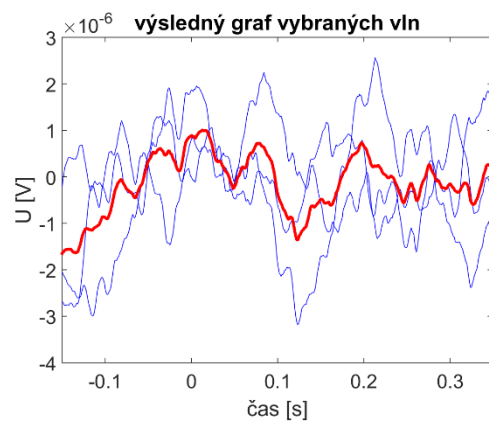
Obrázek 34 data4 levé oko



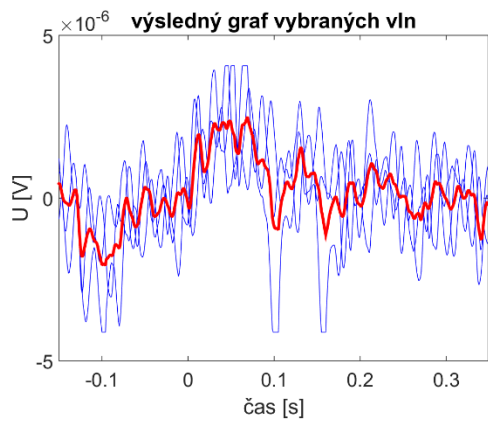
Obrázek 35 data4 pravé oko



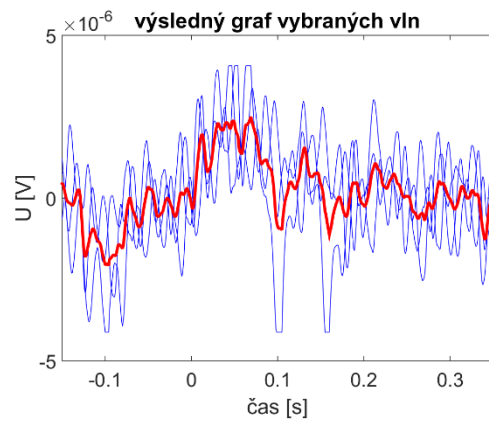
Obrázek 36 data5 levé oko



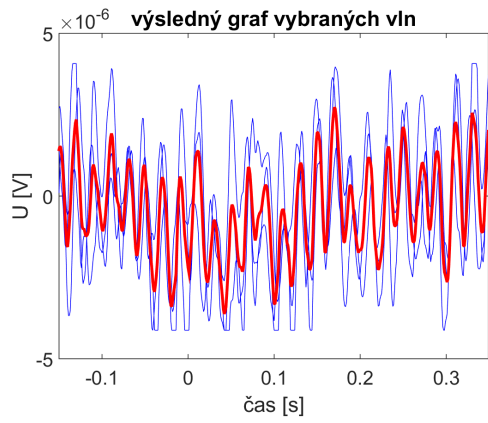
Obrázek 37 data5 pravé oko



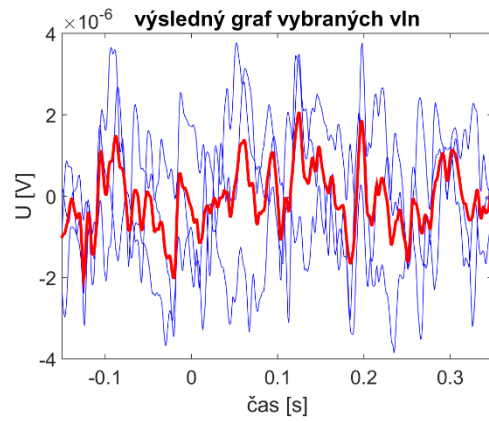
Obrázek 38 data6 levé oko



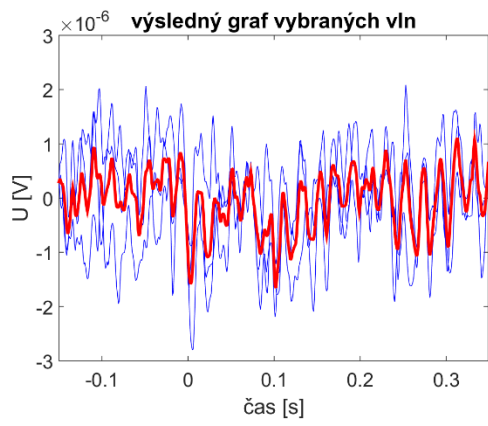
Obrázek 39 data6 pravé oko



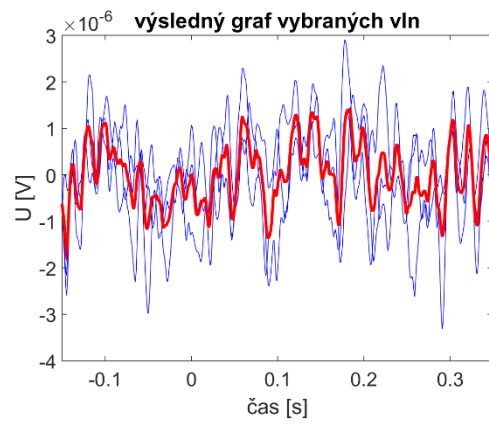
Obrázek 40 data7 levé oko



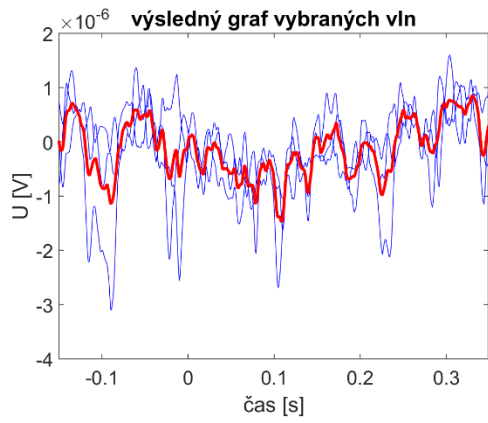
Obrázek 41 data7 pravé oko



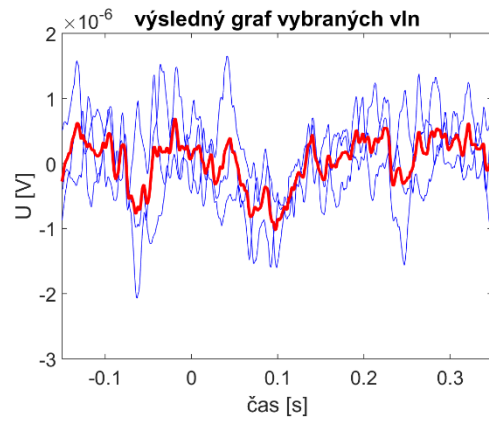
Obrázek 42 data8 levé oko



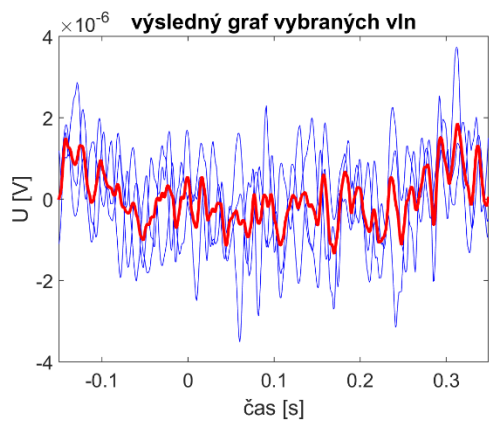
Obrázek 43 data8 pravé oko



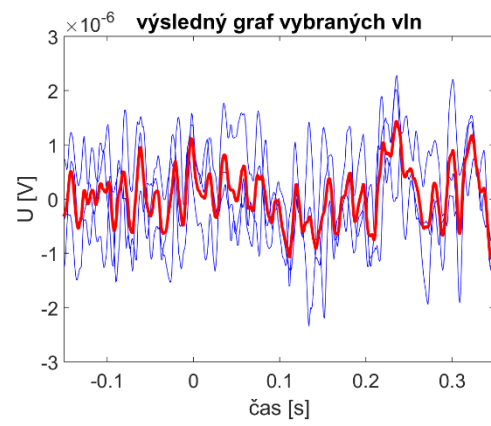
Obrázek 44 data9 levé oko



Obrázek 45 data9 pravé oko

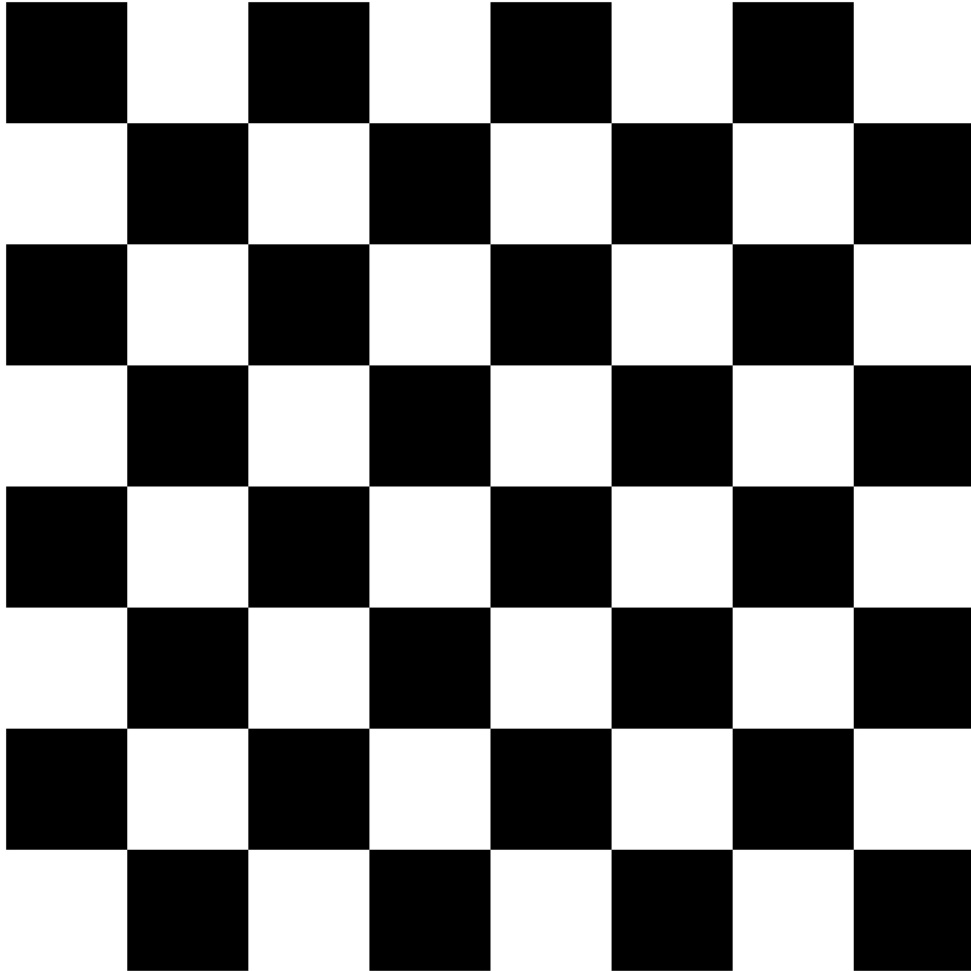


Obrázek 46 data10 levé oko



Obrázek 47 data10 pravé oko

Příloha 3 Pattern-reversal stimul pro měření vizuálních evokovaných potenciálů



Příloha 4 EEG záznam postížen pravidelnými EKG artefakty

