

TESIS DE LICENCIATURA



# Análisis de series de tiempo de la actividad neuronal

por

Patricio Yankilevich

*Departamento de Computación – Facultad de Cs. Exactas y Naturales  
Universidad de Buenos Aires*

Directora: Dra. Susana Blanco

*Instituto de Cálculo – Facultad de Cs. Exactas y Naturales  
Universidad de Buenos Aires*

Co-director: Dr. Pablo Jacovkis

*Departamento de Computación – Facultad de Cs. Exactas y Naturales  
Universidad de Buenos Aires*

Enero 2002, Buenos Aires - Argentina

# Agradecimientos

A los profesores Mario Gustavo Murer y Luis Riquelme del Laboratorio de Neurofisiología del Departamento de Fisiología y Biofísica de la Facultad de Medicina de la Universidad de Buenos Aires, por compartir su tiempo y conocimientos, facilitando enormemente la tarea.

A la profesora Susana Blanco del Instituto de Cálculo de nuestra facultad, mi directora, cuyos conocimientos fueron claves para poder guiarme en la realización de este trabajo interdisciplinario.

Por último, al profesor Pablo Jacovkis, mi co-director, quien supo interpretar mis inquietudes, permitiéndome escapar por los caminos de la investigación científica.

Algunos neurobiólogos se dedican a pensar sobre qué es realmente el pensamiento. Entre ellos existe la idea de que los pensamientos no residen en lugares concretos del cerebro, sino que son pautas cambiantes de actividad superficial, unidades que reclutan a las unidades vecinas en poblaciones que se convierten en un mismo pensamiento, y compiten de manera darwiniana con poblaciones rivales de pensamientos alternativos. Estas pautas cambiantes no son visibles, pero tengo la impresión de que si las neuronas se iluminaran al activarse, la corteza cerebral estaría de alguna manera adornada de patrones.

— Richard Dawkins, “*Destejiendo el arco iris*” (1998)

Para Juliana

# Contenidos

<b>Resumen</b>	<b>6</b>
<b>Abstract</b>	<b>7</b>
<b>Introducción</b>	<b>8</b>
<b>1 Sobre la actividad neuroeléctrica y la enfermedad de Parkinson</b>	<b>10</b>
Estructura de la neurona .....	10
Características del impulso nervioso .....	12
Respuesta periódica .....	13
Enfermedad de Parkinson .....	14
<b>2 Series de tiempo neuronales</b>	<b>16</b>
Muestreo y estacionamiento de los datos .....	17
Construcción de las series de tiempo neuronales .....	17
<b>3 Inspección visual de los datos</b>	<b>21</b>
Gráfico de producción de espigas en función del tiempo .....	21
Histograma .....	23
Autocorrelograma .....	25
Correlograma cruzado .....	29
<b>4 Reconstrucción del atractor neuronal en el espacio de las fases</b>	<b>32</b>
Encontrando los parámetros de embedding .....	34
Tiempo de retardo .....	34
Dimensión del espacio de reconstrucción .....	37
Resultados la reconstrucción del atractor neuronal en el espacio de las fases .....	40
<b>5 Correlación entre los eventos, Diagramas de variabilidad</b>	<b>42</b>
Análisis del efecto de las drogas sobre la dinámica funcional .....	46
<b>6 Detección de sincronismo y análisis de actividad neuronal en roedores con Parkinson inducido</b>	<b>48</b>
Gráficos de descarga en tiempo real y de descarga comparado .....	51
<b>7 Programa JAVA y otras aplicaciones de la herramienta</b>	<b>53</b>
Instalación .....	54
Interfase de la herramienta .....	55
Utilización de la herramienta en otras áreas de la ciencia .....	56
<b>8 Conclusiones</b>	<b>58</b>
<b>Apéndices</b>	<b>62</b>
A. Modelo experimental de Parkinson .....	61
B. Interpretación de registros .....	64
C. Listado de programas .....	68
<b>Bibliografía</b>	<b>71</b>

# Resumen

En este trabajo interdisciplinario se resuelven computacionalmente problemas planteados por investigadores del Laboratorio de Neurofisiología del Departamento de Fisiología y Biofísica de la Facultad de Medicina de la Universidad de Buenos Aires, sobre la dificultad para detectar sincronismo entre neuronas afectadas por el mal de Parkinson. La herramienta computacional obtenida es capaz de resolver este problema, permitiendo realizar un análisis cuantitativo y cualitativo de la dinámica neuronal, además de análisis específicos de sincronización y correlación lineal y no lineal en señales de actividad neuronal.

Las señales analizadas fueron registros extracelulares de unidades neuronales aisladas (similares al electroencefalograma, pero de una única neurona) y se las estudió con distintos métodos y técnicas, correspondientes al análisis de series de tiempo no lineales. Con esta herramienta se puede obtener una mejor visión del conjunto de datos, revelando patrones subyacentes en la estructura de disparo de las neuronas. Asimismo se puede extraer información de las variables más importantes del sistema, se detectan anomalías o características inusuales en la señal estudiada, pero sobre todo la herramienta está orientada a la detección de sincronismo y comparación de registros de pares de neuronas que han sido tomados simultáneamente. El estudio es efectuado sobre ratas de laboratorio con Parkinson inducido. El programa implementado reconstruye el atractor correspondiente a la dinámica de la neurona en un espacio de fases restringido, genera gráficos comparados de autocorrelación, correlación cruzada, histogramas, gráficos de espigas, gráficos de espigas en tiempo real y gráficos de espigas dinámicos comparados. Además, como innovador, se presentan los diagramas de variabilidad que son un método gráfico para representar la correlación local existente entre los valores sucesivos de una serie de tiempo. Este método será de utilidad al momento de estudiar el efecto de distintas drogas sobre la actividad neuronal.

Durante el ciclo de desarrollo de la herramienta se fue interactuando con los expertos en el área, de manera de cumplir con todos los requerimientos. La implementación de la misma se realizó en Java logrando así compatibilidad tanto en ambientes Windows como Unix.

# Abstract

In this interdisciplinary work we suggest a computational answer to the problems raised from the scientists at the Neurophysiology Laboratory in the Department of Physiology and Biophysics at the Medical College from the Buenos Aires University, about the difficulty to detect synchronism between neurons affected by Parkinson's disease. The obtained computational tool is able to solve this problem, allowing to make a qualitative and quantitative assessment of neuronal dynamics, in addition to the specific analysis of synchronization and lineal and nonlinear correlations of neural activity signals.

The signals were extracellular single neural unit recordings (similar to an electroencephalogram, but from a single neuron) and were studied with different methods and techniques, corresponding to the nonlinear time series analysis. With this tool, we can enhance our vision of the data set, revealing underlying activity patterns in the firing structure of the neurons. Information of the most important variables of the system can be extracted, or detect unusual anomalies or characteristics in the signal, but mainly the tool is oriented to the detection of synchronism and comparison of pairs recordings of neurons that were taken simultaneously. The study is performed on animal models that are induced to get Parkinson's disease. The program here presented reconstructs the corresponding attractor to the neuron dynamics in a restricted phase space; creating autocorrelation diagrams, crossed correlation diagrams, histograms, interspikes intervals graphs, interspikes intervals graphs in real time and dynamic graphs of compared interspikes intervals are also performed. In addition, and innovating, we present the variability diagrams, that are a graphical method to represent the existing local correlation among the successive values of a time series. This method will be of utility at the time of studying the different effects of drugs on the neuronal activity.

Along the development cycle of the tool we interacted with the experts in the area, fulfilling all the requirements. The program was implemented in Java, thus obtaining compatibility on Windows and Unix.

# Introducción

El reconocimiento de que muchos fenómenos biológicos pueden ser entendidos como el resultado de la acción de cierto número de subsistemas no lineales ha sido uno de los resultados más interesantes de los últimos años de la teoría no lineal o, como comúnmente es llamada, teoría del caos.

La conexión más directa entre la teoría del caos y el mundo real es el análisis en términos de dinámica no lineal de series de tiempo que han sido tomadas de sistemas reales de diversas áreas de las ciencias, tales como medicina, física, química, biología, geofísica, etc., como así también en las ciencias sociales y la economía. El caos y diferentes aspectos de la teoría de la dinámica no lineal se ha aplicado extensamente a sistemas biológicos como los ecosistemas, problemas de hemodinámica (estudio de los movimientos de presiones de circulación sanguínea), computación neuronal, etc. El análisis provisto por la teoría de sistemas dinámicos no lineales constituye una poderosa herramienta para la caracterización de estos sistemas e implica forzosamente la interacción multidisciplinaria.

El objetivo original de este trabajo fue desarrollar una herramienta computacional para los investigadores del Laboratorio de Neurofisiología del Departamento de Fisiología y Biofísica de la Facultad de Medicina de la Universidad de Buenos Aires. Esta es una herramienta de análisis de series de tiempo de sistemas neuronales, que está orientada a la investigación de la dinámica neuronal y más específicamente a la detección de sincronismo entre neuronas, hecho que concierne al estudio de la enfermedad de Parkinson.

Los sistemas neuronales aquí estudiados son sistemas dinámicos que evolucionan en el tiempo y que tienen un comportamiento no lineal. Usualmente, al analizar estos sistemas, sólo se cuenta con un conjunto de mediciones de una única variable del sistema, realizadas en el tiempo. Este conjunto de datos es llamado serie de tiempo.

La herramienta generada no sólo está limitada al análisis de series de tiempo neuronales, sino que ha sido flexibilizada para poder procesar cualquier señal obtenida de algún sistema dinámico.

La estructura de este trabajo de análisis se describe a continuación:

Para comenzar, en el Capítulo 1 se realiza una breve introducción a los temas de la actividad neuroeléctrica del sistema nervioso y a la enfermedad de Parkinson. En el Capítulo 2 se explica el proceso a través del cual se adquieren los registros de datos del sistema neuronal y cómo se conforman las series de tiempo neuronales que utilizaremos en nuestro análisis. Luego, en el Capítulo 3, se describen algunos de los métodos gráficos de inspección visual de los datos que han sido implementados en la herramienta, que se los considera fundamentales, para la realización de un estudio serio de la actividad neuronal.

El proceso de reconstrucción del atractor neuronal en el espacio de las fases y los resultados están expuestos en el Capítulo 4. Avanzando en la tarea de reconstrucción de la dinámica del sistema, hemos incluido en la herramienta la implementación de un método gráfico llamado diagrama de variabilidad, que permite estudiar la correlación existente en un conjunto de datos en función de retardos progresivos; este método se ha utilizado con éxito en el área de la cardiología y aún no había sido aplicado sobre series de tiempo neuronales. Los fundamentos teóricos del mismo están explicados en el Capítulo 5.

La detección de sincronismo entre neuronas resulta fundamental para el estudio de la enfermedad de Parkinson; por este motivo, la herramienta dispone de métodos dinámicos para realizar un estudio comparado en el tiempo de la actividad de pares de neuronas. A través de ellos fue posible descubrir un tipo de sincronismo en un área específica del cerebro, que hasta la fecha no había sido identificado. En el Capítulo 6 se describen los resultados obtenidos en este aspecto.

Las especificaciones sobre la construcción e instalación de la herramienta, así como otras posibles aplicaciones que se le pueden dar como analizador de series de tiempo, están descriptas en el Capítulo 7. Finalmente, en el Capítulo 8, se hace un resumen de los logros del trabajo y se presenta una conclusión final.

## Capítulo 1.

# Sobre la actividad neuroeléctrica y la enfermedad de Parkinson

Si consideramos el sistema nervioso y el cerebro como una gran ciudad, diríamos que las ramas de estudio de la filosofía, la biología evolutiva, la psicología y la medicina, han logrado obtener algunas fotografías aéreas que muestran los contornos, las vías de tránsito que la atraviesan y ciertos patrones de actividad. Paralelamente, otras ramas de estudio como la biofísica, la genética y la neurociencia han comenzado a detectar y entender el funcionamiento de los semáforos, el cableado y cómo se comportan los miles de millones de diminutos puntos aparentemente idénticos, sus habitantes las neuronas. Nuestro trabajo trata de hacer un aporte en este área, creando una herramienta que permita estudiar, comparar y clasificar a estos habitantes, demostrando que no son tan idénticos en lo que a su actividad respecta.

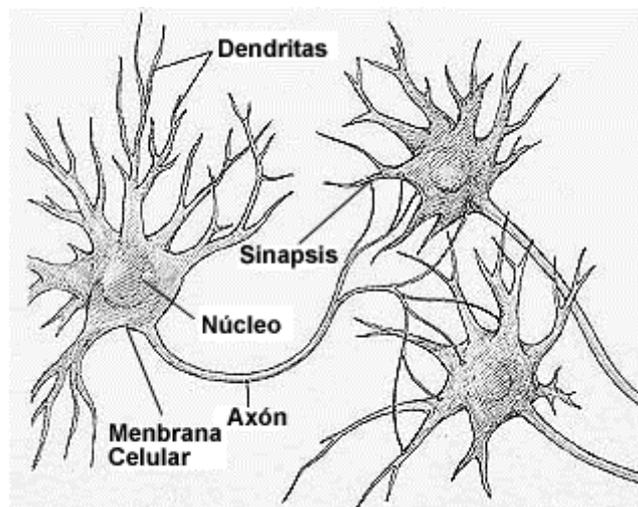
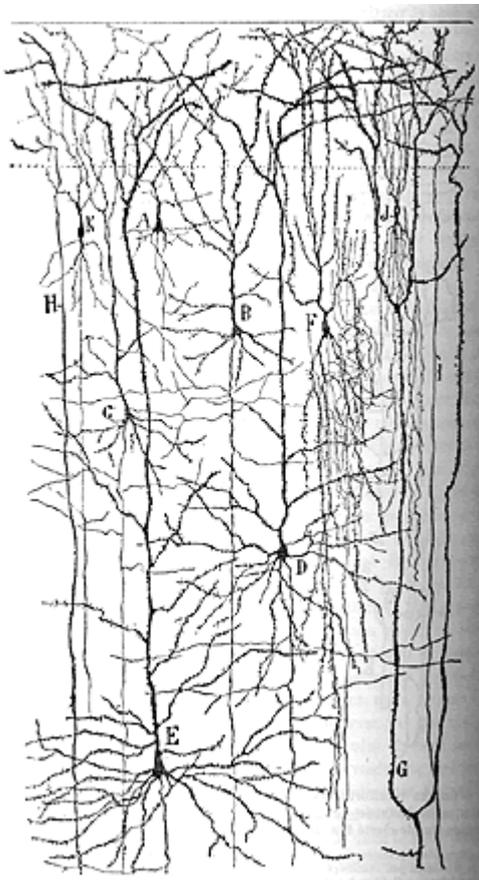
Podemos decir que actualmente se ha llegado a conocer en profundidad el comportamiento fisiológico e individual de estos habitantes. Sin embargo, aún se desconocen las diversas actividades y patrones de interacción, que generan finalmente el movimiento y la actividad de esa gran ciudad, que es el sistema nervioso.

## Estructura de la neurona

El cerebro humano tiene en el orden de  $10^{11}$  células nerviosas, o neuronas; aproximadamente el mismo número de estrellas que contiene nuestra galaxia. Aunque no existen dos neuronas idénticas, éstas suelen categorizarse según su forma y sus características comunes, que determinan una morfología típica. Se distinguen tres partes principales: el cuerpo de la neurona o soma, las dendritas y el axón. Usualmente, el soma tiene una forma esférica o piramidal; allí se encuentra el núcleo de la célula y es donde ocurren los mecanismos bioquímicos sintetizadores de enzimas y los demás procesos esenciales para la vida de la célula. Las dendritas son los delgados brazos que se ramifican profusamente, formando una red que rodea la célula. Constituyen los canales físicos principales por los cuales la neurona puede recibir señales provenientes de otras células. El axón es una

larga fibra cuya longitud puede variar entre milímetros y metros y cuyo diámetro tiene típicamente entre 1 y 20 micras (una micra es igual a 0.0001 cm). Este es el camino por el cual viajan las señales que la neurona envía a otras partes del sistema nervioso. La mayoría de los axones son más largos y delgados que las dendritas, y exhiben otra clase de patrones de arborización: las ramas de las dendritas tienden a acumularse cerca del cuerpo celular, mientras que los axones suelen ramificarse en la parte más alejada del soma, donde se conectan con otras células.

Una neurona puede interactuar con otra, en puntos llamados sinapsis, en los que las células hacen contacto funcional. Una sola célula suele tener un gran número de estas conexiones, de miles a decenas de miles, recibiendo información de unas 1000 células diferentes. Si bien lo más común es que las sinapsis se hagan entre axón y dendrita, pueden hacerse también de axón a axón o de dendrita a dendrita. En las sinapsis las neuronas no se tocan físicamente, sino que dejan un pequeño espacio, llamado espacio intersináptico. La información es transmitida a lo largo de los axones en forma de pulsos eléctricos. Cuando la señal llega a una sinapsis se liberan los agentes químicos, llamados neurotransmisores, que se difunden a través del espacio intersináptico. El ‘disparo’, es decir, la producción del impulso nervioso, depende de la actividad simultánea de cientos de sinapsis en la neurona receptora.



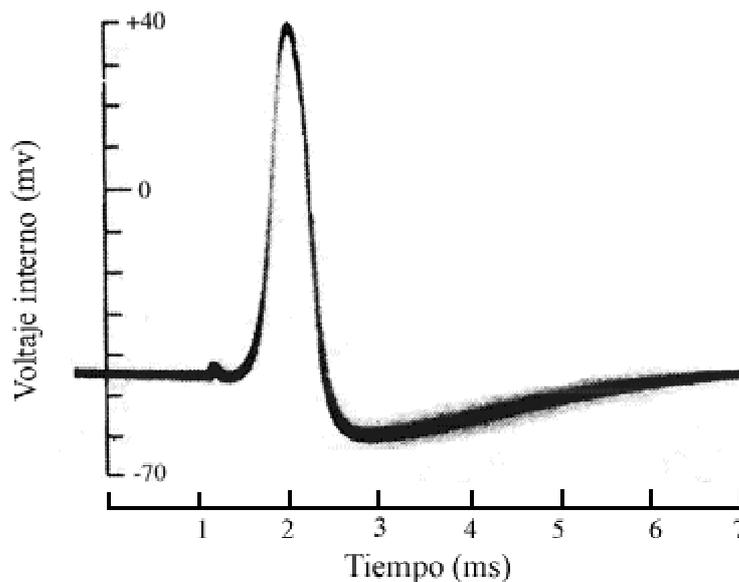
**Figura 1** Tejido nervioso de las capas superficiales de la corteza frontal de un humano, teñido con la técnica de Golgi (izq.). El dibujo fue realizado alrededor de 1888 por el científico español Santiago Ramón y Cajal, precursor en el estudio de la neurona como una unidad discreta y no como parte de un tejido continuo. Se observan identificados los principales tipos de célula presentes en la corteza cerebral. Encima se aprecia el esquema de una neurona.

Algunas sinapsis son excitatorias, promueven que se dispare un impulso; otras son inhibitorias, cancelan las señales que de otra manera excitarían a la célula. La herramienta desarrollada en este trabajo, fue reveladora con respecto a la detección de un tipo de sincronismo inhibitorio, en el que no se había reparado, contrastando pares de neuronas. Este tema será tratado en el capítulo 6.

## Características del impulso nervioso

El fundamento físico-químico del impulso nervioso se basa en las diferencias de concentración de sodio y potasio a ambos lados de la membrana celular (externo e interno). Esta situación crea una diferencia de potencial del orden de los milivolts (mv); el potencial exterior es el que se conoce como potencial de reposo. El paso de un impulso nervioso se manifiesta como un pico de voltaje que bruscamente crece y decrece, recuperando después, más lentamente, el nivel original. El proceso dura de 1 a 2 milisegundos (ms).

El impulso nervioso o potencial de acción, como también se lo denomina, se desarrolla como respuesta a una estimulación eléctrica de cierta magnitud mínima, llamada umbral. Esta produce cambios dramáticos en la permeabilidad de la membrana celular a los iones de sodio y potasio. Esta señal nerviosa es una onda de depolarización que se propaga a lo largo de la fibra nerviosa, como una ola que recorre un canal.



**Figura 2** Uno de los primeros registros de potenciales de acción fue realizado por Hodgkin y Huxley sobre el axón gigante del calamar, en el año 1939.

El impulso suele originarse en respuesta a la actividad de las sinapsis dendríticas. Al iniciarse, el voltaje a través de la membrana del axón aumenta localmente (en la base del axón). Esta desviación del potencial en reposo en una región afecta los canales de sodio, que responden abriéndose y dejando pasar sodio al interior de la célula. La penetración de iones positivos elevan aún más el voltaje, de manera que éste también se altera en la región contigua, en la dirección de propagación. El proceso se autoinduce: el flujo de sodio en un punto aumenta el voltaje y esto provoca que penetre más sodio a la región vecina. Es así como la señal se propaga a lo largo del axón. Los canales de sodio no permanecen mucho tiempo abiertos, se cierran y casi simultáneamente se abren los canales que dejan escapar potasio. Este contraflujo violento afecta el sistema bajando el voltaje, después de lo cual, lentamente, recupera el valor original de dicha zona.

El potencial de acción es un mecanismo eficiente en términos de transmisión de información; éste no permite que la señal se deforme o se amortigüe, ya que viaja con amplitud y forma fija. Por otro lado, el tamaño de la señal ( $\sim 130\text{mv}$ ), suprime los efectos del ruido, presente en forma de pequeñas fluctuaciones de los voltajes. Todos los registros de señal utilizados en este trabajo fueron filtrados tomando sólo los estímulos por encima de un umbral de voltaje escogido, teniendo en cuenta la naturaleza de la señal (ver Capítulo 2).

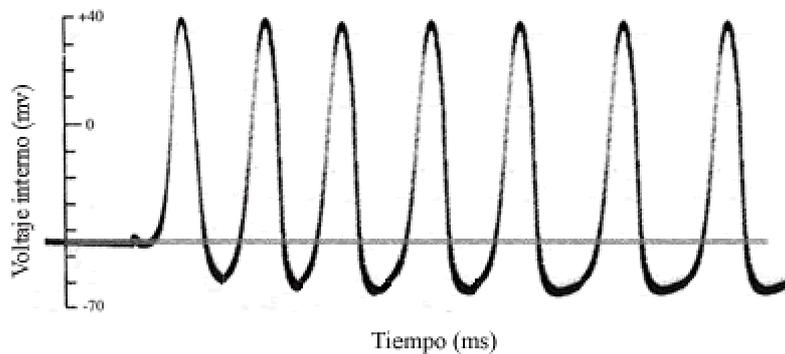
## **Respuesta periódica**

Las neuronas son capaces de generar potenciales de acción con frecuencias muy diversas, desde menos de uno hasta varios cientos por segundo. Esto es muy relevante porque todos los impulsos tienen la misma amplitud y, por lo tanto, gran parte de la información que transmite una neurona está representada por el número de señales por segundo que produce. Esta codificación por frecuencias implica que, por lo menos en algunos casos, un estímulo de mayor intensidad es traducido en una mayor frecuencia de disparo.

Esponáneamente (marcapasos neuronal), o en respuesta a una corriente constante aplicada, las células nerviosas pueden responder con un tren de potenciales de acción o salva, que se repite periódicamente. Se observa experimentalmente que la respuesta es una función creciente de la intensidad del estímulo aplicado. La neurona actúa como un transductor,

convirtiendo la señal continua de corriente en una señal oscilatoria (codificación en frecuencia).

La herramienta que hemos desarrollado en este trabajo nos permite visualizar y estudiar los distintos tipos de respuesta y clasificarlos según la frecuencia de los potenciales de acción, descargados por las distintas neuronas. También intentaremos encontrar patrones de estas frecuencias y compararlas con las frecuencias de otras neuronas para ver si están sincronizadas. Sobre estos temas trabajaremos más profundamente en los próximos capítulos.



**Figura 3** Descarga en salva de potenciales de acción.

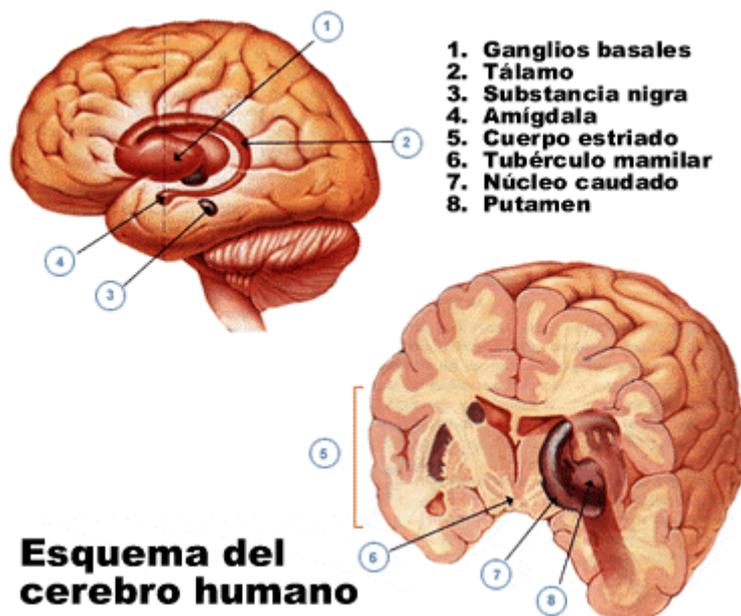
## Enfermedad de Parkinson

Es un hecho comúnmente aceptado que el sistema nervioso central del hombre y de los animales sufre a lo largo de la vida un deterioro progresivo de las neuronas y pérdida de las mismas. Por otra parte, es conocido también que en las enfermedades de Parkinson y Alzheimer esta pérdida está incrementada y que afecta algunas áreas específicas.

La enfermedad de Parkinson es una afección neurológica cosmopolita cuya prevalencia aumenta con la edad. Se estima que 1 de cada 100 personas de mayores de 65 años la sufren. Si bien se han descrito recientemente mutaciones capaces de causarla, la etiología de los casos esporádicos, que representan más del 97% del total, es desconocida [Loz/98]. Tanto en los casos esporádicos como familiares, la aparición de los signos clínicos clásicos (hipoquinesia, temblor de reposo, rigidez, alteraciones de la marcha y la postura) sigue a la degeneración progresiva de las neuronas

dopaminérgicas\* de la sustancia negra pars compacta (**SNpc**) y la caída de los niveles estriatales de dopamina (DA) [Car/57; Hor/66; Loz/98].

De acuerdo con los modelos fisiopatológicos actuales, la pérdida de las neuronas dopaminérgicas y la subsiguiente caída del contenido estriatal de DA llevan a un estado de hiperactividad de los ‘núcleos de salida’ de los ganglios de la base y determinan los signos clínicos típicos de la enfermedad [Wic/96]. Los núcleos basales o ganglios basales son complejos nucleares subcorticales que tienen un rol importante en la coordinación e integración de la actividad motora. Estos núcleos, en conjunto con el cerebelo, reciben información desde la corteza cerebral; luego de integrarla y procesarla, la envían al tálamo que la trasmite de vuelta a áreas específicas de la corteza cerebral para así influir en el control motor.



**Figura 4** Esquema del cerebro humano donde están identificados los Ganglios de la base, el Tálamo, el Cuerpo estriado y la Substancia nigra, algunas áreas afectadas en su funcionamiento por la enfermedad de Parkinson.

Para una mejor comprensión de la afección causada por esta enfermedad se ha incluido, en el Apéndice A, una descripción detallada del modelo Parkinsoniano y un esquema fisiopatológico donde se aprecia el deterioro causado.

---

\* Nota: En el final del Apéndice A se encuentra un glosario de términos médicos con algunas definiciones de los términos empleados en este trabajo.

## Capítulo 2.

# Series de tiempo neuronales

Un sistema dinámico consiste en un conjunto de posibles estados, junto con un conjunto de reglas que determinan el estado presente o futuro en término de los estados pasados. Los sistemas dinámicos pueden ser expresados tanto en tiempo continuo como en tiempo discreto. Un aspecto importante al describir el comportamiento dinámico del sistema es el concepto de atractor, también conocido como gráfico en el espacio de las fases. Los atractores son útiles en cuanto nos permiten ver en su totalidad las características del comportamiento del sistema y constituyen una herramienta esencial para visualizar la dinámica. Aunque la visualización está restringida a dos o tres dimensiones, en teoría se utilizan atractores de dimensiones mayores (estos temas serán tratados en el Capítulo 4). Un sistema dinámico puede estar representado por la medición de alguna de sus variables, lo que constituirá una serie de tiempo de rol representativo.

Existen distintos métodos mediante los cuales se puede procesar y analizar las mediciones obtenidas de la señal. Trabajar en el marco del caos determinístico constituye un nuevo acercamiento para el análisis de series de tiempo irregulares, que tradicionalmente habían sido modeladas por procesos lineales estocásticos. Se entiende por caos determinístico la fuerte variación en respuesta de un sistema regido por ecuaciones diferenciales no lineales ante pequeñas variaciones de las condiciones iniciales.

Realizar un análisis de series de tiempo no lineales de datos experimentales es una manera de estudiar la naturaleza determinística o aleatoria de la dinámica subyacente del sistema. Los métodos de estudio clásicos, como evaluar distintas dimensiones topológicas, calcular los exponentes de Lyapunov o la entropía, requieren mediciones de datos largas, estacionarias y de alta calidad, las cuales son muy difíciles de obtener. Además estas técnicas son computacionalmente costosas y no poseen el grado de exactitud necesario y en algunos casos es necesario evaluar algunas propiedades particulares y locales al sistema en estudio. La definición matemática para proceso estacionario es la siguiente: Un proceso  $X(t)$  es estacionario si la distribución de  $X(t)$  es independiente de  $t$ , la distribución conjunta de  $X(t_1+\tau)$  y  $X(t_2+\tau)$  es independiente de  $\tau$ , y lo mismo ocurre – para todo  $k$ – con las distribuciones conjuntas de  $X(t_1+\tau) \dots X(t_k+\tau)$ .

## **Muestreo y estacionamiento de los datos**

En general, las mediciones científicas de todo tipo sólo son útiles si son reproducibles, al menos en principio. Sólo entonces podemos decir que los valores obtenidos de la medición, corresponden a las propiedades del sistema en estudio, con algún grado de error.

Las señales no estacionarias son muy comunes, en particular cuando se estudian fenómenos naturales. El estudio de éstas es de gran importancia, tomando en consideración que las predicciones que se hagan estarán basadas en el resultado que arroje el estudio de las mismas.

En este trabajo, la serie de tiempo es utilizada como un tipo especial de medición, la cual es producida (o reproducida) para mejorar nuestro conocimiento sobre ciertos fenómenos. En todos los métodos y resultados obtenidos a partir de las series de tiempo se asumen las siguientes condiciones: Los parámetros del sistema se mantienen constantes y el fenómeno es muestreado a intervalos apropiados. Debido a que en general los datos que se emplean no cumplen estrictamente estos requerimientos, se debe tener mucho cuidado con la validez de los métodos a utilizar ya que de otra forma nos pueden llevar a conclusiones erróneas.

Muchas técnicas y programas que se enuncian como “análisis de series de tiempo estacionarias” tienen un alcance mucho más limitado de lo que se pretende. Esto es inevitable, pues la estacionariedad matemática es un concepto demasiado general como para que una sola técnica pueda valer en todos los casos [Man/97].

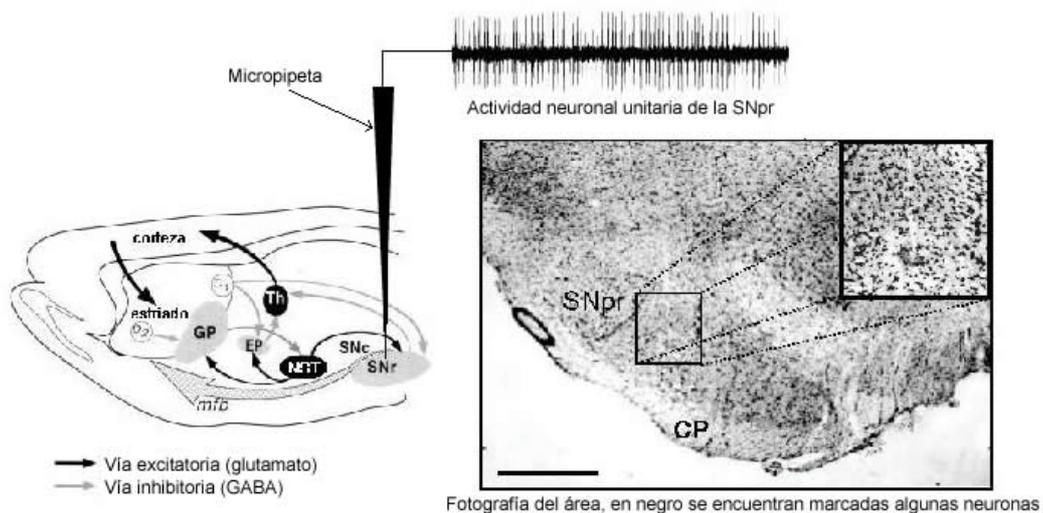
Todos los registros utilizados en este trabajo son segmentos estacionarios de señal que han sido seleccionados por inspección visual sobre los datos crudos de la señal original. Además, se realizó un test de estacionalidad sobre algunas de las señales, de manera de asegurarse que se esté cumpliendo con este requisito [Bla/95].

## **Construcción de las series de tiempo neuronales**

El proceso de disparo de neuronas en el sistema nervioso es uno de los procesos más comunes que se encuentran en la naturaleza, donde se crea el tipo de señales de espigas y se las llama proceso de integración y disparo. Una unidad no lineal acumula información entrante y, cuando este valor

alcanza cierto umbral, la unidad ‘descarga’ mediante la emisión de un potencial de acción que es reflejado como una espiga en el registro de la señal.

En este trabajo utilizamos series de disparos neuronales, obtenidos a través de un proceso de medición, con una frecuencia de muestreo de 12500 Hz de la actividad neuronal llamado **registro extracelular de unidades aisladas** (single unit recordings). Este registro es muy similar a un electroencefalograma (EEG). El mismo se realiza insertando un electrodo (micropipeta de vidrio) de alta impedancia, próximo a la neurona que deseamos estudiar. Todos los registros analizados en este trabajo son de tipo extracelular, es decir que el electrodo se posiciona fuera de la neurona sin hacer contacto con ésta, y fueron obtenidos en la SNpr (Substancia Negra pars reticulada). La SNpr es el área del cerebro donde se estudian los efectos causados por la enfermedad del Parkinson, como se describió en el capítulo anterior.

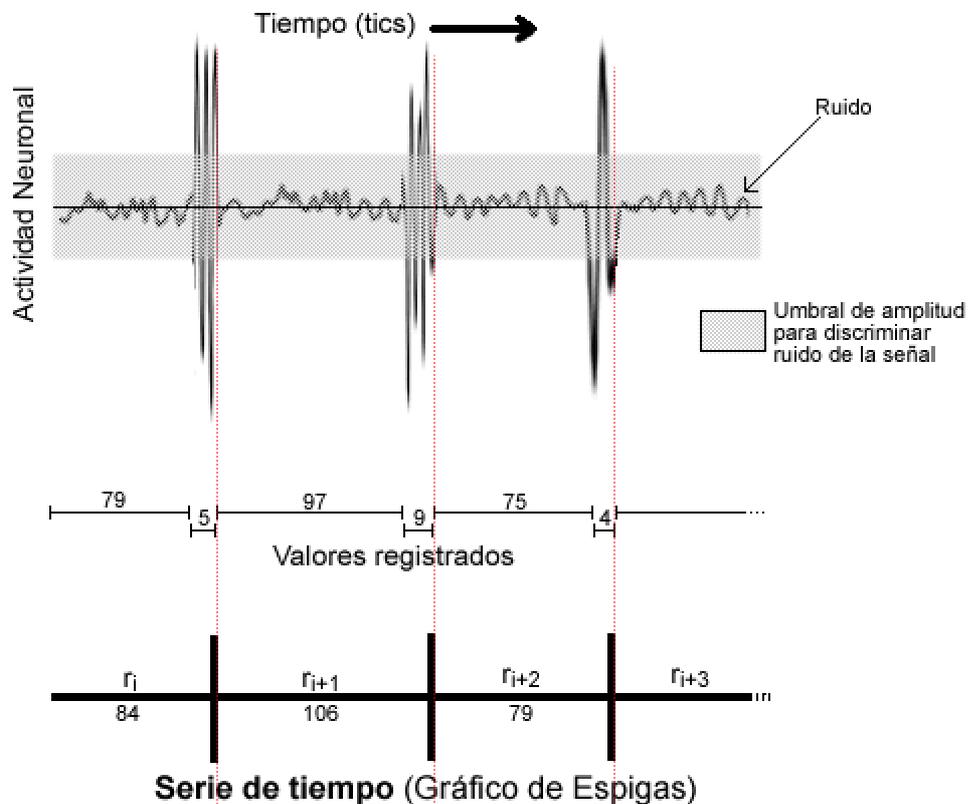


**Figura 5** Diagrama de los ganglios de la base cerebral de una rata donde se observa la inserción de electrodo (en forma de micropipeta) en la zona de la Sustancia Negra pars reticulada (SNr en el diagrama) y las distintas vías de entrada y salida excitatorias e inhibitorias. A la derecha se encuentra una fotografía del área de inserción.

Todas las neuronas de la SNpr son inhibitorias, es decir que las sinapsis causadas por las neuronas de esta área tienen características inhibitorias sobre otras neuronas. De cualquier manera, estas neuronas reciben miles de conexiones sinápticas entrantes, muchas de las cuales sí son excitatorias ya que se trata de neuronas que llegan desde otras áreas del cerebro donde sí existen neuronas de tipo excitatorias, como aquellas provenientes del núcleo subtalámico (NST) o del estriado.

En nuestro trabajo, los eventos están representados por los intervalos de tiempo  $r_i$ , ocurridos entre episodios de actividad neuronal por encima del umbral estipulado como actividad mínima o en reposo. Es decir, que los eventos son valores enteros positivos que representan los tiempos transcurridos entre las descargas (eventos de alta actividad) de la neurona. Estos valores, originalmente, vienen expresados en tics donde un tic equivale a 0.080 ms.

Resulta fundamental subrayar que la correlación existente en la serie de tiempo discreta resultante se corresponde con la correlación real del proceso neuronal y por lo tanto puede ser interpretada en términos de tiempo real. [Tei/97]



**Figura 6** Construcción de la serie de tiempo a partir de la actividad registrada. La serie queda conformada por los sucesivos valores  $r_i$ , en tics (1 tic = 0.080 ms). En la serie quedan registrados los intervalos de tiempo entre eventos por encima del umbral estipulado como ruido. En la parte inferior se aprecia la serie resultante que procesaremos con distintos métodos.

Los registros utilizados para realizar este análisis tienen una duración aproximada de 3 minutos (180seg.). Varios de los registros fueron tomados de a pares en forma simultánea, insertando dos micropitetas en zonas

diferentes de la SNpr. Los pares están rotulados con la fecha en que fue tomado el registro y a continuación p1 y p2 para cada miembro del par. Existen también registros con terminación p3, p4, p5 y p6, que pertenecen a registros tomados sobre el mismo par de neuronas p1 y p2, pero fueron particionados en series distintas para mantener una duración promedio de 3 minutos en todos los registros y poder cumplir con los requerimientos de estacionalidad de la señal. Así p3 y p4 conforman un par generado simultáneamente que puede ser tratado independientemente, al igual que las series con terminaciones p5 y p6.

No todos los registros fueron tomados en pares, entre los datos analizados existen algunos registros de farmacología que fueron rotulados con terminación A, B, C, D, E y se corresponden con registros sucesivos de la actividad neuronal, tras la aplicación de alguna droga en estudio.

Al generar el gráfico de espigas de la serie, la herramienta calcula cierta información relevante para el análisis de la misma, como el tiempo promedio de los intervalos entre espigas (IEE), la duración exacta del registro y la cantidad de espigas descargadas durante ese intervalo de tiempo. Esta información, se muestra junto al gráfico de espigas correspondiente a la señal.

Dada la serie de tiempo de IEEs,  $X_1, X_2, \dots, X_N$  la media es calculada de acuerdo a la siguiente expresión

$$\bar{x} = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N x_i . \quad [1]$$

El valor de N, corresponde a la cantidad de espigas total de la serie. Dado que los valores de los IEE están expresados en tics, datos como la media o la escala sobre la que se generan los gráficos deben ser convertidos a milisegundos para una mejor comprensión de la información.

## Capítulo 3.

# Inspección visual de los datos

Aunque existen varios métodos para la clasificación y el análisis de datos, lo primero a realizar sobre un nuevo conjunto de datos es tratar de observarlo de varias formas posibles. Un gráfico de la señal en función del tiempo nos da alguna noción sobre posibles problemas de estacionalidad, amplitudes o escalas de tiempo que varían sistemáticamente y eventos raros. Es común que los datos experimentales tengan alguna falla que pueda ser detectada mediante una inspección visual. [Kan/97]

La inspección visual puede revelar simetrías en los datos o puede guiarnos hacia una mejor representación e interpretación de éstos. Avanzando en este aspecto, hemos implementado en la herramienta distintos tipos de gráficos donde se representan los datos de la serie de tiempo en 2 dimensiones. A continuación se describen algunos gráficos que son considerados elementales para comenzar un estudio de la actividad neuronal.

### Gráfico de producción de espigas en función del tiempo

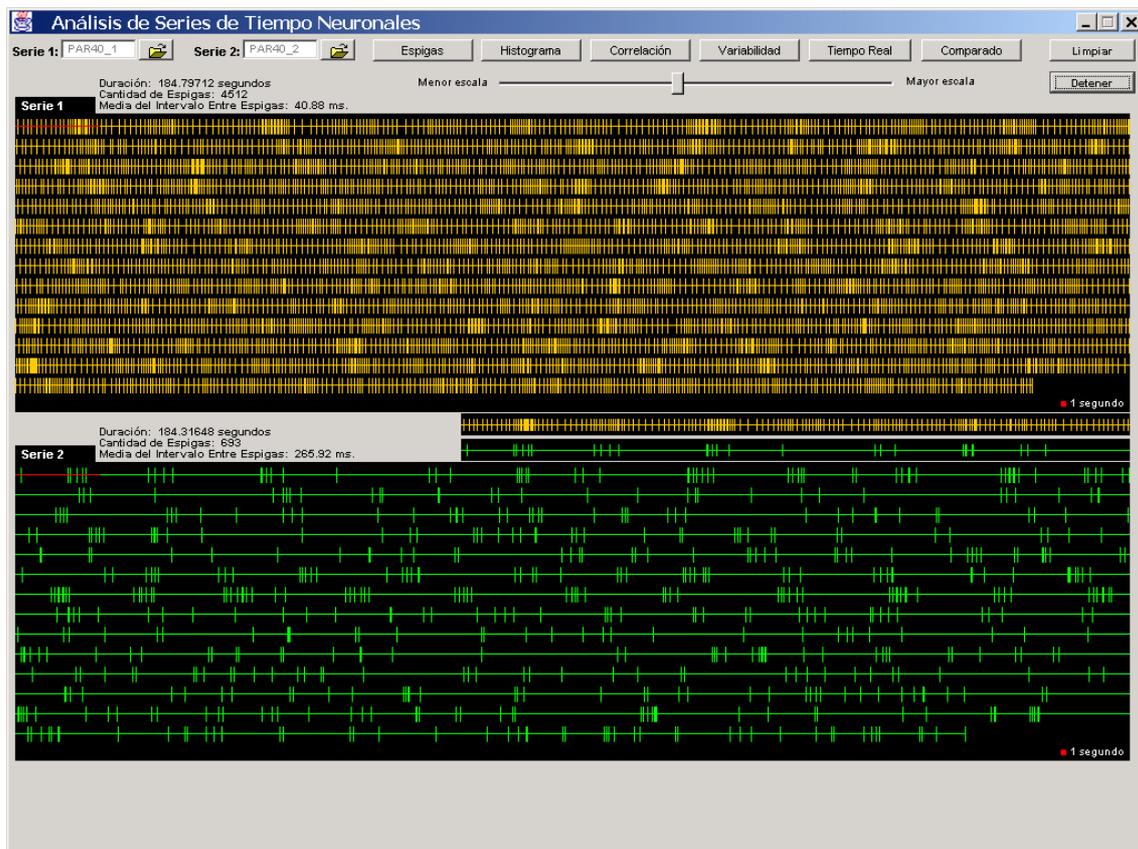
Este tipo de gráfico nos permite obtener una primera idea de cómo es la actividad de la neurona que estamos estudiando, conocer cómo es la forma en que descarga. Las descargas pueden representarse en salvas, lo que implica un cierto orden. Sin embargo, en la mayoría de los casos, se observa un comportamiento más desordenado o un comportamiento de descarga constante. También, mediante este tipo de gráfico podemos ver la cantidad de información transmitida por la neurona, ya que ésta se mide teniendo en cuenta la frecuencia de disparo y no la amplitud del mismo, que se mantiene prácticamente constante.

Los gráficos de producción de espigas están conformados por un eje horizontal que representa el tiempo y un conjunto de líneas verticales que cortan perpendicularmente a éste, llamadas espigas, que representan la descarga de un potencial de acción. En el gráfico, el eje horizontal se representa fraccionado con el fin de visualizar en una única pantalla un intervalo mayor de tiempo. Asimismo, el usuario tiene la posibilidad de

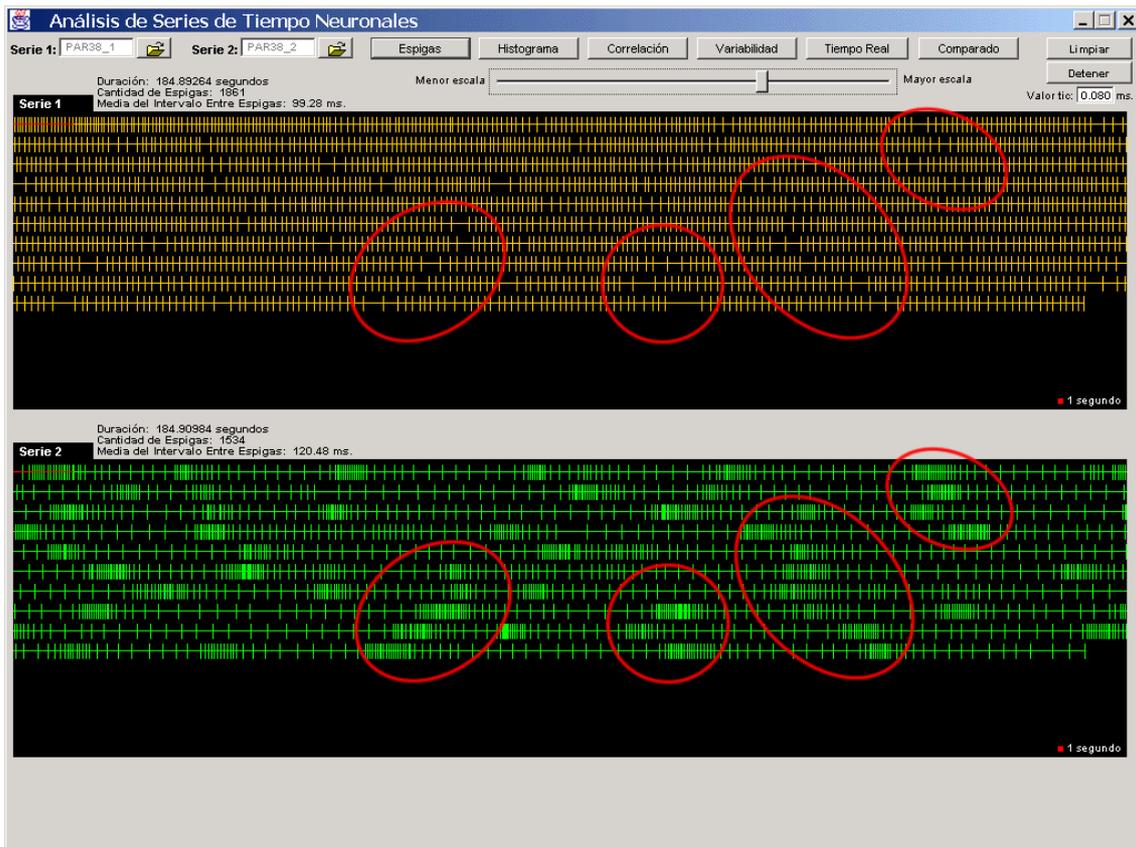
modificar la escala temporal, permitiendo de esta manera visualizar la totalidad de la serie registrada o hacer evidentes ciertos patrones, que sólo pueden ser visibles dependiendo de la escala con que se observen los datos. Además, en este tipo de gráficos generados por la herramienta, se encuentra destacado el primer segundo de registro, de manera de tener una mejor comprensión de cómo descarga la neurona en relación a una medida de tiempo más natural, para nuestra percepción, como son los segundos y dar una mejor noción de la escala en la que se están observando los datos. Por ejemplo, en la serie superior de la Fig.8 se aprecia una descarga en salvas de aproximadamente medio segundo de duración.



**Figura 7** En este Gráfico de Espigas se aprecian los estados posibles de descarga de la neurona. La descarga espontánea es la descarga del 95% de las neuronas en especímenes normales. Mientras que los estados de excitación e inhibición, se aprecian en el 40% de las neuronas de especímenes con Parkinson experimental.



**Figura 8** Gráfico de producción de espigas de un par de neuronas de la SNpr generado con nuestra herramienta. Ambos registros fueron tomados simultáneamente. La serie superior es excitada periódicamente, disparando en salvas, mientras que en la serie inferior, se observa una actividad mucho menor.



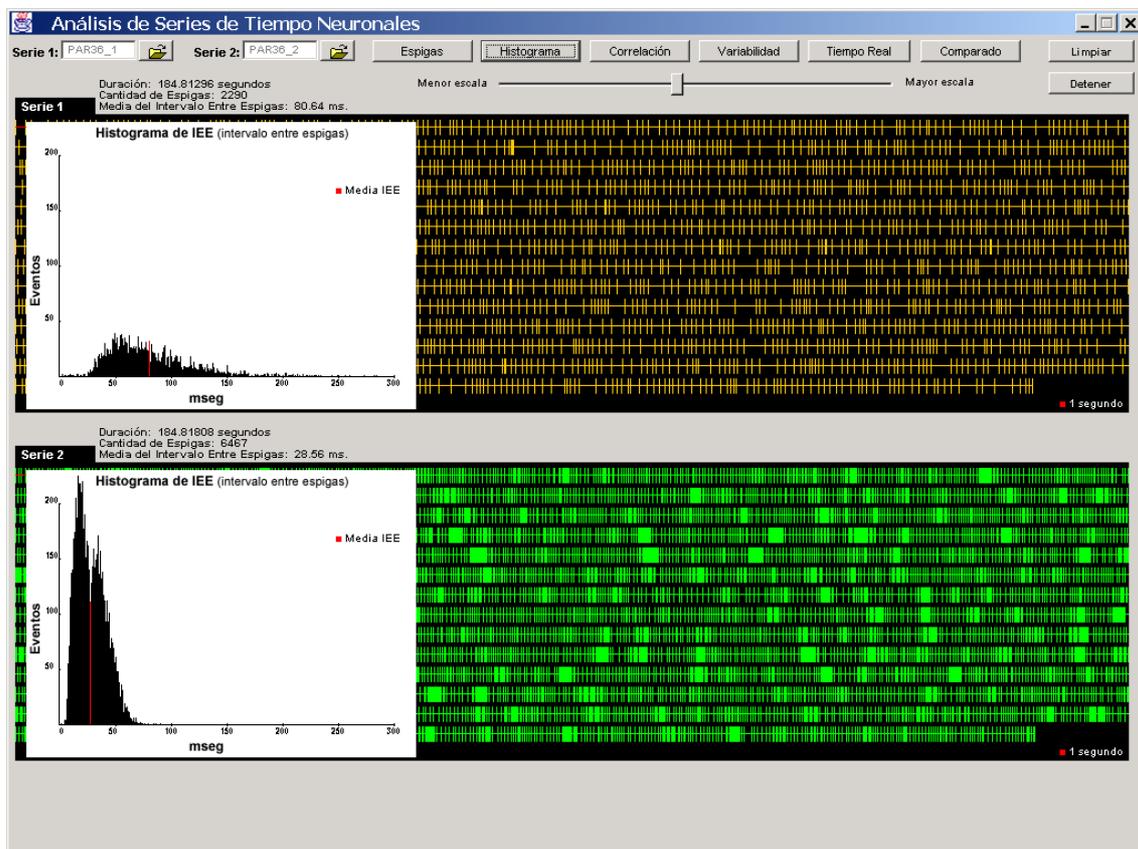
**Figura 9** El par analizado en el gráfico, posee la particularidad de estar sincronizado en forma de 'espejo'; este tipo de sincronismo no había sido detectado previamente por los científicos que investigan en el área. Mediante el grafico de espigas, puede apreciarse este sincronismo inverso aunque esta característica de la señal se hace más evidente, al generar un gráfico comparado (ver Capítulo 6).

## Histograma

El histograma de la duración de intervalos de tiempo entre espigas (IEE) de la serie es un gráfico estadístico, que nos da más información acerca de la forma de descarga de la neurona. Este gráfico nos permite estimar la función de distribución de probabilidad de los valores de los intervalos de tiempo entre espigas para la totalidad de la serie. Aunque la herramienta sólo muestra la distribución de eventos de hasta 300ms, dado que la gran mayoría de los eventos de este tipo de series no superan este valor.

El histograma es una función discreta que representa la duración de cada intervalo de tiempo entre espigas (en milisegundos) con la cantidad de ocurrencias del mismo dentro de la serie de tiempo.

En el histograma de una neurona normal, cuya descarga es regular, se observa una distribución de probabilidad casi gaussiana, donde el valor máximo indica la duración del intervalo preferente. Para el caso de una neurona cuya descarga es en salvas, usualmente se aprecia un histograma con dos picos; uno de los picos indica la duración del intervalo preferente entre las espigas de la salva, mientras que el otro pico da noción de la duración preferente entre las descargas ocurridas en el período de tiempo entre una salva y otra (ver Fig.10 serie inferior). Asimismo, la herramienta destaca en el histograma la media del intervalo entre espigas, calculado para la totalidad de la serie de tiempo (marcado en color rojo).



**Figura 10** Los histogramas son de gran utilidad para interpretar la actividad de las distintas series. En la serie superior, observamos un histograma de distribución gaussiana, mientras que en el de la serie inferior se aprecian dos picos; uno en 12ms. aproximadamente que representa el intervalo de tiempo medio entre eventos de la salva y el otro en 38ms. es el intervalo de tiempo medio entre eventos entre salvas.

## Autocorrelograma

Al realizar un análisis de series de tiempo, se debe considerar que los datos obtenidos en el tiempo que construyen la serie pueden tener una estructura interna (como correlaciones, desvíos, fluctuaciones) que debe ser develada. El realizar un gráfico de autocorrelación de la señal nos da información sobre la periodicidad del sistema a lo largo del tiempo.

Dado las serie de tiempo  $X_1, X_2, \dots, X_N$  la función de autocorrelación para el intervalo  $k$ , donde se estudia cómo evolucionó el sistema  $k$  eventos después, se define de la siguiente manera:

$$r_k = \frac{\sum_{i=1}^{N-k} (x_i - \bar{x})(x_{i+k} - \bar{x})}{\sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}, \quad [2]$$

donde  $\bar{x}$  es la media de los valores de la serie de tiempo. La autocorrelación es un coeficiente que se valúa entre  $-1$  y  $1$ .

Cuando se desea utilizar la autocorrelación para estudiar la evolución de un sistema en el tiempo, se debe generar un diagrama de dos dimensiones, mediante un proceso que calcula la autocorrelación  $r$  para  $k_r$  corrimientos sucesivos, donde  $k_r$  es un retardo temporal que se aplica al sistema. El eje vertical del diagrama de autocorrelación está dado por el coeficiente de autocorrelación:

$$r_k = \frac{C_k}{C_0}, \quad [3]$$

donde  $C_k$  es la función de autocovarianza de la serie

$$C_k = \sum_{i=1}^{N-k} (x_i - \bar{x})(x_{i+k} - \bar{x}), \quad [4]$$

y  $C_0$  es la función de varianza de la serie de tiempo

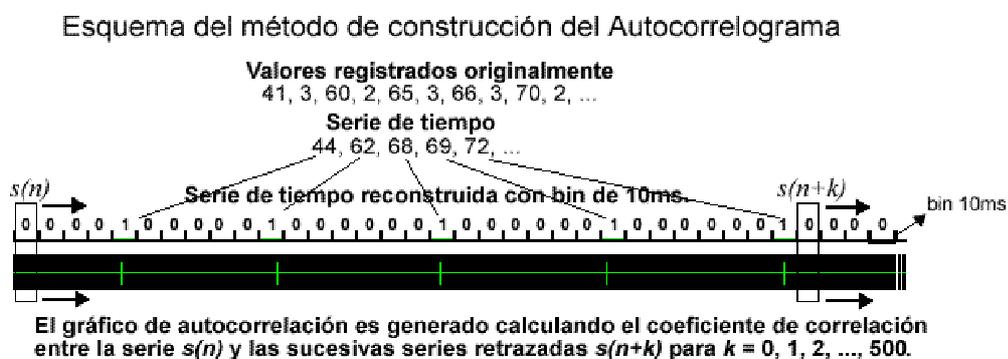
$$C_0 = \sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2. \quad [5]$$

El eje horizontal esta denotado por los retardos temporales  $k$  ( $k=1,2,3,\dots$ ).

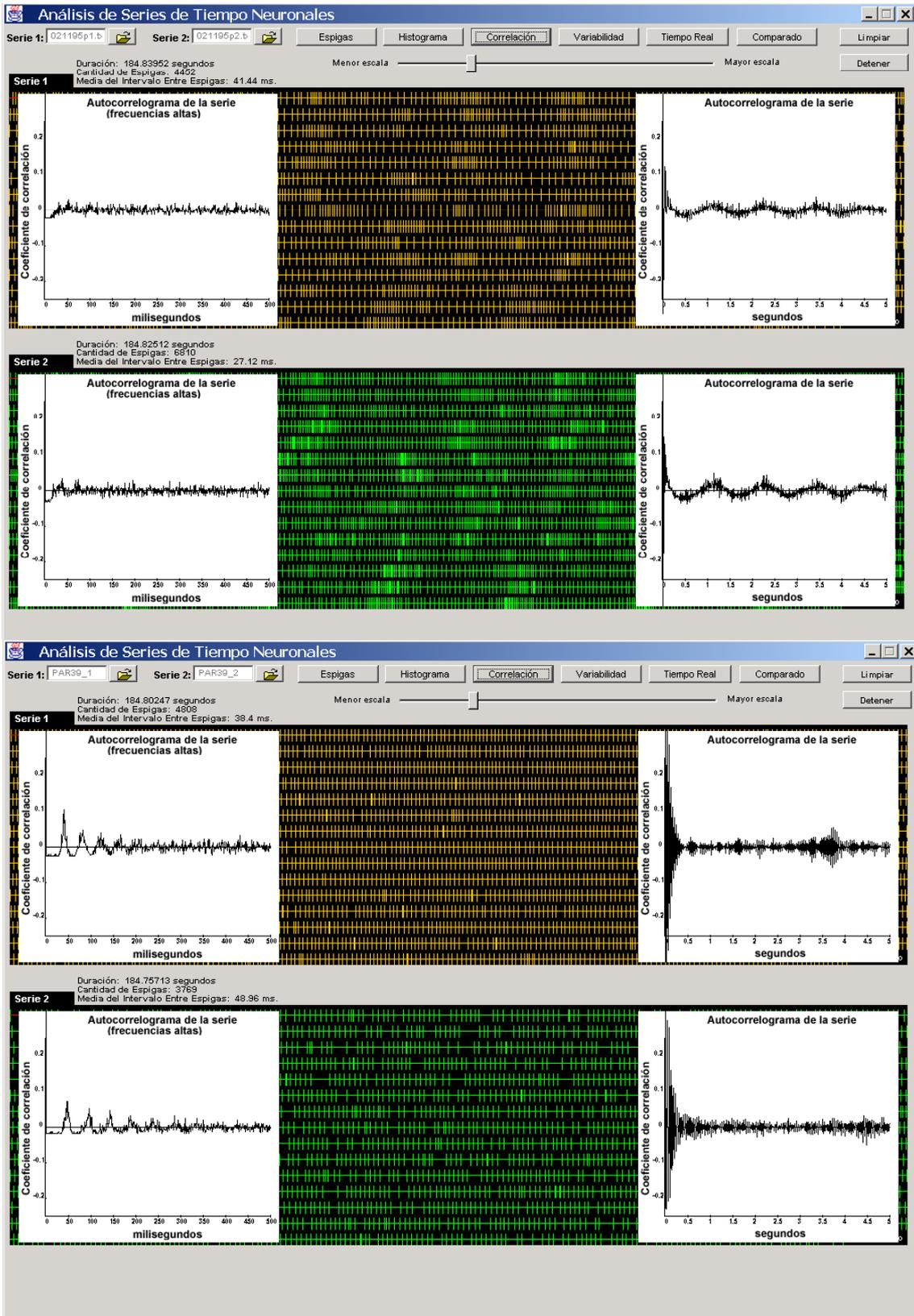
Es decir, si graficamos los valores de la serie  $s(n)$  versus los correspondientes valores fijados a sucesivos intervalos  $k$  que ocurren más tarde en el tiempo  $s(n+k)$ , obtenemos un diagrama de autocorrelación, donde debemos observar cómo están distribuidos los puntos, para obtener información sobre la periodicidad del sistema.

Si los puntos forman una línea sobre el eje x, estamos en presencia de una señal con poca estructura interna o ruidosa y  $r$  toma valores cercanos a cero; en cambio, si el gráfico tiende a orientarse sobre las diagonales, hay indicios de periodicidad, siendo  $s(n) \approx s(n+k)$  y  $r$  tiene valores significativos, no cero. Para el autocorrelograma se verifica que  $-1 \leq r \leq 1$ .

Este gráfico permite apreciar claramente, si la señal presenta oscilaciones en la frecuencia de disparo, es decir, que podemos apreciar la actividad rítmica de la neurona. Los autocorrelogramas de **frecuencias bajas** (en el orden de los segundos) y de **frecuencias altas** (en el orden de los milisegundos) son generados automáticamente por la herramienta, de manera de poder estudiar la presencia de ritmos en la actividad a distintas escalas. El gráfico de autocorrelación para el estudio de bajas frecuencias es construido calculando el valor de  $r$  para retardos de tiempo  $k$  de 10ms, lo que en la bibliografía se denomina bin, sobre un vector que es el resultado de reconstruir los valores de la serie de tiempo con un bin de 10ms.



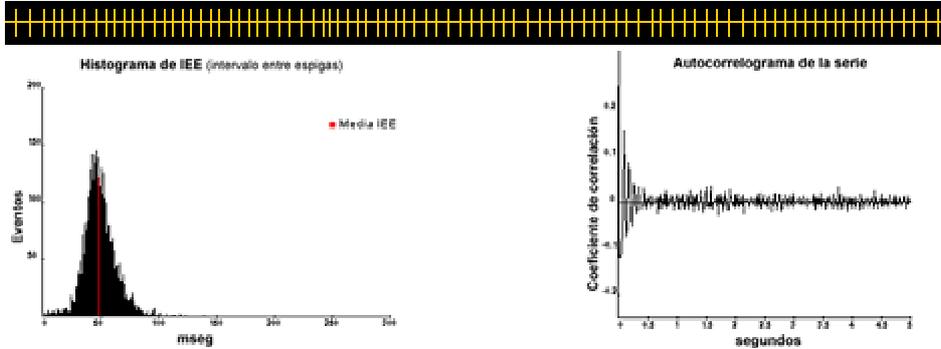
El gráfico correspondiente al autocorrelograma de bajas frecuencias fue generado sobre 500 bins, lo cual representa un segmento de 5 segundos de señal, período suficiente como para poder apreciar las oscilaciones. Por otro lado, en los autocorrelogramas de altas frecuencia se deben tener en cuenta las oscilaciones de mayor frecuencia o sea que ocurren con una mayor periodicidad. Esta vez queremos hilar más fino en el tiempo; por lo tanto tomamos un bin de 1ms, y generamos un gráfico sobre 500 bins que representan 500ms de señal. Se debe tener buen conocimiento de la naturaleza de la señal, de manera de elegir el tamaño de bin correcto y mostrar el ritmo oscilatorio a la escala que mejor se aprecia.



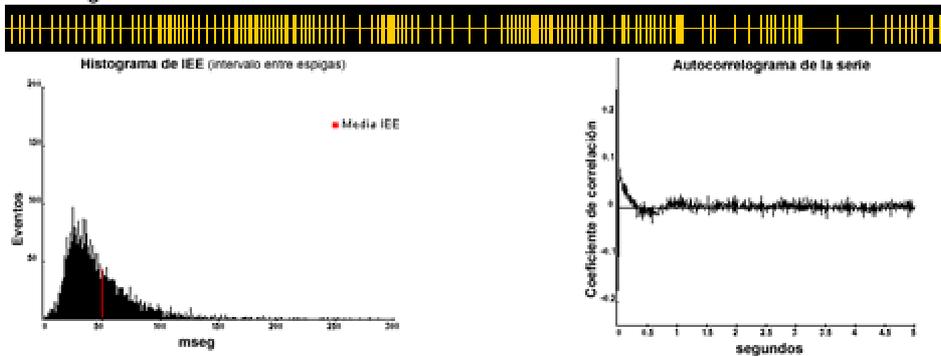
**Figura 11** Los autocorrelogramas de este par de señales muestran la presencia de oscilaciones de baja frecuencia en ambas series del par, con un ritmo oscilatorio aproximado de 1 Hz (1 ciclo por segundo). En la imagen inferior se aprecia un par que presenta un ritmo oscilatorio de alta frecuencia.

## PATRONES TÍPICOS DE ACTIVIDAD NEURONAL

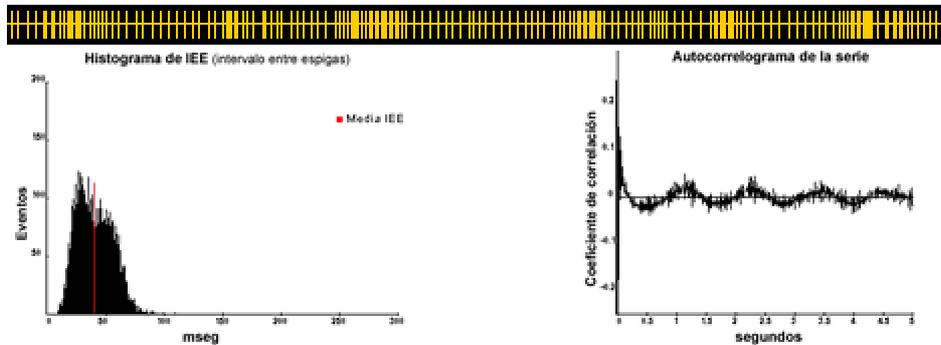
### A Regular



### B Irregular



### C en Salvas



**Figura 12** Estos son los patrones de actividad típicos registrados de la sustancia nigra reticulada de roedores control (normal) y otros con parkinson experimental (lesionados con 6-OHDA, ver Apéndice A). (A) La actividad regular de descarga es típica de ratas control; donde se aprecia una distribución de los intervalos entre espigas casi simétrica. Los patrones irregulares y en salvas (B y C) son típicos de los roedores lesionados, donde claramente se aprecia una frecuencia oscilatoria, que se piensa que de alguna manera, se traspasa a la actividad motora, produciendo el temblor clásico provocado por la enfermedad de Parkinson.

## Correlograma cruzado

El correlograma cruzado compara las descargas de dos neuronas diferentes. El método para generar el correlograma cruzado es muy similar al visto para generar el autocorrelograma. En este caso, se tienen dos series de tiempo  $X_1, X_2, \dots, X_{N1}$  y  $Y_1, Y_2, \dots, Y_{N2}$  pertenecientes a descargas de neuronas distintas, y no como en el caso del autocorrelograma que se calcula sobre una única descarga comparada con sí misma, desfasada en el tiempo. La función del correlograma cruzado se define como:

$$C_k = \frac{\sum_{i=1}^{N-k} (x_i - \bar{x})(y_{i+k} - \bar{y})}{\sqrt{\sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2 \sum_{i=1}^{N2} (y_i - \bar{y})^2}}, \quad [6]$$

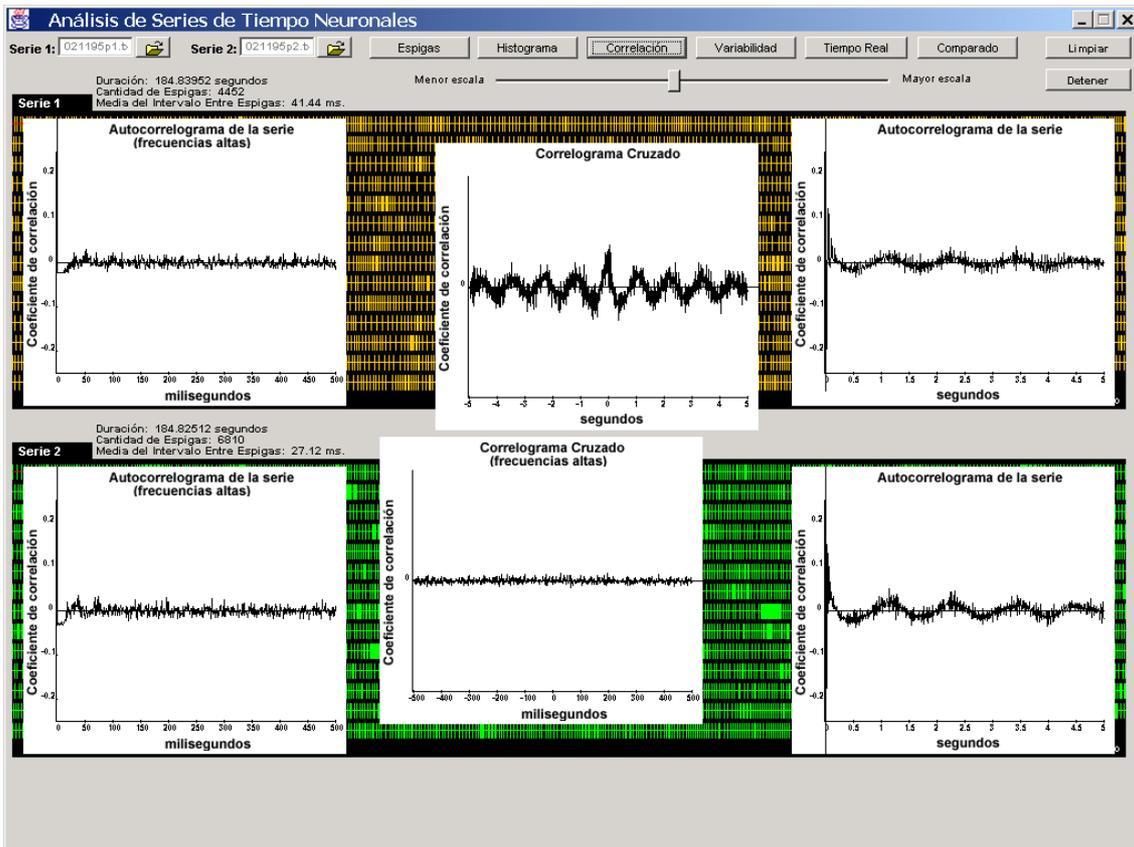
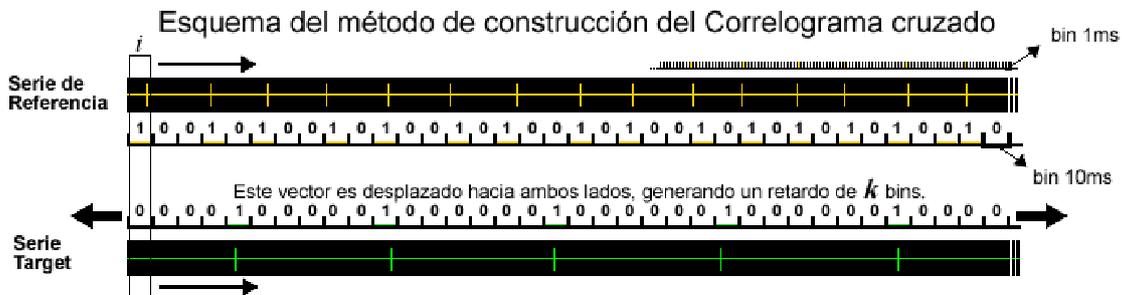
donde  $N$  y  $N2$  representan la cantidad de valores de cada una de las series. El método para generar el correlograma cruzado requiere de la elección arbitraria de una de las neuronas como ‘referencia’; las espigas del gráfico de producción de espigas de ésta serán el marco de referencia. La herramienta selecciona automáticamente la serie1 como referencia. La neurona correspondiente a la serie2 será tomada como ‘target’ para ser desplazada y comparada contra la serie de referencia para los distintos intervalos  $k$  positivos y negativos.

El correlograma cruzado da una medida del período de descarga o la probabilidad de descarga de la neurona ‘target’, cercana al momento de descarga de la neurona de referencia. Por lo tanto, este gráfico nos dará cuenta de la dependencia o independencia entre las dos neuronas.

Si por ejemplo el registro de la neurona A (serie1) no está relacionado de ninguna forma con la neurona B (serie2), entonces por definición los IEEs de A son tiempos aleatorios vistos desde el punto de vista de B; en este caso, obtendremos un gráfico de correlación cruzada plano, prácticamente sin picos. Por otro lado, si la neurona target descarga inmediatamente o a la par de la neurona referencia, entonces se mostrarán picos en los momentos en que esto ocurra.

El método implementado en este trabajo para generar el gráfico de correlación cruzada comienza construyendo los vectores de referencia y target para analizar la correlación entre las series. Esta tarea se realiza filtrando los valores de las series de tiempo con un bin de 10ms para identificar las frecuencias bajas comunes o un bin de 1ms para las altas.

Posteriormente, se procede calculado la correlación cruzada entre ambos vectores, para los distintos desplazamientos  $k$  (bins) del vector target. Este desplazamiento o retardo del vector es realizado hasta 500 bins a cada lado del punto de referencia original; a cada paso se calcula y muestra en el gráfico el valor del coeficiente de correlación obtenido.



**Figura 13** El correlograma cruzado de este par refleja una clara correlación en las descargas de ambas neuronas a un ritmo aproximado de 1Hz. El pico en el centro del correlograma cruzado de bajas frecuencias es un claro indicio de la existencia de una correlación entre ambas señales. En el gráfico inferior no se detecta correlación a nivel de las frecuencias más altas.

La herramienta genera dos gráficos de correlación cruzada entre ambas series del par. En la pantalla principal de la herramienta, sobre la parte

inferior, a la izquierda, se muestra el gráfico de correlación cruzada, generado con un bin de 1ms para detectar relaciones a nivel de oscilaciones de alta frecuencia, mientras que en la parte superior, sobre la derecha, se muestra el gráfico de correlación cruzada de frecuencias bajas que fue generado con un bin de 10ms (ver Fig.13).

Simultáneamente, con la generación de los gráficos de correlación cruzada y autocorrelogramas, la herramienta crea archivos de salida donde quedan grabados los valores que toma la función para su posterior análisis con otras herramientas. Los archivos son creados en el directorio *c:/AnálisisNeuronal/Output*. La nomenclatura adoptada para la identificación de los mismos esta dada por el *nombre de la serie* más *AC* para autocorrelograma y *CC* para correlograma cruzado, más *al* (por frecuencias altas) o *ba* (frecuencias bajas).

En el Apéndice C se encuentran los códigos resultantes de la implementación Java de algunos de estos métodos para ser consultados; además los códigos fuentes de la herramienta se encuentran en el disco que acompaña este trabajo.

El conjunto de métodos gráficos descritos en este capítulo componen el grupo de herramientas básicas necesarias para realizar un análisis de series de tiempo clásico. En este trabajo hemos implementado las mismas, tratando de facilitar su uso para realizar análisis de series de tiempo de intervalos entre espigas. Las implementaciones se fueron mejorando a lo largo del ciclo de vida del proyecto cumpliendo con los requerimientos de los neurofisiólogos colaboradores.

## Capítulo 4.

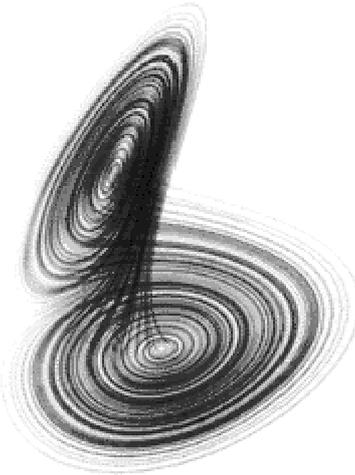
# Reconstrucción del atractor neuronal en el espacio de las fases

Gran parte de los métodos de estudio de series de tiempo no lineales están basados en la teoría de los sistemas dinámicos; desde este punto de vista se entiende que la evolución del tiempo está definida en el espacio de las fases. Si deseamos modelar la dinámica del sistema, es de gran ayuda establecer un espacio de fases de manera que al especificar un punto en este espacio se esté especificando un estado del sistema que estamos estudiando y viceversa. Luego, es posible estudiar la dinámica del sistema, estudiando la dinámica de los puntos correspondientes en el espacio de las fases [Aba/96].

La manera más natural de describir un sistema determinístico dinámico es verlo como un objeto en el espacio de las fases ya que ésta es la manera óptima de estudiar sus propiedades dinámicas y geométricas.

Existen distintos métodos y técnicas por los cuales a partir de la serie de tiempo podemos crear un conjunto de vectores que representen al sistema en el espacio de las fases; esta tarea se llama reconstrucción del espacio de las fases. No es posible realizar esta tarea exitosamente para cualquier sistema dinámico, ya que se deben cumplir ciertos requisitos con respecto a la señal; y, como veremos luego, éste es el caso con series de tiempo de intervalos de tiempo ente espigas.

El primer problema al cual nos enfrentamos al comenzar con nuestra reconstrucción es el siguiente: “Lo que observamos en un experimento no es un objeto en el espacio de las fases sino una serie de tiempos, mejor dicho, solo una secuencia de mediciones escaladas. Por lo tanto, debemos convertir las mediciones en vectores de estado.” [Kan/97]. Este es el problema más importante de la reconstrucción del espacio de las fases y consiste en encontrar la forma de convertir las mediciones en vectores de estados, y esto está técnicamente resuelto por el método de retardos (delays). Debemos aclarar que existen otros métodos pero éste es el que ha tenido mayor aceptación.



Atractor de un sistema

El verdadero atractor del sistema es construido graficando la evolución del vector de estado en espacio de las fases. Esto es útil cuando se tiene acceso a todas las variables de estado. En la práctica, se suele contar con una única serie de tiempo de mediciones  $s(n)$ , que ha sido tomada del sistema, es decir, el registro de una única variable. La serie de tiempo de observaciones es el resultado de una función arbitraria de medición  $M(.)$  que opera sobre el vector de estado  $x$  de la siguiente manera:

$$s(n) = M(x(n)) . \quad [7]$$

¿ Es posible reconstruir el atractor de un sistema (que tiene muchas variables de estado) usando una única serie de tiempo de mediciones ?

La respuesta a esta pregunta es afirmativa y el primero en ilustrarlo fue Packard y luego Takens le dio la fundamentación matemática mediante el teorema de embedding. En esencia, el teorema garantiza que aplicando el método de retardos sobre las mediciones de la serie de tiempo, se puede reconstruir la dinámica original, pero bajo ciertas condiciones. En el método de retardos se crea un vector de coordenadas para cada valor de la serie utilizando los mismos valores de la serie de tiempo pero retrasados en el tiempo:

$$y(n) = [s(n), s(n+ \tau), s(n+2\tau), \dots, s(n+ (d_E-1)\tau) ] , \quad [8]$$

donde  $d_E$  es llamada ‘dimensión de embedding’ o dimensión del espacio de reconstrucción (donde esta embebido el atractor) y  $\tau$  es conocida como el ‘tiempo de retardo’ o time lag. Este último es un múltiplo del tiempo de muestreo  $\tau_s$ . Mediante este embedding, es posible reconstruir la dinámica real con una única medición. El teorema de Takens asegura la existencia de  $d_E$  y  $\tau$  de manera que el mapeo de  $s(n)$  a  $s(n+ \tau)$  sea posible [Tak/81;

Aba/96; Kan/97]. Los conceptos de dimensión del espacio de reconstrucción y tiempo de retardo serán tratados posteriormente.

Como resultado, tenemos una serie de vectores que representan los distintos estados del sistema en el espacio de las fases:

$$Y = \{y(1), y(2), y(3), \dots, y(N-(d_E-1)\tau)\}, \quad [9]$$

donde  $N$  es la longitud de la serie original. La idea de esta reconstrucción es capturar los estados originales del sistema, para cada uno de los momentos en que realizamos las observaciones del sistema.

El concepto de la reconstrucción de la dinámica utilizando el método de delay embedding es bastante elegante, ya que nos permite construir un modelo para un sistema de dinámica no lineal.

## **Encontrando los parámetros de embedding**

Existe una vasta literatura sobre la elección de los parámetros de embedding  $d_E$  y  $\tau$ . La estimación de estos parámetros es un problema propio de la reconstrucción en el espacio de las fases, ya que afecta profundamente la calidad y el significado mismo de los resultados; es además, un paso importante para lograr modelar la dinámica del sistema. En este trabajo utilizamos los métodos de ‘falsos vecinos próximos globales’ (Global False Nearest Neighbors) e ‘información mutua promedio’ (Average Mutual Information) para estimar  $d_E$  y  $\tau$  respectivamente. Estos métodos están implementados en un software llamado Visual Recurrence Analysis (VRA) en su versión 4.2, que es utilizado para el análisis de señales caóticas.

El proceso de búsqueda de los parámetros de embedding comienza estimando el time lag, ya que éste es necesario luego, al momento de calcular la dimensión del espacio de reconstrucción.

## **Tiempo de retardo**

El tiempo de retardo  $\tau$  (time lag o embedding delay) es definido como un retardo necesario para alcanzar la independencia de los elementos del vector de coordenadas retrasado de  $s(n)$ , es decir,  $\tau$  da noción de la cantidad de tiempo mínimo necesario para que el atractor del sistema pueda

desplegarse en toda su magnitud. Si  $\tau$  es demasiado pequeño, entonces los elementos de este vector son muy similares y son más propensos a los efectos del ruido, ya que varios elementos del vector se superponen unos a otros ocultando la forma real del atractor. Por otro lado, si  $\tau$  es demasiado grande entonces los elementos son demasiado disímiles y los vectores tenderían a ocupar todo el espacio de la fase. Obviamente, esto también causa dificultades en la reconstrucción del atractor.

### Método de información mutua promedio

Este método fue originalmente formulado por Shannon en 1948 y está basado en la idea del cálculo de la información mutua entre dos valores (mediciones)  $a_i$  y  $b_j$  pertenecientes a dos conjuntos de mediciones posibles A y B. La **información mutua** entre el valor  $a_i$  perteneciente al conjunto  $A=\{ a_i \}$  y el valor  $b_j$  perteneciente al conjunto  $B=\{ b_j \}$  es la cantidad de información que podemos obtener a partir del valor  $a_i$  sobre el valor  $b_j$ . Si de bits se tratase sería

$$\log_2 \left[ \frac{P_{AB}(a_i, b_j)}{P_A(a_i)P_B(b_j)} \right], \quad [10]$$

donde  $P_{AB}(a, b)$  es la densidad de probabilidad conjunta en las mediciones A y B para los valores  $a$  y  $b$ . Las densidades de probabilidad individual para las mediciones A y B están dadas por  $P_A(a)$  y  $P_B(b)$ . Estas ‘probabilidades’ son generadas a partir de la construcción de un histograma, donde se reflejan las variaciones de  $a_i$  o  $b_j$  observadas en las mediciones.

Si el valor  $a_i$  perteneciente a A es completamente independiente del valor  $b_j$  de la medición B, entonces  $P_{AB}(a, b)$  se puede factorizar como:  $P_{AB}(a, b) = P_A(a) P_B(b)$  y la cantidad de información entre ambas medidas, la información mutua, será igual a cero, como debe ser. El promedio de esta información calculada sobre todos los valores del conjunto, llamado **información mutua promedio**, entre el conjunto de mediciones A y el conjunto de mediciones B es:

$$I_{AB} = \sum_{a_i, b_j} P_{AB}(a_i, b_j) \log_2 \left[ \frac{P_{AB}(a_i, b_j)}{P_A(a_i)P_B(b_j)} \right]. \quad [11]$$

Este valor no está relacionado con las reglas de evolución lineal o no lineal que manejan el sistema. Es una idea estrictamente teórica que relaciona dos conjuntos de datos entre sí, estableciendo un criterio de dependencia

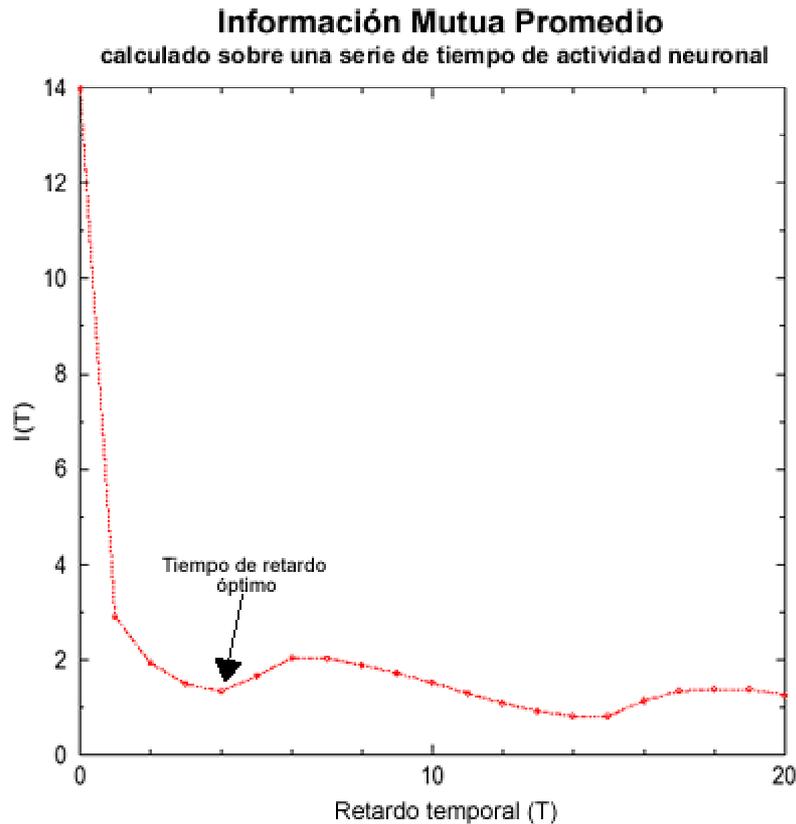
mutua, basado en la noción de una conexión de información existente entre ellos. Utilizaremos este método para dar una definición precisa de la forma en que se conectan los valores de la serie  $s(t)$  al momento  $t$  y su versión retrasada  $s(t+\tau)$  al momento  $t + \tau$  [Sha/48; Kan/97].

Entonces, a partir de la fórmula anterior remplazamos el conjunto A por  $s(n)$  y B por  $s(n+\tau)$  y obtenemos el valor promedio de información mutua entre estas dos series de tiempo, esto es, la cantidad (en bits) inferida de valores de  $s(n)$  a través de los valores de  $s(n+\tau)$ . Queda de la siguiente manera:

$$I(\tau) = \sum_{s(n), s(n+\tau)} P(s(n), s(n+\tau)) \log_2 \left[ \frac{P(s(n), s(n+\tau))}{P(s(n))P(s(n+\tau))} \right], \quad [12]$$

Por sugerencia de Fraser fue que se utilizó esta función  $I(\tau)$  como una función de autocorrelación no lineal, para determinar cuándo los valores de  $s(n)$  y  $s(n+\tau)$  son suficientemente independientes uno del otro y no tan independientes como para no estar relacionados, de manera de utilizar  $\tau$  en la creación del vector de coordenadas retrasado.

Dado que  $I(\tau) \geq 0$  y a medida que  $\tau$  es mayor el comportamiento caótico de la señal hace que  $s(n)$  y  $s(n+\tau)$  sean cada vez más independientes hasta tender a cero. La sugerencia de Fraser es calcular  $I(\tau)$  para valores crecientes de  $\tau$  y tomar el primer mínimo dado en  $I(\tau)$  como el time lag buscado. En éste punto es donde  $s(n+\tau)$  agrega máxima información al conocimiento que tenemos de  $s(n)$ , es decir que la redundancia es menor. Por este motivo, el valor de  $\tau$  donde se obtiene el primer mínimo de  $I(\tau)$  es tomado como un buen estimador del time lag [Aba/96; Fra/86].



**Figura 14** El primer mínimo encontrado por el método de Información Mutua Promedio se considera un estimador del tiempo de retardo óptimo como para realizar la reconstrucción del atractor en el espacio de las fases.

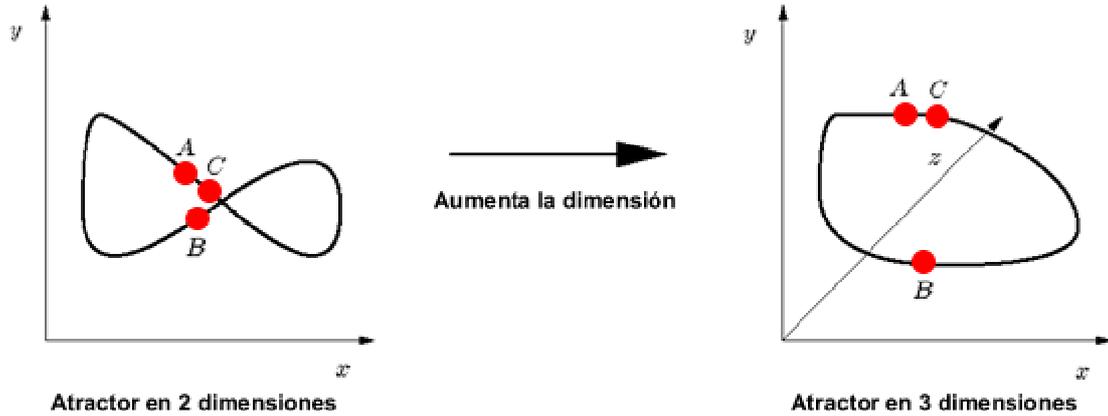
## Dimensión del espacio de reconstrucción

Al realizar el análisis de la dinámica del sistema, nuestro deseo es poder determinar la dimensión del espacio donde se tenga las coordenadas suficientes como para poder desplegar las órbitas del atractor del sistema sin solapamientos, ya que estos solapamientos ocurren al proyectar el atractor en las dimensiones más bajas del espacio. Para esto, es necesario ir examinando el conjunto de los datos, identificando cuando ocurren estos solapamientos no deseados. La dimensión menor, en donde se despliega el atractor libre de solapamientos, es llamada la dimensión del espacio de reconstrucción (dimensión de embedding) .  $d_E$  es un entero.

## Método de falsos vecinos próximos globales

Podemos definir a  $d_E$  como la dimensión necesaria para poder desplegar el atractor en su plenitud, de manera que no existan falsos vecinos. El método

de GFNN estima  $d_E$  observando la estructura geométrica del atractor a medida que incrementa la dimensión de embedding. Este método analiza el atractor del sistema completamente y mide el porcentaje de falsos vecinos para cada dimensión. Un buen estimador para  $d_E$  es encontrando donde el porcentaje de falsos vecinos se aproxima más a cero.



**Figura 15** El método de falsos vecinos próximos globales, estima  $d_E$  observando la estructura geométrica del atractor a medida que incrementa la dimensión de embedding. Un buen estimador para  $d_E$  es donde el porcentaje de falsos vecinos se aproxima más a cero.

En la Fig.15 se demuestra la idea de falsos vecinos próximos, usando como ejemplo un atractor simple. Se observa en el atractor de dos dimensiones que los puntos A, B y C son todos vecinos en este espacio. Los puntos A y C son verdaderos vecinos, mientras que B es un falso vecino tanto para A como para C en un espacio de dos dimensiones. Incrementando la dimensión de embedding a tres, se eliminan las intersecciones y el atractor es desplegado, revelando que B es el falso vecino. En este ejemplo, la dimensión de embedding  $d_E = 3$  es suficiente dado que el porcentaje de falsos vecinos se reduce a cero.

El método trabaja de la siguiente manera; supongamos que ya hemos realizado la reconstrucción del vector de estados en el espacio de las fases para la dimensión  $d$  con vectores de datos

$$y(k) = [s(k), s(k + \tau), \dots, s(k + (d-1)\tau)], \quad [13]$$

utilizando el tiempo de retardo sugerido por el método de información mutua promedio. Examinamos los vecinos cercanos en el espacio de las fases del vector  $y(k)$  para el momento  $k$ . Estos vectores tendrán la forma

$$y^{NN}(k) = [s^{NN}(k), s^{NN}(k + \tau), \dots, s^{NN}(k + (d-1)\tau)]. \quad [14]$$

Si el vector  $y^{NN}(k)$  es realmente un vecino de  $y(k)$ , entonces este llegó allí debido a la dinámica original del sistema. Este es el vector anterior o posterior a  $y(k)$  siguiendo la órbita, siempre que los intervalos de tiempo sobre la órbita sean lo suficientemente pequeños o bien este vector llegó a la vecindad de  $y(k)$  tras haber evolucionado a lo largo de la órbita y alrededor del atractor.

Si el vector  $y^{NN}(k)$  es un **falso** vecino de  $y(k)$  que llegó a este vecindario debido a la proyección desde una dimensión mayor porque la presente dimensión  $d$  no llega a desplegar el atractor en su totalidad, entonces al moverse a la próxima dimensión  $d+1$  es posible que éste falso vecino se mueva fuera del vecindario de  $y(k)$ . Observando cada punto de  $y(k)$  (recordemos que cada vector  $y(k)$  es un punto en el espacio de las fases) y preguntando para qué dimensión han desaparecido todos los falsos vecinos, iremos secuencialmente eliminando las intersecciones de las órbitas más bajas del sistema, hasta finalmente identificar la dimensión  $d_E$  donde el atractor es desplegado [Ken/92].

Es necesario tener un criterio para decidir cuándo dado un punto  $y(k)$  y su vecino próximo  $y^{NN}(k)$ , visto en la dimensión  $d$ , es cercano o lejano en la dimensión  $d+1$ . Al pasar de la dimensión  $d$  a la dimensión  $d+1$ , el componente adicional en el vector  $y(k)$  es justamente  $s(k+d\tau)$  y en el vector  $y^{NN}(k)$  el componente agregado es  $s^{NN}(k+d\tau)$ ; ambos valores son conocidos. Al comparar la distancia entre los vectores  $y(k)$  y  $y^{NN}(k)$  en la dimensión  $d$ , con la distancia entre estos mismos vectores en la dimensión  $d+1$ , podemos establecer fácilmente cual es un falso vecino. Para lograr esto, sólo es necesario comparar  $|s(k+d\tau) - s^{NN}(k+d\tau)|$  con la distancia Euclideana  $|y(k) - y^{NN}(k)|$  entre vecinos cercanos de la dimensión  $d$ . Si la distancia adicionada es grande, comparada con la distancia en la dimensión  $d$  entre vecinos cercanos, entonces tenemos un falso vecino. Si en cambio, esta distancia no es grande, tenemos un vecino real.

El cuadrado de la distancia Euclideana, entre puntos vecinos próximos, vista desde la dimensión  $d$  es

$$R_d(k)^2 = \sum_{m=1}^d [s(k + (m-1)\tau) - s^{NN}(k + (m-1)\tau)]^2, \quad [15]$$

mientras que para  $d+1$  es

$$\begin{aligned} R_{d+1}(k)^2 &= \sum_{m=1}^{d+1} [s(k + (m-1)\tau) - s^{NN}(k + (m-1)\tau)]^2, \\ &= R_d(k)^2 + |s(k+d\tau) - s^{NN}(k+d\tau)|^2. \end{aligned} \quad [16]$$

La distancia entre puntos tomada desde  $d+1$  relativa a la distancia en la dimensión  $d$  es

$$\sqrt{\frac{R_{d+1}^2(k) - R_d(k)^2}{R_d(k)^2}} = \frac{|s(k + d\tau) - s^{NN}(k + d\tau)|}{R_d(k)} \quad [17]$$

Cuando este valor es mayor que un umbral determinado, en general es un número alrededor de 15, estamos ante un falso vecino.

En definitiva, el método de GFNN a medida que incrementa la dimensión de embedding, despliega el atractor observando cuales de los puntos que parecían cercanos en la dimensión  $d$ , están alejados en la dimensión  $d+1$ . Estos puntos son llamados falsos vecinos y el algoritmo calcula el porcentaje de falsos vecinos, encontrados a mediada que se va incrementado la dimensión de embedding.

## **Resultados de la reconstrucción del atractor neuronal en el espacio de las fases**

En muchas situaciones las señales registradas no son interesantes en sí mismas y la información relevante está contenida en los intervalos de tiempo entre ciertos eventos característicos. Los ejemplos más difundidos de este tipo de datos son los intervalos obtenidos de series de tiempo de electrocardiogramas, que son los intervalos de tiempo entre los latidos sucesivos, o bien, como en nuestro caso, los intervalos de tiempo entre las descargas eléctricas de la neurona. También se podría pensar en intervalos de tiempo entre terremotos o salidas a la superficie del mar de determinados mamíferos marinos para respirar.

La peculiaridad de este tipo de series de ‘tiempo’, es que usualmente el ‘tiempo’ es el número del evento y no el tiempo real. Si uno insiste en utilizar el tiempo real, las observaciones no están uniformemente espaciadas en el eje del tiempo y la información almacenada en la señal, llamémosla la longitud de la duración de los intervalos, es redundante con la información de la posición en el tiempo.

Dado que el tiempo entre ciertos eventos usualmente no es posible apreciarlo en las coordenadas del espacio de las fases, no podremos describir a la dinámica del sistema como una función  $y(n)$  en el espacio de

las fases. Por lo tanto, las ideas detrás del time delay embedding no serían inmediatamente aplicables para series de tiempo de intervalos entre espigas.

Serie	Time Lag (AMI)	Dimensión de embedding (GFNN)	% falsos vecinos
36_1	2	28	42.6%
36_2	6	40	34.9%
37_1	2	26	48.6%
37_2	9	30	40.1%
38_1	6	45	36.8%
38_2	8	7	53.6%
39_1	5	10	49.0%
39_2	4	44	43.0%

**Tabla de datos de la reconstrucción del atractor en el espacio de las fases**

A través de los datos obtenidos, vemos que la tarea de encontrar una dimensión de embedding donde poder desplegar el atractor en su plenitud de manera que no hayan falsos vecinos, ha fracasado. Al algoritmo GFNN fue parametrizado para realizar la búsqueda dentro de las primeras 50 dimensiones y no fue capaz de separar los puntos del atractor, quedando siempre un porcentaje elevado de falsos vecinos.

Desafortunadamente, no fue posible desplegar el atractor neuronal a partir de series de tiempo de intervalos entre espigas. En los sistemas dinámicos, las diferentes variables contienen diferente grado de información sobre la dinámica que gobierna a éste [Let/98]. En nuestro caso, la reconstrucción del espacio de las fases no puede lograrse fácilmente, debido a la naturaleza ruidosa del sistema. Por este motivo, continuamos nuestro trabajo aplicando otros métodos de análisis de series de tiempo no lineales.

## Capítulo 5.

# Correlación entre los eventos, Diagramas de variabilidad

Los diagramas de variabilidad son un método gráfico simple, por el cual se puede estudiar la correlación existente en un conjunto de datos. A simple vista, la correlación no es fácilmente detectable si se aplican otras técnicas. El método es una herramienta eficaz para realizar un estudio rápido, cuantitativo y cualitativo de la dinámica subyacente, en una serie de tiempo no lineal.

Tradicionalmente, para estudiar correlación se utilizaba un método conocido como primer mapa de retorno; éste correlacionaba localmente dos puntos adyacentes de un sistema caótico; ésta era la manera de estudiar la naturaleza determinística de las dinámicas caóticas de baja dimensión. Por desgracia, la mayoría de los datos experimentales poseen dimensión alta y el primer mapa de retorno toma la forma de nube, no siendo adecuado para realizar una interpretación de la dinámica del sistema. Además, puede ocurrir que dos dinámicas diferentes muestren un primer mapa de retorno muy similar. Este hecho hace que el primer mapa de retorno no sea útil para comparar dos dinámicas caóticas o estudiar con exactitud un modelo que describe una serie de tiempo experimental.

Los diagramas de variabilidad representan en 2D la correlación existente entre valores sucesivos de una serie de tiempo. La idea es realizar los distintos diagramas, correlacionando 3, 4, 5, etc... eventos sucesivos de una misma serie de tiempo. Si esto se aplica sucesivamente, se asegura una visión de la dinámica del sistema más adecuada que la obtenida a través de un primer mapa de retorno.

La diferencia entre dos eventos sucesivos  $r_i$  y  $r_{i+1}$  no es una constante necesariamente, sino que puede ser vista como una variable aleatoria (en nuestro trabajo el  $r_i$  representa el tiempo transcurrido entre dos momentos de actividad neuronal por encima del umbral estipulado como actividad en reposo). Cualquier evento  $r_i$  puede ser relacionado al próximo, creando el primer mapa de retorno que consiste en graficar a  $r_{i+1}$  como una función de

$r_i$  para cada evento de la serie. Mediante este procedimiento, la correlación local existente entre eventos sucesivos es representada geoméricamente. De existir una correlación entre los  $r_i$  de la serie, emergerá un patrón reconocible, mientras que ante la ausencia de correlación se ve sólo una nube de puntos.

Se debe tener en cuenta que si estamos en presencia de una dinámica caótica de alta frecuencia no podremos obtener información útil con un primer mapa de retorno.

Las diferencias de un conjunto de variables discretas igualmente espaciadas de una función  $r$  en el punto  $i$  es definida como

$$\Delta_i^n = \sum_{k=0}^n (-1)^k \binom{n}{k} r_{i+n-k} \quad . \quad [18]$$

El procedimiento de mapear la correlación local a una representación geométrica puede ser generalizado a correlaciones entre  $n$  eventos y mapeado a un espacio  $m$ -dimensional. A partir de  $m$  puntos sucesivos, podemos construir un vector  $m$ -dimensional mediante los siguientes ejes:

$$X_i^{(n)} = \sum_{k=0}^n (-1)^k \binom{n}{k} r_{i+n-k} \quad , \quad [19]$$

$$X_{i+1}^{(n)} = \sum_{k=0}^n (-1)^k \binom{n}{k} r_{i+n+1-k} \quad n = 0,1,2,\dots \quad ,$$

⋮

$$X_{i+m-1}^{(n)} = \sum_{k=0}^n (-1)^k \binom{n}{k} r_{i+n+m-1-k} \quad .$$

De esta manera proyectamos la evolución de la dinámica del sistema en un espacio  $m$ -dimensional. Aquí  $n$  es un número de elementos consecutivos tomados de la serie de tiempo. Si estamos en presencia de una dinámica caótica bien definida, podrán verse estructuras para todos los  $n$ . Esta representación en un espacio de 2 dimensiones es un diagrama de variabilidad [Mau/97].

Para el caso particular de  $n = 0$  y  $m = 2$  se recupera el primer mapa de retorno que es denominado diagrama de variabilidad de *orden cero*.

Si  $n = 1$  y  $m = 2$ , entonces  $X_i^{(1)} = r_{i+1} - r_i$  y  $X_{i+1}^{(1)} = r_{i+2} - r_{i+1}$ ; de esta manera obtenemos un diagrama de variabilidad de **primer orden** en dos dimensiones. Este diagrama estaría correlacionando tres valores sucesivos de la serie. Por la naturaleza de la construcción de estos diagramas, si los tres valores son iguales, entonces  $X_i^{(1)} = X_{i+1}^{(1)} = 0$ . Cualquier valor de coordenadas positivo o negativo indicarían un desplazamiento de la periodicidad absoluta de los valores de  $r$ . Por ejemplo, si  $X_i^{(1)} > 0$  y  $X_{i+1}^{(1)} > 0$ , entonces estamos en presencia de tres intervalos sucesivos tales que, a cada paso, el valor de  $r$  se incrementa. Si los  $r$  representan intervalos de tiempo, como es nuestro caso con las series obtenidas a partir de los EEG, esto representa una especie de desaceleración en la dinámica del proceso. El punto correspondiente a esta coordenada se ubicaría dentro del primer cuadrante (I). Por el contrario, si  $X_i^{(1)} < 0$  y  $X_{i+1}^{(1)} < 0$  estaría indicando una disminución en los valores de  $r$  y por lo tanto una aceleración de la dinámica del proceso; el punto correspondiente aparecerá en el tercer cuadrante (III). Valores sucesivos de  $r$  como Corto-Largo-Corto son representados por  $X_i^{(1)} > 0$  y  $X_{i+1}^{(1)} < 0$ , mientras que  $X_i^{(1)} < 0$  y  $X_{i+1}^{(1)} > 0$  está asociado a valores Largo-Corto-Largo y pueblan, respectivamente, los cuadrantes segundo (II) y cuarto (IV). Vale destacar que el diagrama de variabilidad de primer orden es una proyección diferente de la lograda a través de un primer mapa de retorno construido en 3D, que también trabaja con la correlación de estas tres variables.

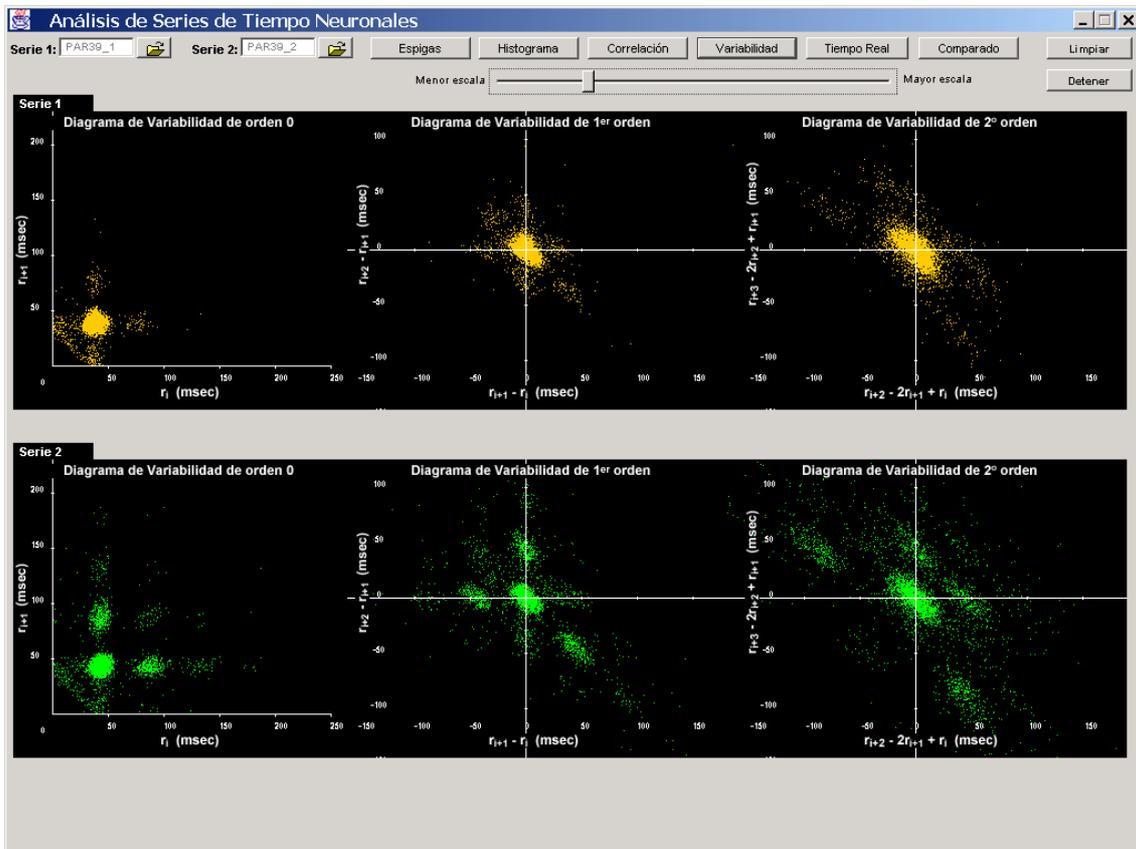
El diagrama de variabilidad de **segundo orden** es construido tomando  $n=2$  y  $m=2$ ; luego  $X_i^{(2)} = r_{i+2} - 2r_{i+1} + r_i$  y  $X_{i+1}^{(2)} = r_{i+3} - 2r_{i+2} + r_{i+1}$ . La Fig.16 muestra este diagrama. Los puntos sobre la diagonal A (I) responden a la relación  $r_i - 3r_{i+1} + 3r_{i+2} - r_{i+3} = 0$ , mientras que la cuenca sobre la diagonal B (II) responde a la relación  $r_{i+1} - r_i = r_{i+3} - r_{i+2}$ .

En caso de visualizar algún patrón en los diagrama de variabilidad de orden bajo, podríamos recuperar fácilmente los valores numéricos de los  $r_i$  que conformarían el patrón para su posterior análisis. A medida que se incrementa el orden de los diagramas la interpretación de patrones en un espacio de 2 dimensiones se hace más dificultosa; aunque los diagramas siguen siendo de gran utilidad para realizar la inspección visual de la dinámica del sistema.

Estos tipo de diagramas demostraron ser una herramienta valiosa para realizar la clasificación de ECG (electrocardiogramas) y en algunos casos para pacientes con implante de marcapasos fue posible diagnosticar un mal funcionamiento del mismo [Bab/96]. En estos casos, las series de tiempo

fueron obtenidas al medir los intervalos de tiempo entre latidos sucesivos a partir del ECG.

En nuestro trabajo utilizamos los diagramas de variabilidad para poder realizar una inspección y comparación de la actividad neuronal en los roedores de laboratorio. Más específicamente, se trata de aportar información adicional a través de estos diagramas para poder detectar la presencia de sincronismo entre las descargas de distintas neuronas, o poder estudiar el efecto que tiene las distintas drogas sobre la actividad neuronal.



**Figura 16** En los diagramas de variabilidad de este par de neuronas se aprecia claramente una correlación entre los intervalos sucesivos de la serie para ambos registros del par.

## **Análisis del efecto de las drogas sobre la dinámica funcional**

Otra aplicación interesante de los diagramas de variabilidad es su utilización en el análisis de farmacología, es decir, en el análisis de los efectos que causan las distintas drogas sobre la actividad neuronal.

Por ejemplo, en la Fig.17 se representa un registro continuo de 45min. de una misma neurona de una rata de laboratorio a la cual recientemente se le había aplicado una droga. Con motivos de realizar un análisis comparativo, el registro fue particionado en cinco series de tiempo.

En la parte superior, se aprecia la actividad neuronal al ser aplicada la droga (serie 000195IA de 156 seg. de duración); la serie siguiente, tiene una duración de 10 min. y se aprecian los primeros efectos de la droga sobre la actividad neuronal (serie 000195IB). Transcurridos aproximadamente 14 minutos de aplicada la droga, se tomó un registro de unos 20 min. de duración (serie 000195IC); podemos apreciar que la droga ha hecho efecto aumentando la frecuencia de disparo de la neurona (por la frecuencia medio de disparo se calcula en un  $\sim 20\%$ ), y se han poblado otras áreas de los diagramas. Además, los diagramas de correlación y gráficos de espigas nos aportan información útil, como la variaciones del ritmo oscilatorio y las modificaciones en el patrón de descarga. En las dos series siguientes (000195ID y 000195IE), ya pasado el máximo efecto de la droga, se observa una disminución en la actividad de la neurona que tiende a retomar su ritmo normal.

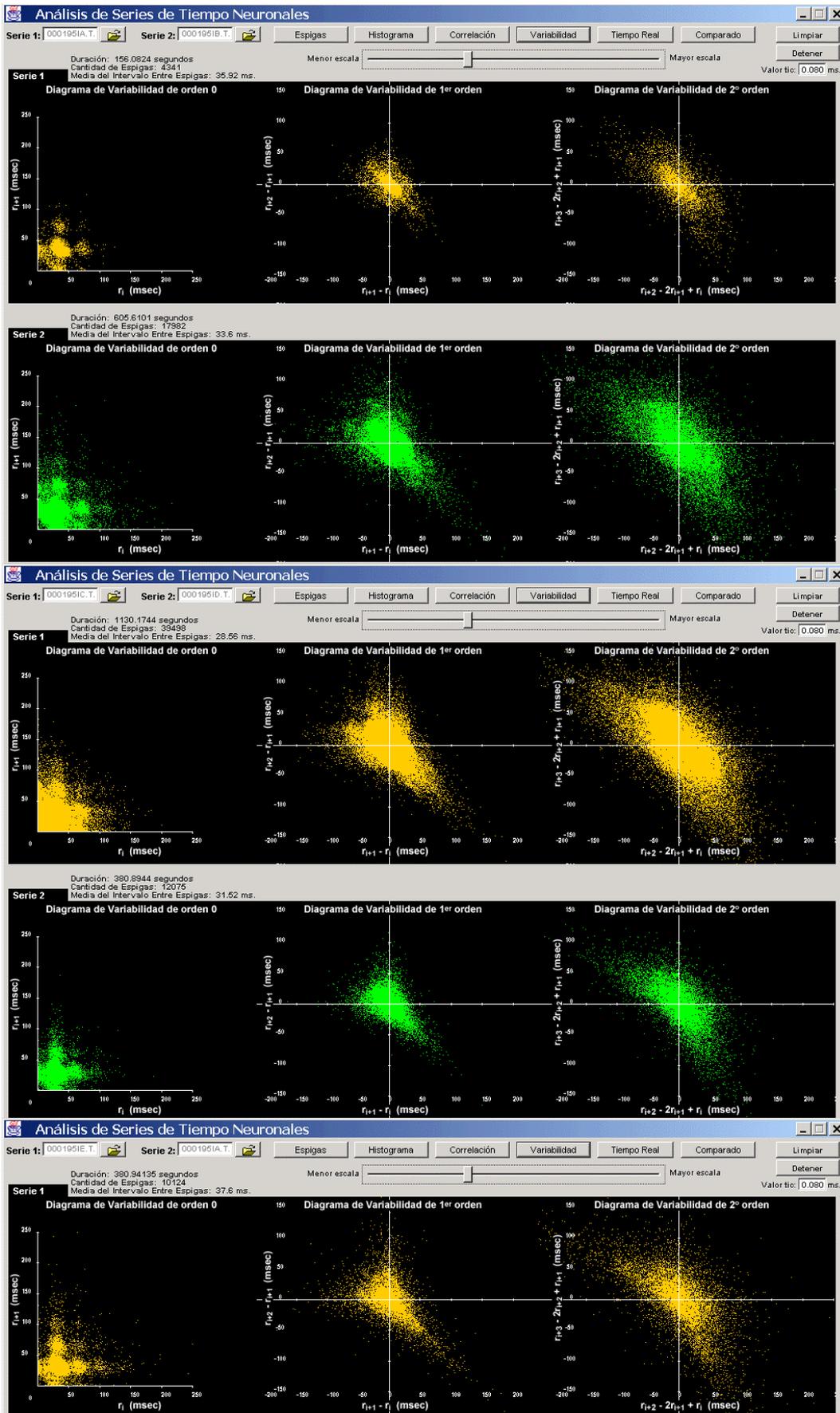


Figura 17 Diagramas de variabilidad de series farmacológicas.

## Capítulo 6.

# DetECCIÓN DE SINCRONISMO Y ANÁLISIS DE ACTIVIDAD NEURONAL EN ROEDORES CON PARKINSON INDUCIDO

Debido a las características particulares de la enfermedad de Parkinson, resulta de suma importancia el poder realizar un estudio sobre sincronismo en ciertas áreas del cerebro. Este fue uno de los motivos que nos llevo a la realización de este trabajo, implementando nuevos métodos para realizar la detección de sincronismo a través del análisis de series de tiempo neuronal. A continuación, se describe el estado actual de las investigaciones llevadas a cabo por los científicos del área de la neurofisiología en la tarea por descubrir los motivos causantes de esta enfermedad, que es cada vez más común entre la población. Posteriormente, se presentan dos métodos gráficos de tiempo real, desarrollados por nosotros, que han demostrado ser de gran utilidad en la detección de sincronismo y patrones neuronales; facilitando las tareas de investigación en el área.

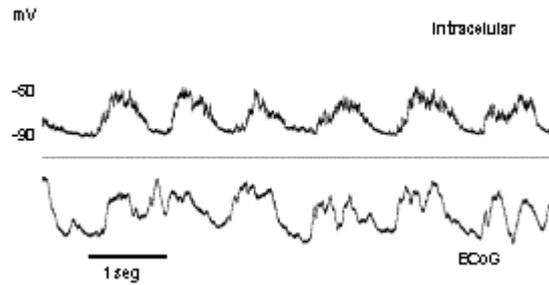
En años recientes se han caracterizado los cambios electrofisiológicos que ocurren en la SNpr, el principal núcleo de salida de los ganglios de la base de los roedores, en el modelo de parkinsonismo experimental inducido por la toxina 6-OHDA. Se ha encontrado que un porcentaje elevado (~40%) de las unidades registradas en la SNpr parkinsoniana descarga salvas de potenciales de acción (PA); detectándose sólo en alrededor del 5% de las unidades registradas en animales control [Mur/97; Tse/00]. Más recientemente se examinaron los diversos componentes frecuenciales de las señales obtenidas y observado que las salvas de PA ocurren en forma periódica, aproximadamente una vez por segundo [Tse/01]. Además, realizando registros simultáneos de la actividad electrofisiológica de dos unidades, se demostró que las descargas periódicas de PA se presentan de manera sincronizada en las neuronas de la SNpr parkinsoniana.

Registros de actividad neuronal, efectuados en monos vigiles, han demostrado la existencia de actividad periódica sincronizada en los núcleos de salida en otro difundido modelo de parkinsonismo experimental, inducido por la protoxina metil-fenil-tetrahidropiridina (MPTP) [Raz/00].

Además, los registros obtenidos durante procedimientos quirúrgicos en humanos, que sufren la enfermedad de Parkinson, también muestran la presencia de actividad periódica oscilatoria en unidades del segmento interno del globo pálido (GPi) [Mag/00].

También recientemente se encontró que las lesiones del núcleo subtalámico (NST), estructura considerada un nexo fundamental entre el estriado y los núcleos de salida (vía indirecta, ver Apéndice A), reducen la actividad periódica en la SNpr de ratas lesionadas con 6-OHDA [Tse/00]. Este resultado es consistente con observaciones recientes realizadas en cultivos organotípicos conteniendo corteza cerebral, estriado, segmento externo del globo pálido (GPe) y NST, que demuestran que las neuronas del circuito GPe-NST pueden ser reclutadas en un ritmo oscilatorio de  $\sim 1$  Hz. Por otro lado, la administración intraestriatal de agonistas de receptores para DA reduce la actividad periódica en la SNpr [Tse/00]. En conjunto, estos resultados sugieren que la actividad oscilatoria presente en la SNpr de ratas lesionadas con 6-OHDA se genera fuera de la SNpr; y que el estriado y la vía indirecta están involucrados en la expresión del patrón oscilatorio en los núcleos de salida.

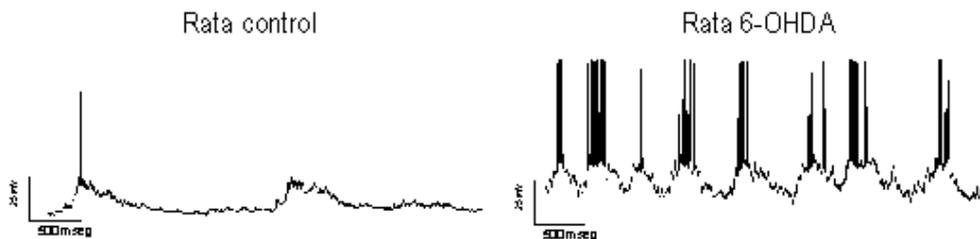
Los circuitos tálamo-corticales son candidatos evidentes como generadores de un ritmo de este tipo. La corteza cerebral de diversas especies animales (incluido el hombre) es capaz de generar actividad rítmica de  $\sim 1$  Hz. Este ritmo sería generado en la corteza misma, ya que ha sido observado en piezas aisladas de corteza cerebral *in vitro*. Experimentos que están actualmente en curso en el Laboratorio de Neurofisiología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Buenos Aires indican que, en ratas normales, las neuronas estriofugales muestran variaciones rítmicas del potencial de membrana (Vm) que están fuertemente correlacionadas con la actividad de campo registrada en la corteza cerebral (ver Fig.18). Entonces, la actividad oscilatoria lenta cortical podría ser transferida hacia los núcleos de salida a través de las vías directa o indirecta. De ser correcta esta hipótesis, esto sólo ocurriría en el estado parkinsoniano. En los animales normales el ritmo lento cortical es transferido al estriado, pero este fenómeno no parece gobernar la actividad de los núcleos de salida.



**Figura 18** Registro simultáneo de actividad de una neurona estriatal (intracelular) y otra de la corteza cerebral frontal (ECoG). La observación de la señal cruda sugiere una estrecha relación entre la actividad lenta del ECoG y las transiciones entre estados en la neurona estriatal (arriba).

Los científicos del laboratorio creen que ciertas modificaciones de la actividad de las neuronas estriatales, causadas por el déficit crónico de DA, podrían explicar por qué la actividad lenta cortical es transferida hacia los núcleos de salida sólo en los animales parkinsonianos.

Se ha demostrado que algunas neuronas estriatales están hiperactivas en el parkinsonismo experimental. Resultados preliminares de Kuei Tseng, basados en registros intracelulares, indican que la actividad de las neuronas estriatales también es rítmica en las ratas parkinsonianas y que algunas neuronas muestran una frecuencia de disparo de PA muy elevada (ver Fig. 19). Si las neuronas estriatales disparan PA a mayor frecuencia en el parkinsonismo experimental, entonces podrían transferir con mayor efectividad la actividad de la corteza hacia los núcleos de salida.



**Figura 19** Ejemplo de registros intracelulares de una rata control y una rata lesionada con 6-OHDA. La unidad de la rata control pasa menos tiempo en el estado despolarizado, y descarga PA a menor frecuencia.

Los términos ‘hiperactividad’ e ‘hipoactividad’ han sido utilizados por los investigadores en el área para hacer referencia a cambios en la frecuencia media de disparo de PA. Los mecanismos que determinan los cambios del patrón temporal de disparo en el GPi y la SNpr no han sido esclarecidos experimentalmente ni aún formulados hipotéticamente durante la elaboración de los modelos que actualmente intentan explicar la fisiopatología de la enfermedad de Parkinson. Es decir que los científicos que investigan en este área actualmente se encuentran imposibilitados para

comprender en su totalidad los mecanismos que determinan los cambios del patrón temporal de disparo en las neuronas afectadas por la enfermedad. Sin embargo, observaciones realizadas en pares de neuronas del área afectada revelaron la existencia de cierto sincronismo subyacente en la mecánica del sistema; aunque la detección del sincronismo no podía lograrse fácilmente. Este fue el problema planteado a nosotros por los investigadores del área. A continuación presentamos dos métodos gráficos de tiempo real que resuelven computacionalmente la detección de sincronismo.

## **Gráficos de descarga en tiempo real y de descarga comparado**

Los dos métodos gráficos implementados por la herramienta que facilitan la comparación en el tiempo de los aspectos relativos a la forma de descarga de cada neurona de un par son denominados en este trabajo: gráfico dinámico de la descarga en tiempo real y gráfico dinámico de descarga comparado. Estos han facilitado la tarea de los científicos en la detección de sincronismo entre neuronas. La manera aquí propuesta de muestreo en tiempo real y comparado de registros, tomados en forma simultánea, es innovadora y ha resultado muy eficaz al momento de evaluar los resultados.

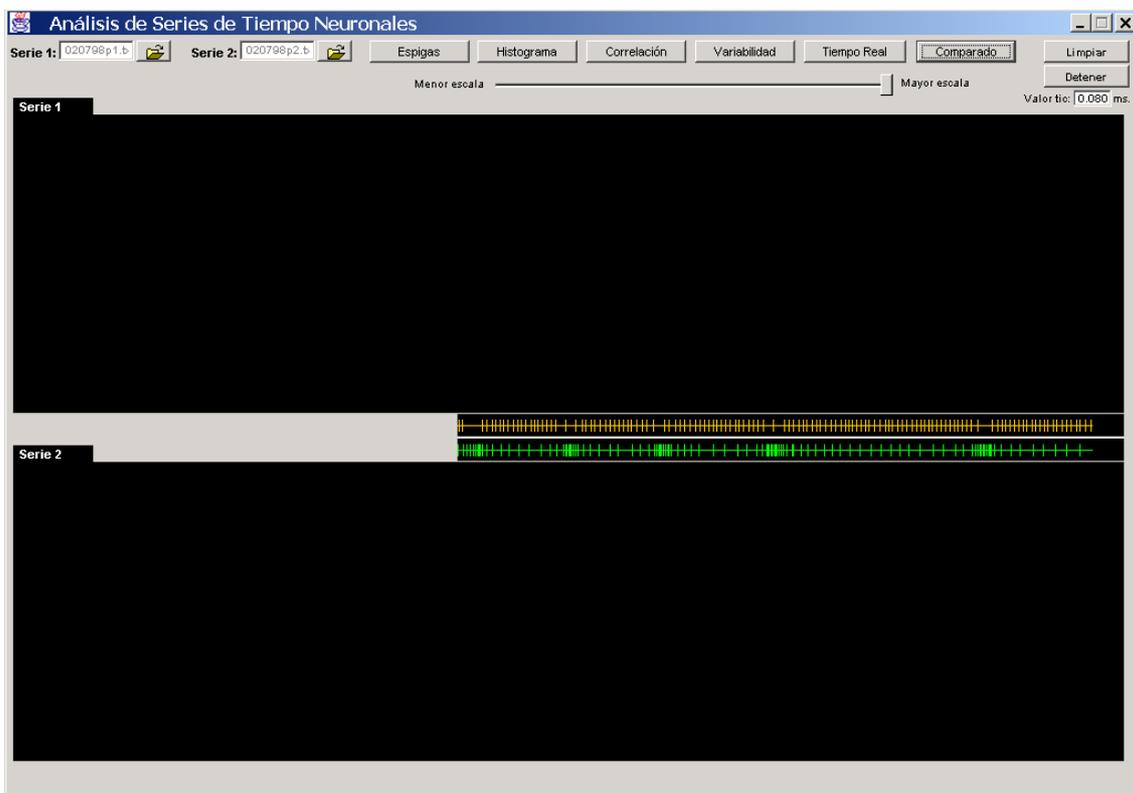
El tipo de sincronismo que comúnmente se observa entre la neuronas de la SNpr muestra modulaciones periódicas idénticas de actividad, es decir que existen descargas simultáneas de ambas neuronas. Utilizando esta herramienta se ha comprobado la existencia de un tipo de sincronismo, hasta la fecha no identificado, dentro de las unidades en la SNpr. Este lo hemos denominado como sincronismo ‘en espejo’ y es fácilmente detectable con esta herramienta; trabaja excitando o inhibiendo a una neurona del par y simultáneamente se produce la inhibición o excitación en la otra. Los posibles causantes del sincronismo en espejo se explican en detalle en el Apéndice B.

El gráfico dinámico de la descarga en tiempo real nos permite recrear la situación original al momento en que fue tomado el registro de la serie de tiempo. Es decir, si cargamos en la herramienta un par de series de tiempo que fueron registradas simultáneamente durante 120 segundos y ejecutamos el gráfico dinámico de la descarga en tiempo real, podremos observar y comparar cómo se van realizando las descargas de ambas neuronas del par. Este proceso nos permite percibir la relación de los intervalos de tiempo entre espigas tanto en el espacio (ya que a medida que transcurre el tiempo se genera el gráfico de espigas relativo a la escala

seleccionada) como en el tiempo. El proceso refleja la dinámica en tiempo real, para el caso de este par tendrá una duración de 120 segundos.

Dado que las series de tiempo neuronales fueron registradas en tics, donde un tic equivale a 0.08ms en los registros obtenidos de la SNpr incluidos en la herramienta, fue necesario realizar la conversión de tics a milisegundos para mostrar la dinámica adecuadamente. El usuario de la herramienta tiene la posibilidad de variar el valor del tic, de manera de poder trabajar con una mayor variedad de series de tiempo.

El gráfico dinámico de descarga comparado facilita la comparación entre las dinámicas, aunque no precisamente en tiempo real, pero haciendo evidente el sincronismo entre las neuronas del par en caso de existir. Ambos procesos fueron implementados utilizando Java threads, clases cuyo contenido puede ejecutarse independientemente del programa principal.



**Figura 20** Gráfico de descarga comparado en ejecución donde se aprecia claramente un sincronismo 'en espejo' entre ambas neuronas del par.

Estos gráficos de tiempo real y comparados pueden ser modificados a través de un dispositivo, aportado por la herramienta, que permite realizar un cambio en la escala temporal sobre la cual se despliegan los puntos que conforman el gráfico. Esto es importante, ya que algunas sincronizaciones se visualizan únicamente a una escala determinada.

## Capítulo 7.

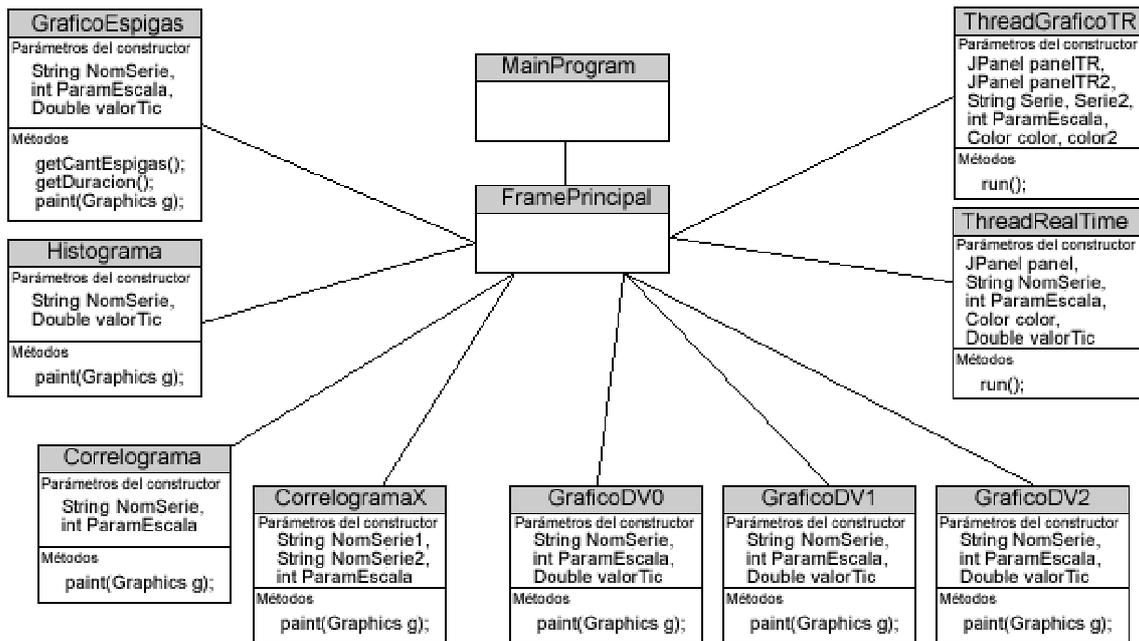
# Programa JAVA y otras aplicaciones de la herramienta

La herramienta de análisis de series de tiempo neuronales obtenida como resultado de nuestro trabajo fue desarrollada mediante un proceso de análisis, diseño e implementación. Durante el ciclo de desarrollo de la herramienta se fue interactuando constantemente con los expertos del área, de manera de poder realizar un relevamiento correcto y obtener los requerimientos del sistema.

La implementación de la herramienta fue realizada completamente en Java, respetando el paradigma de programación orientada a objetos. Todos los objetos implementados en el programa, se corresponden con los métodos gráficos que se describen a lo largo del trabajo, con excepción de los métodos de información mutua promedio y falsos vecinos próximos global que fueron utilizados de la herramienta Visual Recurrence Analysis en su versión 4.2 [Kon/99].

La compilación de los códigos fue realizada con el compilador Java incluido en Java Development Kit (JDK) versión 1.2.2. Se trabajó sobre Windows NT utilizando como plataforma de desarrollo JBuilder 3 de Borland. Todos los gráficos y algoritmos han sido codificados y no se utilizaron bibliotecas específicas adicionales.

Por otra parte, el programa desarrollado puede ser ejecutado en múltiples plataformas sin necesidad de recompilar el código; basta con disponer del ambiente de ejecución Java en su versión Java 2 Runtime Environment (JRE) adecuado para la plataforma. Este ambiente de ejecución es de distribución libre y está incluido en el JDK 1.2.2 que puede ser descargado de <http://java.sun.com/products/jdk/1.2/index.html> . De cualquier manera, el JDK 1.2.2 para Windows esta incluido en el disco que acompaña este trabajo y se instala automáticamente junto con la herramienta.



**Figura 21** Este es un diagrama de clases simplificado de la herramienta donde se observa la estructura básica de las clases que colaboran entre sí, de manera de satisfacer los requerimientos del usuario.

## Requerimientos del sistema

Para instalar y utilizar la herramienta es necesario lo siguiente:

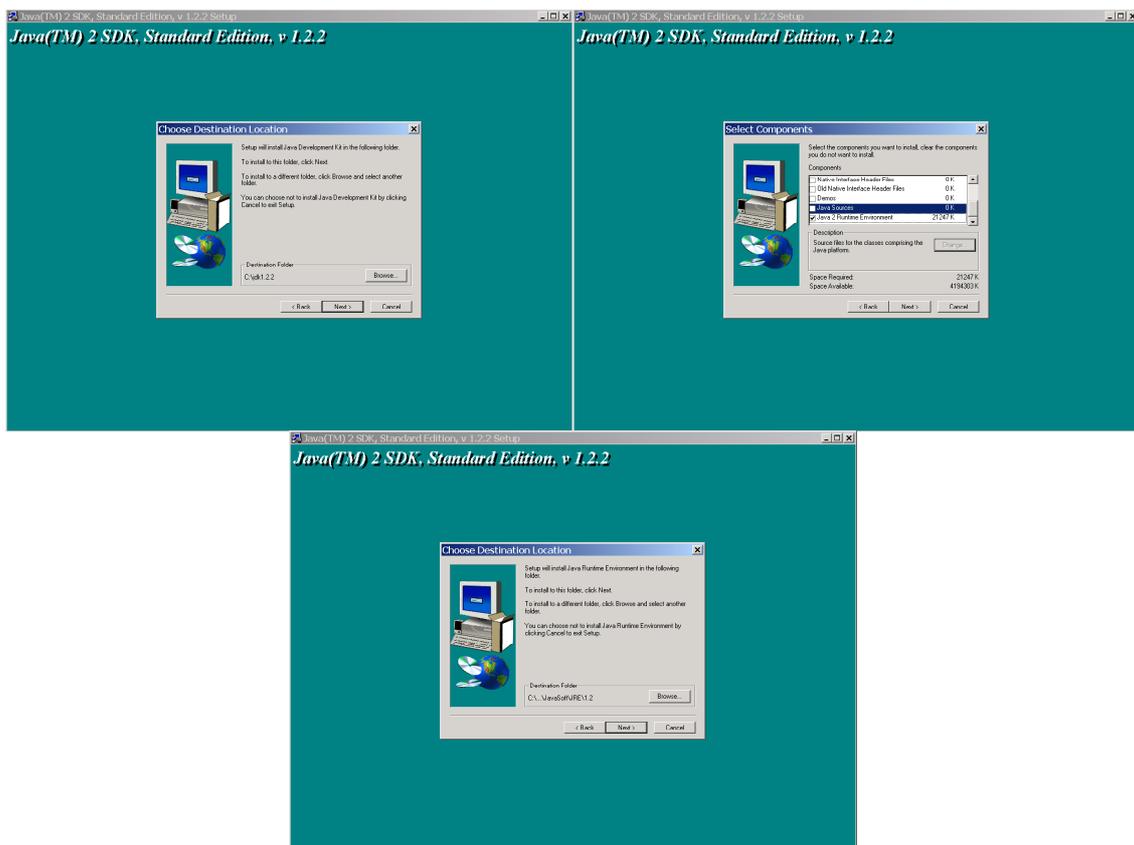
- Computador personal con procesador Pentium o mayor
- Microsoft Windows 95/98/NT/2000
- Mínimo 8 Mb de memoria RAM (32Mb recomendados)
- Disco rígido con 1 Mb de espacio libre
- Monitor de resolución SVGA o mayor. La placa de video debe configurarse en resolución 1024 x 768.

## Instalación

La herramienta de análisis de series de tiempo neuronales que hemos desarrollado está incluida en el disco que acompaña este trabajo. Además, es posible descargarla desde <http://www.web-solution.com.ar/Patricio>; allí se encontrará un archivo en formato pdf con este trabajo escrito y la herramienta en formato zip para ser descomprimida e instalada.

Para instalar la aplicación basta con ejecutar el archivo *instalar.bat*; este proceso comienza instalando el kit de desarrollo Java JDK 1.2.2 que

incluye JRE 1.2, ambos se deben instalar en los directorios que se ofrecen por default (C:\jdk1.2.2 y C:\...\JavaSoft\JRE\1.2). El JDK 1.2.2 incluye algunos componentes como Demos, Código fuente, etc..., que pueden no instalarse. Solo es necesario marcar la opción de “Java 2 Runtime Environment” para poder utilizar la herramienta. El resto de la aplicación se instala automáticamente en el directorio C:\AnálisisNeuronal.



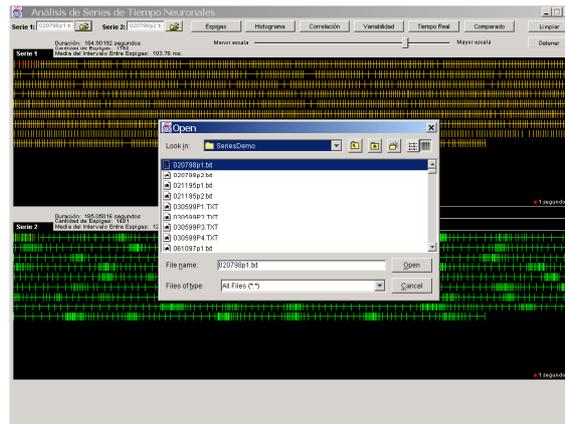
**Figura 22** Durante el proceso de instalación es importante respetar los directorios del JDK e incluir la instalación del Java 2 Runtime Environment; para esto basta con seguir las opciones ofrecidas por default.

## Interfase de la herramienta

Durante el relevamiento de los requerimientos del sistema surgió la necesidad de generar una única herramienta que concentrase los métodos clásicos de estudio de series neuronales, con una interfase clara. Y teniendo en cuenta que el análisis de series de tiempo es una tarea importante en diversas áreas de la ciencia, en este trabajo interdisciplinario se ha puesto especial atención en el diseño de una interfase simple y clara, a fin de que

la herramienta sea fácilmente utilizable por toda persona que desee experimentar con este tipo de análisis.

Al abrir una serie de tiempo, el programa se posiciona automáticamente en el directorio C:\AnálisisNeuronal\SeriesDemo; allí es donde se copiaron las series durante la instalación. El usuario tiene la posibilidad de navegar por todos sus discos en caso de poseer series para analizar que han sido almacenadas en otros directorios.

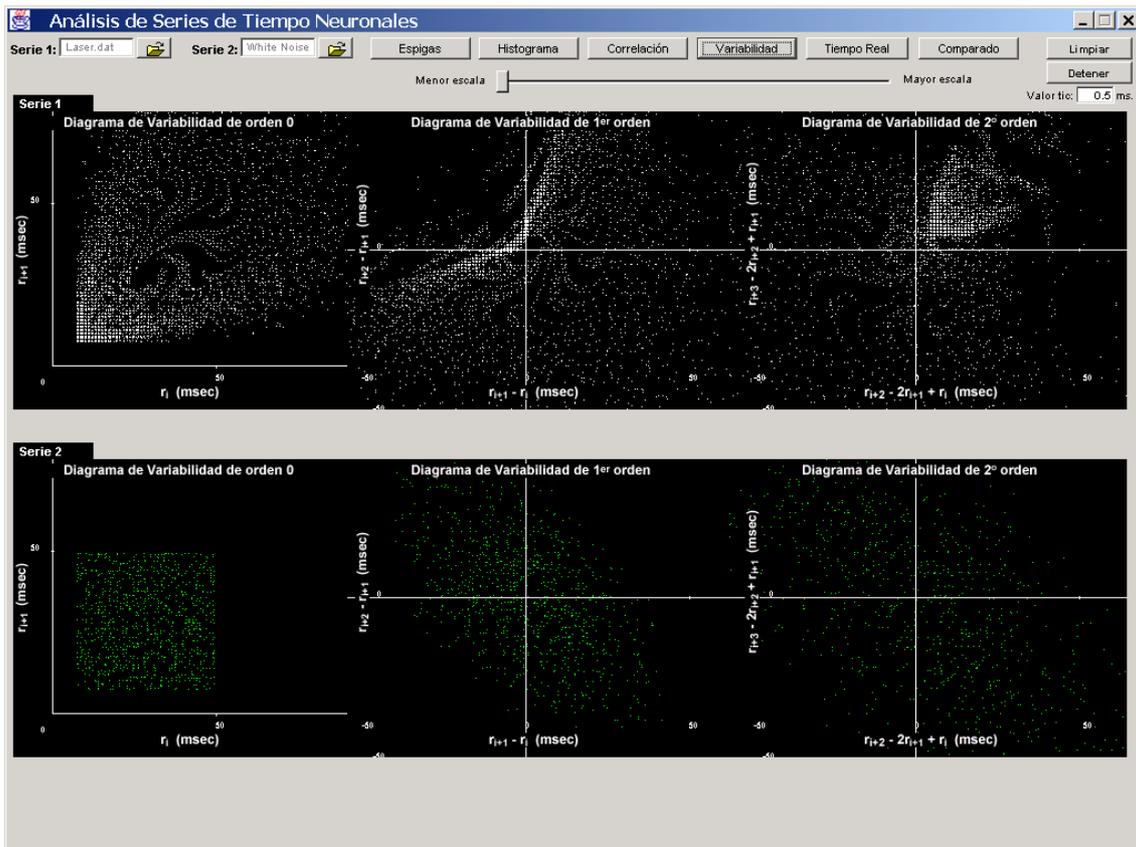


**Figura 23** La interfase simple y clara permite que la herramienta sea utilizada por personas que deseen hacer análisis de series de tiempo sin necesidad de que sean expertos en el área.

## Utilización de la herramienta en otras áreas de la ciencia

Se ha realizado una flexibilización en el proceso de lectura de los datos de la serie de tiempo, de manera de poder analizar distintos formatos de series de distintos sistemas naturales o experimentales. Con lo cual la herramienta puede ser utilizada en un amplio rango de aplicaciones tales como predicción, control del caos, detección de patrones escondidos o determinismo en sistemas.

Entre las series de tiempo neuronales, que se incluyen en la instalación de la herramienta, se han agregado algunas otras series cuyo análisis resulta interesante y da noción de la variedad de aplicaciones posibles. Laser.dat y Dow Jones.dat son series de tiempo de sistemas reales donde se representan las fluctuaciones de intensidad de un láser infrarrojo de largo alcance y las fluctuaciones del precio promedio de acciones del cierre semanal desde 01/01/1900 al 03/08/1996 del indicador Dow Jones (4977 observaciones) respectivamente.



**Figura 24** La utilización de la herramienta para el análisis de fluctuaciones en la intensidad de un láser infrarrojo de largo alcance reveló claros indicios de determinismo en la dinámica subyacente del sistema. En la parte inferior, se observan los diagramas de variabilidad pertenecientes a una serie de ruido blanco.

Entre las posibles aplicaciones, el control del caos es seguramente una de las áreas más interesantes que conciernen a la teoría de los sistemas dinámicos. La idea surgió hace algunos años pero ya existe una lista considerable de experimentos donde el control del caos se ha aplicado exitosamente. Algunos ejemplos incluyen sistemas de control de láser, químicos y mecánicos, entre otros. Asimismo, algunos científicos han comprobado que estos mismos mecanismos no lineales también son aplicables al control de sistemas biológicos como el corazón o el cerebro. En la actualidad se están haciendo grandes avances en la implantación de marcapasos neuronales que estabilizan la actividad neuronal en personas afectadas por el mal de Parkinson logrando excelentes resultados. Hasta ahora no se tiene conocimiento de intentos exitosos en controlar los mercados.

## Capítulo 8.

# Conclusiones

Interesado en el caos determinístico y geometría fractal mis investigaciones me llevaron al estudio y análisis de series de tiempo. En esta tesis se ha realizado un trabajo completo de investigación y análisis de series de tiempo neuronales; además se ha generado una herramienta donde se implementan varios métodos gráficos y algoritmos en términos de la dinámica no lineal. La herramienta está orientada a detectar el determinismo (patrones subyacentes) y el sincronismo existente en la dinámica neuronal, para permitir realizar algún tipo de diagnósticos con respecto a los registros analizados.

Este trabajo fue realizado en respuesta al problema planteado por los investigadores del Laboratorio de Neurofisiología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Buenos Aires, sobre la dificultad para detectar sincronismo entre neuronas afectadas por el mal de Parkinson. Avanzando en este sentido, se realiza un trabajo de análisis mediante el desarrollo de una herramienta capaz de resolver computacionalmente este problema y clarificar aspectos relevantes al estudio de la dinámica neuronal.

En primera instancia utilizamos distintos métodos lineales y no lineales de inspección visual de los datos como *gráficos de espigas e histogramas* para obtener una primer idea acerca de la forma de descarga de la neurona. Los *autocorrelogramas* generados para las frecuencias bajas como para las altas nos permitieron bucear en la señal en busca de ritmos oscilatorios en la frecuencia de disparo. A través de *correlogramas cruzados* obtuvimos información sobre la posibilidad de sincronismo entre pares de series de tiempo que fueron registrados simultáneamente sobre neuronas distintas.

Decidimos continuar nuestra investigación con la teoría de los sistemas dinámicos e intentamos generar el atractor que describe la dinámica original de la neurona. El teorema de Takens garantiza que aplicando el método de delays sobre las mediciones de la serie de tiempo se puede reconstruir la dinámica original en el espacio de las fases. Mediante este método entonces decidimos reconstruir el vector de estados en el espacio de las fases. La implementación más recomendada por la bibliografía del método esta dada por los algoritmos de *average mutual information* y

*global false nearest neighbors*; estos fueron los procesos que utilizamos para la estimación del tiempo de retardo y la dimensión de embedding. Desafortunadamente las series de tiempo de intervalos, donde justamente el tiempo es el dato relevante, provocan una redundancia que es interpretada como ruido por los algoritmos destinados a estimar la dimensión de embedding. Este fue el caso al aplicar el algoritmo de falsos vecinos próximos global sobre las series de tiempo de intervalos entre espigas.

Innovando en el estudio de la dinámica neuronal decidimos utilizar el método gráfico de *diagramas de variabilidad* que previamente había sido utilizado con éxito en el análisis de series de tiempo cardiacas que fueron registradas mediante electrocardiogramas. Este método eficaz para realizar un estudio rápido cuantitativo y cualitativo de la dinámica subyacente en una serie de tiempo no lineal también resultó útil al realizar un análisis farmacológico del efecto causado por distintas drogas sobre la actividad neuronal.

Finalmente, hemos implementado los *gráficos de descarga en tiempo real* y de *descarga comparado* para facilitar la comparación en el tiempo de las descargas de un par registros de neuronas que fueron tomados en forma simultanea. Esta característica de la herramienta ha resultado reveladora, descubriendo un tipo de sincronismo aún no detectado por los científicos del laboratorio que trabajan sobre enfermedad de Parkinson.

A través de todo el ciclo de vida de este proyecto se fue interactuando con los expertos del área de la neurofisiología, de manera de poder cubrir las necesidades computacionales del laboratorio y sugerir nuevas formas de inspección y análisis de los datos. El objetivo de desarrollar una herramienta orientada al análisis de series de tiempo neuronales donde se reúnan los distintos métodos tradicionales de estudio de series no lineales, con una interfase simple y claridad en la forma de mostrar la información se ha cumplido.

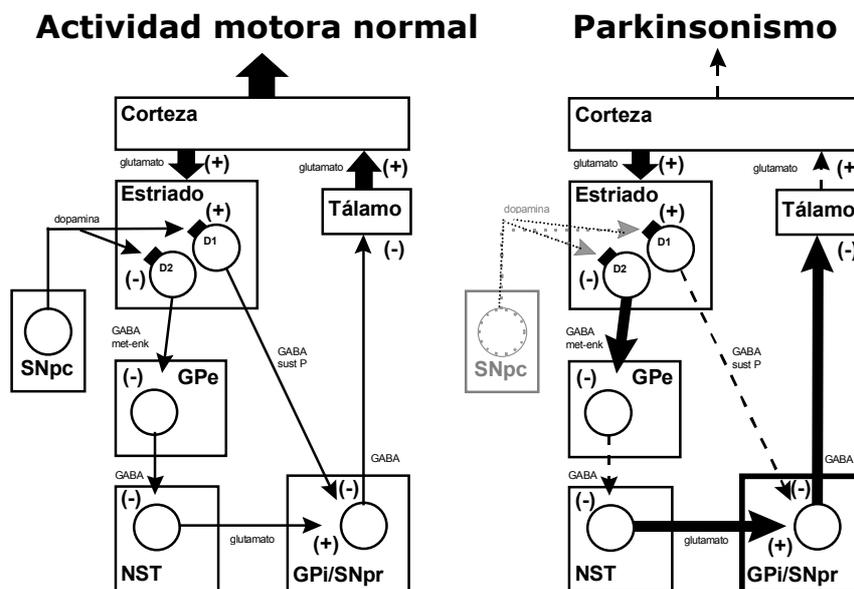
A lo largo del desarrollo de la herramienta, hemos propuesto distintos métodos gráficos para facilitar la tarea de detección de patrones y sincronismo. Algunos de los métodos gráficos que no habían sido utilizados previamente en esta área, revelaron un comportamiento en la dinámica del sistema, que lo denominamos sincronismo en espejo, que aún no había sido detectado por los investigadores. Con lo cual demostramos que fue posible dar una respuesta computacional concreta a los problemas planteados por neurobiólogos.

La detección de patrones y sincronismo en sistemas dinámicos a partir del análisis de series de tiempo, es un área abierta a la investigación. Queda así constituida una base para futuras investigaciones basadas en el análisis de series de tiempo tanto en el área de la neurofisiología como en otras ciencias.

## Apéndice A

# Modelo experimental de Parkinson

El modelo anátomo-funcional más difundido en la actualidad, asume que el estriado influye sobre los ‘núcleos de salida’ (substancia negra pars reticulada -SNpr- y segmento interno del globo pálido -GPi-) a través de dos vías, llamadas *directa* e *indirecta*. La primera consiste en una proyección de una subpoblación de neuronas estriatales que expresan el receptor D1 para DA y los neurotransmisores GABA y sustancia P, dirigida hacia la SNpr y el GPi. La vía indirecta consiste en una proyección de otro grupo de neuronas estriatales que expresan el receptor D2 para DA y los neurotransmisores GABA y met-enkefalina, hacia el segmento externo del globo pálido (GPe). Las neuronas GABAérgicas del GPe proyectan sus axones sobre el núcleo subtalámico (NST), que a su vez inerva la SNpr y el GPi (Fig. A.1). El NST ejerce un potente efecto excitatorio tónico sobre las neuronas de la SNpr y el GPi, mediado por el neurotransmisor glutamato.



**Figura A.1** A la izquierda, organización anátomo-funcional de los ganglios de la base, de acuerdo con el modelo más aceptado actualmente. A la derecha, cambios derivados de la pérdida de las neuronas dopaminérgicas de la SNpc. El aumento de actividad a nivel del NST y los núcleos de salida determinaría una inhibición de los circuitos motores tálamo-corticales.

La evidencia que sostiene la existencia de una segregación de los receptores de tipo D1 y D2 en diferentes poblaciones de neuronas estriofugales fue provista inicialmente por Gerfen en 1990, quien observó

que el ARNm que codifica al receptor D1 se colocaliza con la sustancia P en las neuronas estriofugales que proyectan a la SNpr, mientras el ARNm del receptor D2 está presente en las neuronas estriofugales que proyectan al GPe y expresan metencefalina. Gerfen observó, además, que la expresión de sustancia P y metencefalina en neuronas estriatales es modulada de manera selectiva por los agonistas D1 y D2, en sentidos que sugerían un efecto excitador del receptor D1 sobre las neuronas estriatales y un efecto inhibitorio del receptor D2 sobre las neuronas estriofugales que proyectan al GPe. Así, en la rata lesionada con 6-hidroxidopamina (6-OHDA), que es el modelo experimental más difundido de parkinsonismo [Ung/71], la expresión del ARNm de sustancia P está disminuida y la del ARNm de metencefalina aumentada, siendo estos cambios revertidos selectivamente por agonistas de los receptores D1 y D2 respectivamente [Ger/90]. Debemos destacar que este modelo es experimental ya que la enfermedad de Parkinson no existe naturalmente en los animales.

Siguiendo este modelo, la falta de DA a nivel estriatal determinaría una hiperactividad de las neuronas de la SNpr y el GPi, a través de dos mecanismos paralelos i) una actividad reducida de la vía inhibitoria directa, y ii) un aumento de actividad del NST.

Los datos más significativos que sustentan este esquema general de organización anátomo-funcional son:

- i) La existencia de hiperactividad electrofisiológica en el NST en modelos animales de parkinsonismo (definida como un aumento de la frecuencia media de disparo de potenciales de acción) [Mil/88].
- ii) La importante mejoría ‘clínica’ observada después de la destrucción o ‘inactivación funcional’ del NST en modelos animales de parkinsonismo y en humanos que sufren la enfermedad [Ber/90; Lim/97].

En años recientes, diversos laboratorios exploraron una serie de predicciones que se desprenden del esquema fisiopatológico descrito precedentemente y pusieron de manifiesto ciertas contradicciones y falencias: i) los datos electrofisiológicos que muestran una hiperactividad de los núcleos de salida en el parkinsonismo no son concluyentes; varios estudios recientes [Mur/97; Raz/00] muestran que la frecuencia media de descarga en los núcleos de salida de animales parkinsonianos no difiere de la de los controles; ii) datos recientes sugieren fuertemente la existencia de un grado significativo de colocalización de receptores para DA de las familias D1 y D2 en neuronas estriofugales [Aiz/00]; iii) la estimulación de

receptores D1 es capaz de incrementar la excitabilidad de neuronas estriatales únicamente en condiciones experimentales particulares, *in vitro*; la mayor parte de la evidencia electrofisiológica disponible obtenida *in vivo* e *in vitro* sugiere un efecto inhibitorio del receptor D1 sobre neuronas estriatales; iv) diversas conexiones anatómicas reconocidas han sido obviadas sin motivo aparente en la concepción del modelo; entre las más importantes cabe mencionar la proyección del GPe hacia la SNpr y el GPi, la del NST dirigida al GPe y los colaterales de las neuronas estriofugales de la vía directa que alcanzan al GPe.

## Glosario de términos médicos

**Dopamina:** un mensajero químico, deficiente en los cerebros de los pacientes de la enfermedad de Parkinson, que transmite impulsos de un nervio de una célula nerviosa a otra.

**Enfermedad de Alzheimer:** causa más frecuente de demencia tanto en el período presenil (convencionalmente hasta los 65 años) como en el senil: es la más importante de todas las enfermedades degenerativas dada su frecuencia y naturaleza.

**Ganglios basales:** Conjunto de núcleos cerebrales (globo pálido, neoestriado, sustancia negra) que intervienen en la regulación de los movimientos corporales.

**Neuronas dopaminérgicas:** Neuronas que utilizan la dopamina como neurotransmisor.

**Neuronas GABAérgicas:** Neuronas que sintetizan y liberan el neurotransmisor inhibitorio ácido amino-butírico o GABA, e.g., las neuronas de GPe, GPi y SNr.

**Neuronas glutamatérgicas:** Neuronas que sintetizan y liberan el neurotransmisor excitatorio ácido glutámico o glutamato, e.g., algunas neuronas talámicas.

**Sustancia nigra:** un centro de control de movimiento en el cerebro donde la pérdida de células nerviosas productoras de dopamina desencadena los síntomas de la enfermedad de Parkinson; sustancia nigra significa "sustancia negra", llamada así porque las células en este área tienen un color oscuro.

## Apéndice B

# Interpretación de registros

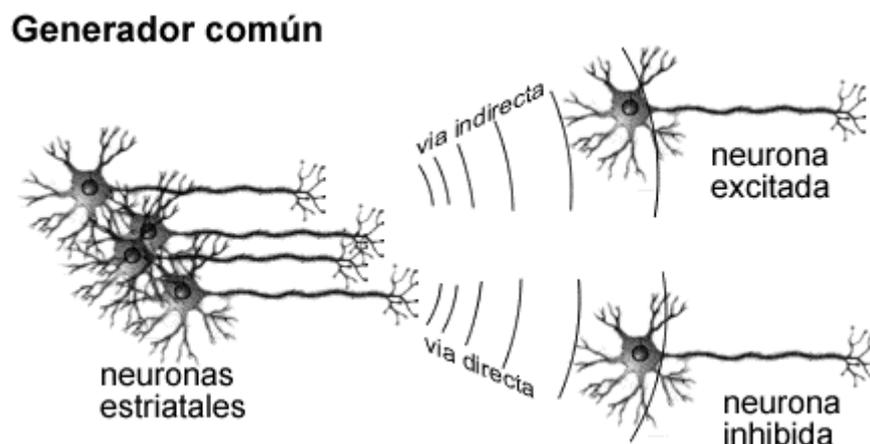
A continuación se describen a modo de ejemplo la interpretación de algunos pares de registros sincronizados que fueron detectados con la herramienta y se explican los posible causantes del sincronismo.

Los pares de registros empleados fueron obtenidos en forma simultánea en la SNpr y son de tipo extracelular.

### Pares 020798, par38:

Las dos neuronas muestran cambios ‘en espejo’ periódicos de actividad. Esto podría ser causado por:

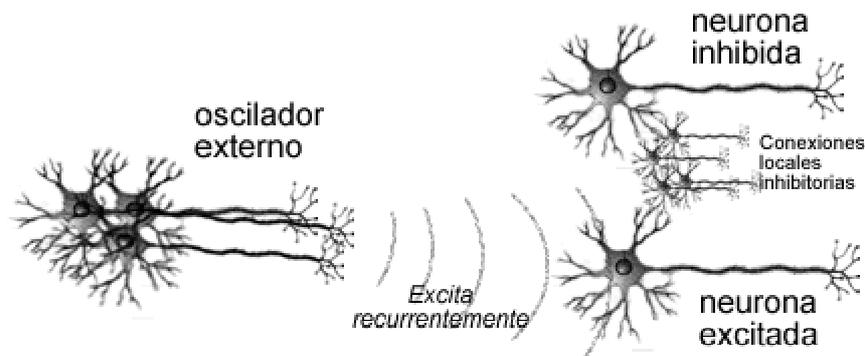
- A. Un mismo generador común las gobierna a ambas, pero excita a una e inhibe a la otra; si el ritmo es transferido desde el estriado hacia la SNpr por la vía directa, cuando descargan las células estriatales inhibirían a las de la SNpr; en cambio si el ritmo es transferido del estriado hacia la SNpr por la vía indirecta, cuando descargan las neuronas estriatales las de la SNpr se excitarían.



**Figura B.1** Generador común como posible causa de sincronismo en espejo.

- B. La neurona de la SNpr que muestra salvas es gobernada por un oscilador externo que la excita recurrentemente e inhibe a la otra neurona de la SNpr, a través de conexiones locales inhibitorias.

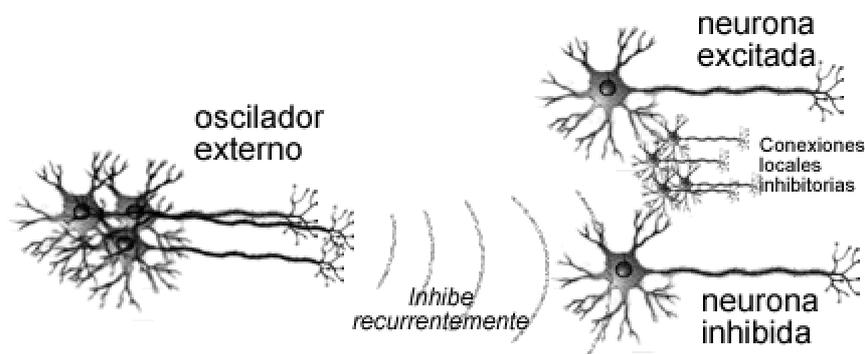
**Oscilador externo excita una neurona y esta inhibe a la otra**



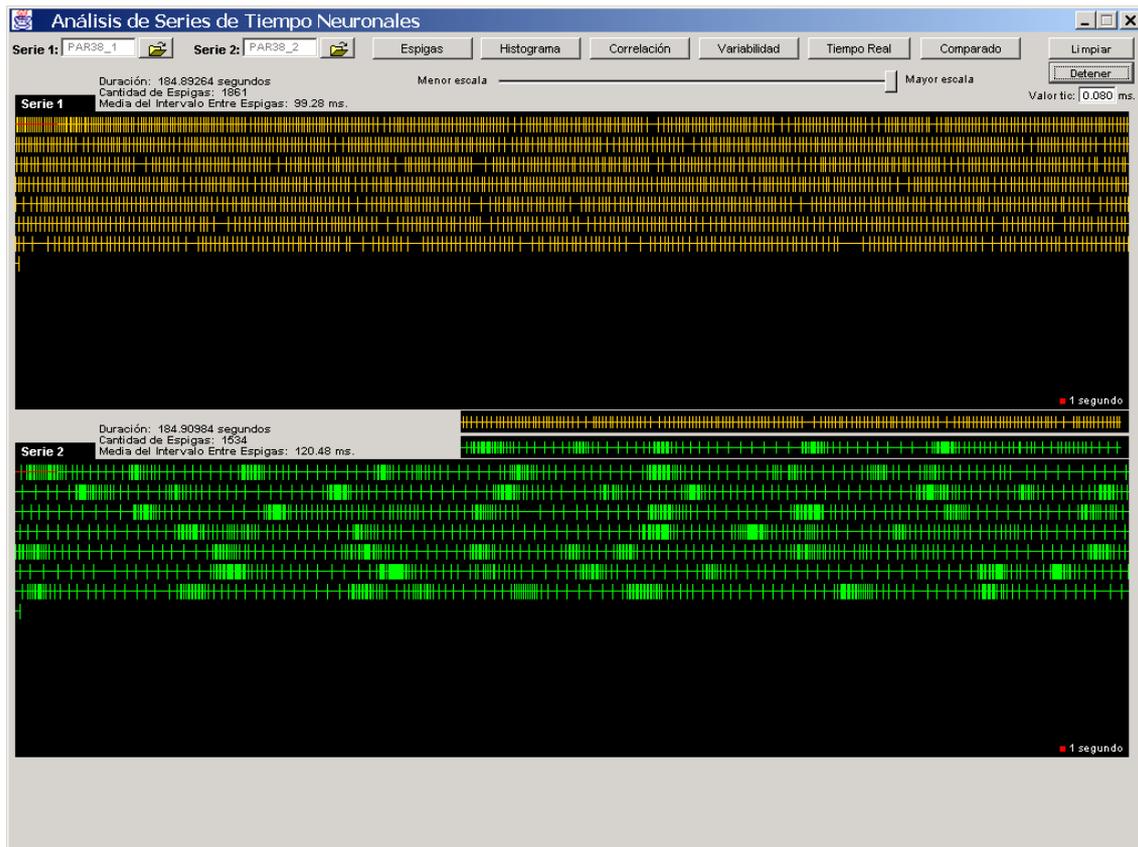
**Figura B.2** Un oscilador externo excita una neurona de la SNpr, ésta inhibe a la otra, a través de las conexiones locales causando un sincronismo en espejo.

- C. Las neuronas de la SNpr se encuentran bajo un tono excitatorio constante. La neurona de la SNpr que muestra silencios es influida por un oscilador externo que la inhibe recurrentemente, y esto desinhibe a la otra neurona de la SNpr, ya que éstas neuronas se conectan entre sí a través de colaterales locales inhibitorias.

**Oscilador externo inhibe una neurona y esta desinhibe a la otra**



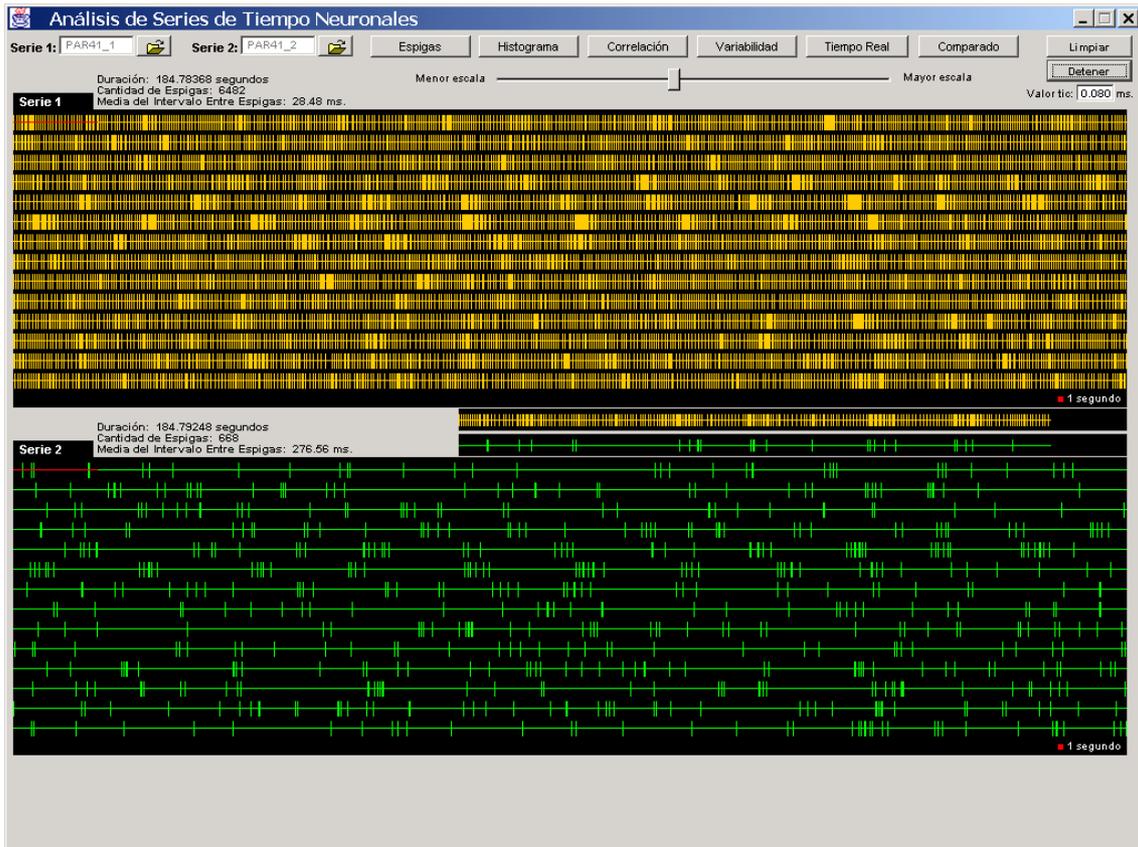
**Figura B.3** Un oscilador externo inhibe una neurona de la SNpr que se encuentra bajo tono excitatorio, esta excita a otra neurona causando sincronismo en espejo.



**Figura B.4** Gráfico de descarga comparado en ejecución, para las series del par38.

### **Pares 021195, 250598, par41:**

Las neuronas registradas simultáneamente en la SNpr muestran modulaciones periódicas idénticas de actividad. Las consideraciones anteriores son extendibles a estos pares, suponiendo que las dos neuronas corresponden a una misma clase y no están conectadas localmente a través de colaterales.



**Figura B.5** Gráfico de descarga comparado en ejecución, para las series del par41.

## Apéndice C

# Listado de programas

En esta sección se incluyen algunos de los códigos correspondientes a algunos de los algoritmos mencionados en el trabajo. Ninguno de los programas debe ser interpretado o utilizado como una rutina de caja negra, sino que, para su correcta implementación, se deben tomar las precauciones necesarias para el caso. En el disco que acompaña el trabajo se encuentran los códigos fuentes. Aquí únicamente se incluyen la estructuras básicas, de modo que los usuarios de la herramienta puedan tener una mejor comprensión de cada uno de los métodos utilizados a lo largo de este trabajo de análisis de series de tiempo neuronales. Todos las implementaciones a continuación fueron realizadas en Java.

### C.1 Autocorrelograma

La siguiente es una implementación para generar el gráfico de autocorrelación de la serie de tiempo:

```
// Generación los valores del Autocorrelograma para 500 bins.
// -----

// La sumatoria del dividendo de la formula no depende del bin actual,
// es una constante, entonces calculo este valor por única vez.
SumaC0 = 0;
for (int i=0;i<=N;i++) {
    SumaC0 = SumaC0 + ((ArraySerie[i] - media) * (ArraySerie[i] - media));
}

for (int h=0;h<=500;h++) {
    SumaCH = 0;
    for (int i=0;i<=N-h;i++) {
        SumaCH = SumaCH + ((ArraySerie[i] - media) * (ArraySerie[i+h] - media));
    }

    double RH = (SumaCH / SumaC0);
    AUTOCORRELOGRAMA[h] = RH;
}
```

## C.2 Correlograma Cruzado

La siguiente es una implementación para generar el gráfico de correlación cruzada para un par de series de tiempo:

```
// Generación de los valores del Correlograma Cruzado para 1000 bins.
// En este punto las series fueron filtradas por el bin correspondiente
// a la frecuencia que estamos analizando
// -----

//Armo los valores constantes de la fórmula de correlación cruzada
//estos valores son calculados por única vez.
double SumaC0X = 0;
for (int i=0;i<=N;i++) {
    SumaC0X = SumaC0X + ((ArraySerie[i] - media) * (ArraySerie[i] - media));
}

double SumaC0Y = 0;
for (int i=0;i<=N2;i++) {
    SumaC0Y = SumaC0Y + ((ArraySerie2[i] - media2)*(ArraySerie2[i] - media2));
}
double C0 = Math.sqrt(SumaC0X+SumaC0Y);

//Correlograma Cruzado del centro hacia la Derecha
//-----
for (int h=0;h<=500;h++) {
    SumaCH = 0;
    for (int i=0;i<=N2-h;i++) {
        SumaCH = SumaCH + ((ArraySerie[i] - media)*(ArraySerie2[i+h] - media2));
    }

    double RH = (SumaCH / C0);
    CROSSCORRELOGRAMA [500+h] = RH;
}

//Correlograma Cruzado del centro hacia la Izquierda
//-----
for (int h=0;h<=500;h++) {
    SumaCH = 0;
    for (int i=h;i<=N;i++) {
        SumaCH = SumaCH + ((ArraySerie[i] - media)*(ArraySerie2[i-h] - media2));
    }

    double RH = (SumaCH / C0);
    CROSSCORRELOGRAMA[500-h] = RH;
}
```

### C.3 Diagramas de Variabilidad

Implementación del método gráfico de diagramas de variabilidad para generar un gráfico de 2 dimensiones que represente la correlación local existente ente valores sucesivos de la serie de tiempo.

Diagrama de variabilidad de orden cero:

```
public void paint(Graphics g) {
valorRi = ArraySerie[n]; n=n+1;
while ( ArraySerie[n]>0 ) {
    valorRimas1 = ArraySerie[n]; n=n+1;
    g.drawLine(valorRi, valorRimas1, valorRi, valorRimas1);
    valorRi = valorRimas1;
}
}
```

Diagrama de variabilidad de primer orden:

```
public void paint(Graphics g) {
valorRi = ArraySerie[n]; n=n+1;
valorRimas1 = ArraySerie[n]; n=n+1;
while ( ArraySerie[n]>0 ) {
    valorRimas2 = ArraySerie[n]; n=n+1;
    g.drawLine((valorRimas1-valorRi), (valorRimas2-valorRimas1),
        (valorRimas1-valorRi), (valorRimas2-valorRimas1));
    valorRi = valorRimas1;
    valorRimas1 = valorRimas2;
}
}
```

Diagrama de variabilidad de segundo orden:

```
public void paint(Graphics g) {
valorRi = ArraySerie[n]; n=n+1;
valorRimas1 = ArraySerie[n]; n=n+1;
valorRimas2 = ArraySerie[n]; n=n+1;
while ( ArraySerie[n]>0 ) {
    valorRimas3 = ArraySerie[n]; n=n+1;
    g.drawLine(
(valorRimas2-2*valorRimas1+valorRi), (valorRimas3-2*valorRimas2+valorRimas1),
(valorRimas2-2*valorRimas1+valorRi), (valorRimas3-2*valorRimas2+valorRimas1));
    valorRi = valorRimas1;
    valorRimas1 = valorRimas2;
    valorRimas2 = valorRimas3;
}
}
```

# Bibliografía

- [Aba/96] H.D.I. Abarbanel. “*Analysis of Observed Chaotic Data*”. Institute of nonlinear science. Springer. 1996.
- [Aiz/00] O. Aizman, H. Brismar, P. Uhlén, E. Zettergren, A. Levey, A. Eklöf, H. Forssberg, P. Greengard, A. Aperia “*Anatomical and physiological evidence for colocalization of neostriatal D1 and D2 dopamine receptors*”. *Nature Neurosci.* 3:226-230. 2000.
- [Bab/96] A. Babloyantz, P. Maurer. “*A graphical representation of local correlations in time series – Assessment of cardiac dynamics*”. *Physics Letters A* 221 (1996) 43-55. Elsevier Science. 1996.
- [Bla/95] S. Blanco, H. García, R. Quián Quiroga, L. Romanelli, O. Rosso. “*Stationarity of EEG series*”. *IEEE Eng. in Med. and Biol.* 14, 395. 1995.
- [Ber/90] H. Bergman, T. Wichmann, M. DeLong. “*Reversal of experimental parkinsonism by lesion of the subthalamic nucleus*”. *Science.* 249; 1436-38. 1990.
- [Car/57] A. Carlsson, M. Lindquist, T. Magnusson “*Dihydroxyphenylalanine and 6-hydroxytryptophan as reserpine antagonist*”. *Nature.* 180:1200-1. 1957.
- [Fra/86] A. Fraser, H. Swinney. “*Independent coordinates for strange attractors from mutual information*”. *Physical Review A,* 33:1143-1140. 1986.
- [Ger/90] C. R. Gerfen, T. M. Engber, L. C. Mahan, Z. Susel, T. N. Chase, F. J. Monsma, Jr., D. R. Sibley. “*D1 and D2 Dopamine Receptor-Regulated Gene Expression of Striatonigral and Striatopallidal Neurons*”. *Science.* December 7, 1990.
- [Hor/66] O. Hornykiewicz. “*Dopamine and brain function*”. *Pharmacol Rev.* 18:925-964. 1966.
- [Kan/97] H. Kantz, T. Schreiber. “*Nonlinear Time Series Analysis*”. Cambridge Nonlinear Science Series 7. Cambridge. 1997.
- [Ken/92] M. B. Kennel, R. Brown, and H.D.I. Abarbanel. “*Determining minimum embedding dimension using a geometrical construction*”. *Physical Review A,* 45:3403-3411, 1992.
- [Kon/99] E. Kononov. “*Visual Recurrence Analysis (VRA) v4.2*”. <http://pw1.netcom.com/~eugenek/download.html> . 1999.

- [Let/98] C. Letellier, J. Maquet, L. Le Sceller, G. Gouesbet, L. Aguirre. "On the non-equivalence of observables in phase-space reconstructions from recorded time series". IOP Publishing Ltd. 1998.
- [Lim/97] P Limousin, J Greene, P Pollak, J Rothwell, AL Benabid, R Frackowiak. "Changes in cerebral activity pattern due to subthalamic nucleus or internal pallidum stimulation in Parkinson's Disease". Ann Neurol. 42: 283-291. 1997.
- [Loz/98] A. Lozano, A. Lang. "Parkinson's disease". N Engl J Med. 339(16):1130-43. 1998.
- [Mag/00] M Magnin, A. Morel, D. Jeanmonod. "Single-unit analysis of the pallidum, thalamus and subthalamic nucleus in parkinsonian patients". Neuroscience; 96:549-564. 2000.
- [Man/97] B. Mandelbrot. "La Geometría Fractal de la Naturaleza". Metatemas 49. Tusquets. 1997.
- [Mau/97] P. Maurer, H. Wang, A. Babloyantz. "Time structure of chaotic attractors: A graphical view". Physical Review E Volume 56, number 1. The American Physical Society. 1997.
- [Mil/88] W.C. Miller, M.R. DeLong. "Parkinsonian symptomatology, an anatomical and physiological analysis". Ann NY Acad Sci, 515:287--302, 1998.
- [Mur/97] G. Murer, G. Dziewczapoiski, Y. Agid, O. Gershanik, Raisman-Vozari. "Absence of neurotoxicity of chronic L-DOPA treatment in 6-hydroxydopamine lesioned rats". Neuroreport. 8: 975-79. 1997.
- [Raz/00] A. Raz, E. Vaadia, H. Bergman. "AFiring patterns and correlations of spontaneous discharge of pallidal neurons in the normal and the tremulos 1-metill-4phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine vervet model of parkinosnism". J. Neurosci. 20: 8559-71. 2000.
- [Sha/48] Shannon, C. E. "A mathematical theory of communication". AT&T Bell Labs. Tech. J. 27: 379-423. 1948.
- [Tak/81] F. Takens, "Detecting strange attractors in turbulence". Dynamical Systems and Turbulence. Lecture Notes in Mathematics. No. 898, 366-381, Springer-Verlag. 1981.
- [Tei/97] M.C. Teich, C. Heneghan, S.B. Lowen. "Estimatring the Fractal Exponent of Point Proceses in Biological Systems". 1997.

- [Tse/00] J. Tseng, J. Bensadoun, N. Déglon, J. Ridet, A. Zurn, P. Aebischer “*The lentiviral vector as a gene delivery system in the mouse CNS: cellular and behavioural improvements in a 6-OHDA model of Parkinson’s disease using GDNF.*” *Exp. Neurol.* 164:15-24. 2000.
- [Tse/01] K. Tseng, F. Kasanetz, L. Kargieman, J. Pazo, G. Murer, L. Riquelme. “*Subthalamic nucleus lesions reduce low frequency oscillatory firing of substantia nigra pars reticulata neurons in a rat model of Parkinson’s disease*”. *Brain research.* Elsevier Science. 2001.
- [Ung/71] U. Ungerstedt. “*Adipsia and aphagia after 6-hydroxydopamine induced degeneration of the nigrostriatal dopamine system*”. *Acta Physiol Sca Suppl.* 367:95-122. 1971.
- [Wic/96] T. Wichmann, M.DeLong.“*Functional and pathophysiological models of the basal ganglia*”. *Curr Opin Neurobiol.* 6: 751-758. 1996.