

**Clasificación de Espigas Extracelulares
Basada en la Transformada de Wavelet
Discreta**

**Tesis Entregada a la Universidad de Chile
en cumplimiento parcial de los requisitos
para optar al grado de Magister en
Biofísica Médica Facultad de Ciencias**

Por

Pamela Weber Pezoa

Octubre 2002

Director de Tesis: Dr. Juan Carlos Letelier P.

INFORME DE APROBACIÓN .	1
..	3
Agradecimientos .	5
1. Resumen .	7
Abstract . .	9
2. Introducción .	11
2.1. Clasificación de espigas .	11
2.1.1. Criterios de clasificación de espigas . .	14
2.1.2. Registros multiunitarios con electrodos múltiples .	17
2.2. Análisis de wavelets .	18
2.2.1. DWT: ecuaciones básicas . .	19
2.2.2. Interpretación de coeficientes DWT: un ejemplo concreto .	23
2.3. WSC: un nuevo método para clasificar espigas . .	30
2.3.1. Fundamentación teórica . .	30
2.3.2. Objetivos de la tesis . .	31
3. Métodos . .	33
3.1. Comparación del método WSC con PCA y RFS .	33
3.1.1. Implementación del método WSC .	33
3.1.2. Implementación de PCA y RFS .	35
3.1.3. Tren de espigas artificiales . .	35
3.1.4. Clasificación por observadores inexpertos .	37
3.2. Implementación del método WSC en datos reales . .	39
4. Resultados .	43
4.1. Comparación de métodos de clasificación WSC, RFS y PCA en tren de espigas artificial .	43
4.1.1. Agrupación en proyecciones 2-D: Matrices de Clasificación .	43
4.1.2. Indicadores de errores de clasificación .	48

4.2. Método WSC en datos reales .	49
5. Discusión .	53
5.1. Análisis de resultados . .	54
5.2. Potencial de Desarrollo del Método . .	56
6. Conclusiones .	61
7. Bibliografía .	63
8. Anexos . .	67
Anexo A. Procesamiento digital de señales .	67
A.1. Digitalización .	68
A.2. Transformadas lineales invertibles . .	70
A.3. Energía . .	72
A.4. Análisis de frecuencia, Transformada de Fourier . .	72
A.5. Análisis frecuencia-tiempo, STFT .	77
A.6. Análisis wavelet .	80
A.7. Transformada de wavelet discreta . .	84
Anexo B. Publicación del Método WSC .	86
Anexo C. Aplicación de Método WSC En Tesis de Doctorado . .	86
Anexo D. Lista de Abreviaciones .	87

INFORME DE APROBACIÓN

TESIS DE MAGISTER

Se informa a la Escuela de Postgrado de la Facultad de Ciencias que la Tesis de Magister presentada por la candidata

Pamela Weber Pezoa

ha sido aprobada por la Comisión de Evaluación de la tesis como requisito para optar al grado de Magister en Biofísica Médica, en el examen de Defensa de Tesis rendido el día _____ de _____ del año 2002.

Director de Tesis:

Dr. Juan Carlos Letelier P.

Comisión de Evaluación de la Tesis

Dr. Osvaldo Álvarez

Dr. Jaime Roessler

Dr. Ennio Vivaldi

Dedicatoria a mis padres, mi familia, y a mi familia extendida

Agradecimientos

A Juan Carlos Letelier, por su inquebrantable paciencia y su entusiasmo virulento;

a todos los integrantes del Laboratorio de Neurobiología y Biología del Conocer, excepcionales representantes del espíritu científico;

a los impulsores del Programa de Magister en Biofísica Médica, por su visión de futuro;

a Jaime Roessler, por su capacidad de flexibilizar un intelecto esclerosado;

a Carmen Cáceres, por su capacidad de escuchar;

a mi madre, por su capacidad de cambiar.

1. Resumen

La clasificación de potenciales de acción generados por las neuronas es un problema complejo y recurrente en el análisis de datos neuroeléctricos. Los métodos de clasificación actuales se basan en escoger parámetros de clasificación que representen las características de cada espiga con un número reducido de coeficientes.

Esta tesis propone utilizar los coeficientes de la transformada de wavelet discreta (DWT) como parámetros de clasificación. Los coeficientes DWT son ortogonales, de cómputo rápido y cuantifican componentes localizados de frecuencia. La eficiencia de la clasificación basada en coeficientes DWT (*wavelet-based spike classification* WSC) de las espigas fue comparada con resultados obtenidos con coeficientes de análisis de componentes principales (PCA) y un método de reconocimiento de patrones publicado como método RFS (*reduced feature set*).

En un tren de datos artificial ruidoso, el método WSC demostró mayor capacidad para discriminar entre espigas muy similares que los métodos PCA y RFS. Estos resultados fueron publicados en el *Journal of Neuroscience Methods*. También se mostró la utilidad del método WSC analizando trenes de espigas multiunitarios ruidosos registrados en tectum de paloma.

Se discuten las ventajas del uso del método WSC sobre el PCA y el RFS. Se analiza la actual implementación del método WSC, y se proponen mejoras importantes, basándose en los avances más modernos de la adquisición y análisis de registros neuroeléctricos.

Abstract

Classification of action potentials generated by neurons constitutes a complex and recurring problem in neuroelectric data analysis. Current classification methods are based on the selection of sorting parameters that represent all relevant spike features in a reduced number of coefficients.

This thesis uses discrete wavelet transform (DWT) coefficients as spike sorting parameters. DWT coefficients are orthogonal and quantify frequency components that are localized in time. A fast computing algorithm is available and easy to implement. The objective is to compare performance of wavelet-based spike classification (WSC) with preexisting methods, that include principal components analysis (PCA) and reduced feature set (RFS).

The WSC method outperformed PCA and RFS in a set of extremely similar artificial spikes, inserted in a noisy artificial spike train. These results were published in 2000 in the *Journal of Neuroscience Methods* by Letelier & Weber. This thesis also evaluates the performance of the WSC method in noisy multiunit spike trains obtained in pigeon tectum.

The advantages of the WSC method over PCA and RFS are analyzed, as well as the actual software implementation of the method. The discussion includes future improvements based on the most recent developments in neuroelectric data acquisition and analysis.

2. Introducción

2.1. Clasificación de espigas

La clasificación de espigas extracelulares ^{1 *)} es un problema importante en neurofisiología, y aún no se encuentra solución "estándar". Durante un registro extracelular en tejido nervioso, los microelectrodos suelen registrar potenciales de acción generados por más de una neurona vecina (actividad multiunitaria, Figura 2-1) (Lewicki 1998, Schmidt 1984a, Schmidt 1984b, Mitra & Fee 1998). Para extraer la actividad de neuronas aisladas –actividad unitaria– de estos registros multiunitarios, se requiere primero precisar el número exacto de neuronas registradas. Luego se debe determinar qué espiga fue generada por cada una de ellas.

En los inicios del registro neuroeléctrico se desarrollaron sofisticadas técnicas para obtener registros unitarios, i.e. de neuronas aisladas (Humphrey 1979, Nicholson 1979, Lewicki 1998). Estas técnicas requieren de considerable destreza por parte del experimentador y el uso de microelectrodos de registro particularmente finos. Esta solución tiene varios problemas: Al disminuir el diámetro de la punta, aumenta la resistencia y por ende el ruido generado por el electrodo (Schmidt 1984a). Además, en

^{1 *)} Una espiga extracelular se define como el potencial, variable en el tiempo, que se registra en el campo extracelular de una neurona durante uno de sus potenciales de acción (Humphrey 1979).

muchas regiones corticales la densidad de neuronas es tal que incluso con microelectrodos de gran impedancia resulta casi imposible obtener registros unitarios. Por tanto, en las últimas décadas se ha desarrollado una variada gama de métodos para obtener la actividad de neuronas aisladas a partir de los registros multiunitarios, más sencillos de obtener (Schmidt 1984a, Schmidt 1984b, Lewicki 1998). Estos métodos son imprescindibles durante una adquisición con electrodos múltiples (tétodos, arrays de microelectrodos).

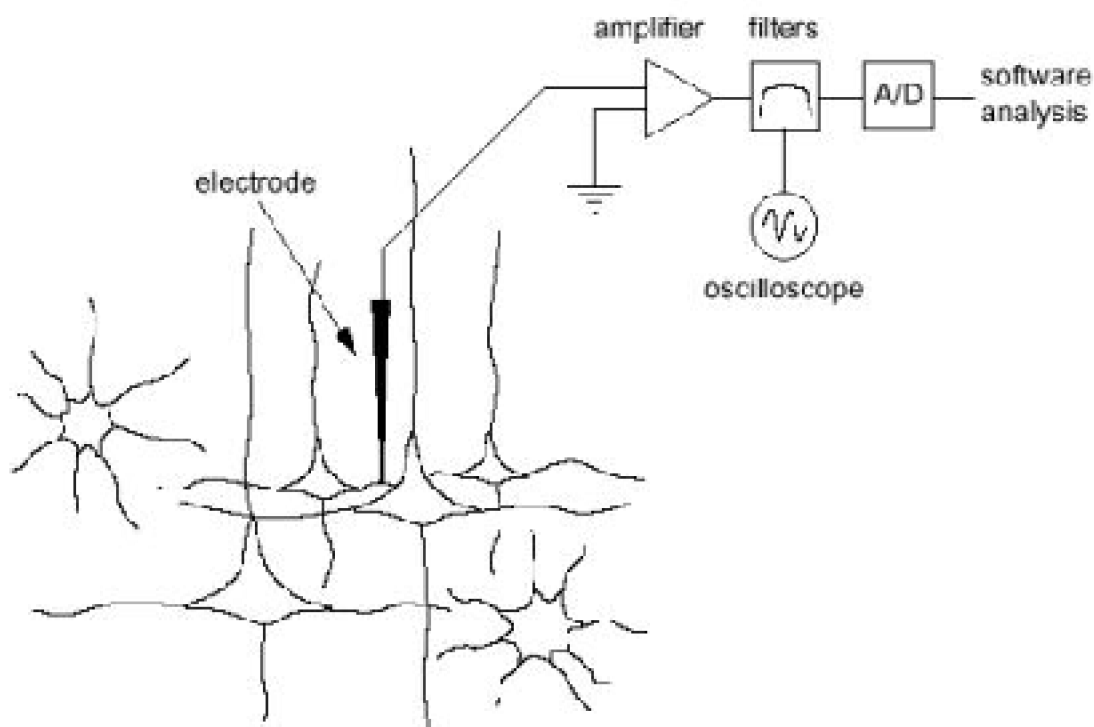


Figure 1. The basic set-up for measuring and analysing extracellular neural signals.

Figura 2-1. Registro extracelular en tejido nervioso (esquematación del hardware) (Fig. 1 de Lewicki, 1998) El microelectrodo de registro se sitúa cerca de los cuerpos celulares de las neuronas blanco. La señal eléctrica es preamplificada y filtrada por hardware, luego digitalizada (convertor análogo-digital A/D). Un osciloscopio permite visualizar las espigas durante la adquisición de datos, y estimar el número y las formas de las espigas registradas. El análisis posterior se efectúa por software (Tabla 2-1), ya sea a tiempo real o diferido.

Un registro multiunitario también tiene ventajas adicionales: permite estudiar un mayor número de neuronas en un mismo registro (Gray y col. 1995), y permite comparar y correlacionar la actividad simultánea de neuronas vecinas (Bar-Gad y col. 2001, Gerstein & Kirkland 2001). El estudio de la actividad eléctrica cerebral es necesariamente el estudio de la interacción eléctrica de poblaciones de neuronas (Nicholson 1979). Registros multiunitarios permiten analizar estas interacciones con una resolución espacial imposible de lograr con registros unitarios.

Todos los métodos de clasificación se basan en dos supuestos básicos (Schmidt 1984a, Schmidt 1984b, Lewicki 1998):

1.- El perfil temporal de la actividad eléctrica de una neurona (específicamente, cualquier fuente de potencial de acción) se mantiene constante, tanto en amplitud como en forma, a lo largo de todo el registro.

2.- El microelectrodo registra la actividad de cada neurona como espiga (i.e. amplitud de corriente o voltaje en el tiempo) con un perfil característico. Existe alta probabilidad que diferentes neuronas generan espigas de perfil diferente.

Estos supuestos rigen los protocolos básicos de clasificación de espigas (Tabla 2-1). La mayoría de estos métodos permiten un cierto porcentaje (típicamente del orden de 5%) de variación de amplitud de espigas provenientes de una misma fuente. Incluso así, en muchos registros estos supuestos no se cumplen (Schmidt 1984a, Fee y col. 1996), sobre todo cuando se trata de registros de larga duración. Ruido de gran amplitud, espigas extremadamente similares, superposiciones, y variaciones lentas de los parámetros en los cuales se basa la clasificación, son los problemas principales con los que se enfrentan los clasificadores de espigas actuales (Tabla 2-2).

Tabla 2-1. Protocolo básico de software de clasificación de espigas

1. adquisición y preprocesamiento del tren de espigas
digitalización
remoción de línea base y filtrado por software
2. detección y extracción de espigas
criterio de detección
criterio de posición (centrado o "tiempo cero")
número de muestras por espiga
3. cómputo de parámetros de clasificación
cálculo de parámetros:
cuantificación de parámetros característicos (<i>features</i>), o bien
espigas tipo (<i>templates</i>)
criterios de selección de coeficientes para clasificación (reducción de dimensionalidad)
4. agrupación o <i>clustering</i>
agrupación en interfase gráfica basada en parámetros de clasificación
presentación de resultados: control de calidad
5. presentación de resultados finales
pertenencia a clases de las espigas detectadas
frecuencia de descarga por neurona

TABLA 2-2. Problemas típicos en la clasificación de espigas

RUIDO
- inevitable, aleatorio, en gran parte irremovible
- componentes: eléctrico (ruido Johnson del electrodo, interferencias), biológico (actividad eléctrica del entorno), y otros
- enmascara diferencias entre espigas muy similares
- contribuye a subdetección de número de neuronas, por tanto tazas de descarga elevadas/neurona
SUPERPOSICIÓN
- tiempo entre descargas de dos neuronas < duración de primera espiga
- perfiles temporales de las espigas se sobreponen parcial o completamente
- perfil de superposición frecuentemente asignado a clase que no corresponde
- frecuentemente excluidas del análisis posterior
- contribuye a subdetección de número de espigas/neurona, por tanto tazas de descarga disminuidas
VARIACIÓN DE CRITERIOS DE CLASIFICACIÓN
- especialmente en registros largos (varios minutos)
- cambios paulatinos en amplitud y forma de las espigas debidos a:
- desplazamientos (<i>drift</i>) del electrodo en el tejido
- agotamiento de neurotransmisores por descargas en ráfaga (<i>burst</i>), o tazas de descarga altas y sostenidas
- otros factores inmanejables (Fee y col, 1996)

En consecuencia, actualmente la eficiencia de los clasificadores de espigas dependen en gran medida de los criterios de clasificación que cuantifican las variaciones en las formas de las espigas, y que permiten determinar qué parte de estas variaciones se debe a ruido o superposiciones, y qué parte entrega información biológicamente significativa.

Esta tesis propone un novedoso conjunto de parámetros de clasificación, los coeficientes DWT (transformada de wavelet discreta). Para entender la trascendencia de esta idea, hay que explicar los diversos parámetros de clasificación de espigas y algunos elementos del análisis de wavelet.

2.1.1. Criterios de clasificación de espigas

La forma y amplitud de las espigas dependen de muchos factores (Humphrey 1979). La relación analítica más confiable y utilizada es que la amplitud de la espiga decrece con el cubo de la distancia entre la punta del electrodo y la membrana que generó el potencial de acción (Schmidt 1984a).

Se agregan como factores: el material del microelectrodo y el tamaño de su punta (Humphrey 1979); el tipo de célula, su tamaño y geometría, y qué porción de su membrana celular generó el potencial de acción; estados de activación de los canales de iones, características del medio extracelular entre neurona y microelectrodo. Todos estos parámetros, y posiblemente otros, influyen decisivamente en tamaño, polaridad y forma de la espiga (Humphrey 1979, Nicholson 1979, Lewicki 1998, Gur y col. 1999).

En una primera aproximación, si se mantiene fijo el microelectrodo de registro, se puede postular que la geometría de la adquisición (posición relativa de la punta del electrodo con respecto a la célula) y la fisiología de la membrana generadora no variarán significativamente durante la adquisición. Partiendo de este supuesto, es razonable suponer que el perfil temporal de las espigas se mantendría constante a lo largo del registro. Además, se suele suponer que células distintas generarán espigas que probablemente se distinguen en amplitud y/o forma. Estos dos supuestos: forma constante para una misma célula, y formas diferentes para células distintas, constituyen la base de la gran mayoría de métodos de clasificación de espigas (Schmidt 1984a, Schmidt 1984b, Lewicki 1998). Imponen un enfoque de reconocimiento de patrones, ya que se busca un conjunto de criterios (patrones de forma) que:

- agrupen en una misma "clase" las espigas de perfil temporal similar como provenientes de una misma neurona, y
- asignen espigas provenientes de células distintas a clases diferentes

Los primeros intentos de clasificar las espigas de registros multiunitarios datan de mediados del 1950, y utilizaban circuitos detectores de nivel (voltaje) para detectar la ocurrencia de una espiga, y para clasificar la espiga según excediera o no una amplitud determinada (Schmidt 1984a). Posteriormente se implementaron métodos de ventanas de amplitud y detectores de cruces de nivel. Circuitos que cuantificaran los intervalos temporales entre tales cruces de nivel agregaban información de "duración" en el tiempo. Combinaciones de "amplitudes" y "duraciones" en rangos ajustables caracterizan las espigas en una gran variedad de discriminadores de espigas por hardware bastante eficientes y rápidos (Schmidt 1984a).

Paralelamente, desde los años 60 se comenzaron a utilizar los primeros métodos computacionales en registros digitalizados (Schmidt 1984b). Se guarda un número determinado de muestras –y el tiempo al cual fueron tomadas– para cada espiga en un medio digital –ej. disco duro– y se analiza, generalmente a tiempo diferido (*offline*). Si bien todos ellos siguen el protocolo básico descrito en la Tabla 2-1, esencialmente, los métodos de separación de espigas por computadoras digitales se dividen en métodos de *template matching*, y métodos de *feature extraction* (Fee y col. 1996, Harris y col. 2000, Bar-Gad y col. 2001).

Template matching (ajuste a patrones)

Los métodos de *template matching* ("ajuste a patrones") fueron los primeros y datan desde los años 60. En base a un subconjunto representativo de espigas registradas, se calcula un pequeño número de "espigas patrón" o *template*. Cada espiga patrón representa el perfil temporal de las espigas de una única neuronas. En una segunda etapa, las espigas del registro son comparadas con estas espigas patrón. La clasificación consiste en usar algún criterio de similitud (ej. *mean square difference* o diferencia cuadrada media) para agrupar en una misma "clase" las espigas que se parezcan a una misma espiga patrón (Schmidt 1984a).

Feature extraction (extracción de rasgos o características)

Los métodos del *template matching*, por lo general, usan el 50-100% de las muestras

de una espiga. En cambio, los métodos de *feature extraction* consisten en extraer del perfil temporal la información relevante para la clasificación en forma de un pequeño número de parámetros numéricos que cumplan con (Lewicki 1998):

- tener valores similares para espigas de igual forma y amplitud
- tener valores claramente diferentes para espigas de forma distinta

De esta manera, el gran número de muestras por espiga (típicamente 30-100 valores) queda reducido a unos pocos (típicamente 2-8) parámetros de clasificación, lo cual constituye una compresión importante (al 5-10%) de la información. Estos parámetros pueden ser un conjunto selecto (5-10%) de valores amplitud/tiempo (RFS^{2 *}, Sarna y col. 1988, Salganicoff y col. 1988), o bien pueden ser coeficientes calculados a partir de las muestras de cada espiga, por ejemplo, PCA^{3 **} (Lewicki 1998) o WSC^{4 ***} (Letelier & Weber 2000).

Los métodos basados en *feature extraction* no requieren determinar *a priori* perfiles de espigas característicos (espigas patrón). Ello compensa el mayor requerimiento de cálculos para computar los parámetros de clasificación de cada espiga detectada. Los métodos de *feature extraction* tienen por lo general la ventaja de ser más resistentes a ruido que los métodos de *template matching*, y de dar mejores resultados cuando los perfiles de las espigas son parecidos (Lewicki 1998).

Para efectos de clasificación (ver nº 4 de la Tabla 2-1), es usual presentar las espigas como puntos en un sistema de coordenadas n -dimensional formado por n parámetros de clasificación. Espigas provenientes de una misma neurona forman "nubes" en este sistema de coordenadas, que pueden ser delimitadas gráficamente en algunas de las $n(n-1)/2$ proyecciones bidimensionales del espacio n -dimensional. Este procedimiento se conoce por *feature clustering*.

El método de *feature extraction* más frecuentemente utilizado es el Análisis de Componentes Principales (PCA, Lewicki 1998). Cuando se cumplen los dos supuestos básicos de la clasificación, y en ausencia de superposiciones, el PCA es extremadamente resistente al ruido aleatorio, especialmente de alta frecuencia. Esta estabilidad es una característica común de la mayoría de los métodos de *feature clustering* que les da una ventaja importante sobre los métodos de clasificación por amplitud o de *template matching*. Sin embargo, el PCA tiene grandes problemas con las superposiciones y cuando dos fuentes diferentes generan espigas de perfiles muy similares, cuyas diferencias están

^{2 *} RFS: *reduced feature set*. Conjunto reducido de muestras amplitud/tiempo se utilizan como criterios de clasificación de espigas.

^{3 **} PCA: *principal component analysis*. Análisis de componentes principales. Herramienta matemática comúnmente usada para representar conjuntos de datos en función de sus rasgos más representativos, o "componentes principales". Estos componentes corresponden a los vectores propios de la matriz de datos. Los valores propios asociados se llaman "coeficientes principales" o coeficientes PCA.

^{4 ***} WSC: *wavelet-based spike classification*. Clasificación de espigas basada en coeficientes de wavelets. Método desarrollado en el curso de este trabajo de tesis.

enmascaradas por el ruido (Wood & McCarthy 1984, Lewicki 1998). Esta tesis propone un conjunto de parámetros de clasificación más eficientes que los parámetros del PCA.

2.1.2. Registros multiunitarios con electrodos múltiples

Los electrodos múltiples –stereotrodos, tétrodos (Gray y *col.* 1995), *arrays* de 64, 128 o más electrodos (Gerstein & Kirkland 2001, Lewicki 1998)– se introdujeron como una manera de asegurarse que la actividad eléctrica de células diferentes se registre como espigas claramente distinguibles. El tétrodo consiste en juntar cuatro electrodos en una misma pipeta, que registran cada potencial de acción por cuatro canales aislados. Los *arrays* de multielectrodos permiten registrar la actividad de algunos centímetros cuadrados de corteza a través de cientos de electrodos. Las distancias entre estos electrodos múltiples son suficientemente pequeñas como para que un potencial de acción genere una espiga en varios canales, y suficientemente grandes como para que estas espigas tengan amplitud (y forma) diferentes entre los canales. De esta forma, los electrodos múltiples permiten discriminar las neuronas por localización espacial (Lewicki 1998).

Si bien la clasificación mediante ventanas de amplitud en registros de multielectrodos tienen por lo general un rendimiento y una sensibilidad mucho mayor para la clasificación que en los registros de electrodos únicos, la mayoría de estos registros requieren un método adicional de clasificación. Tradicionalmente se efectúa un PCA multidimensional de los datos de todos los canales para lograr una clasificación más confiable (Gerstein & Kirkland 2001, Musial y *col.* 2002). Pero incluso así, hay registros de electrodos múltiples en que el PCA no logra detectar más que una fracción de las células registradas (Hulata y *col.* 2002).

Después de considerar todas estas circunstancias parece apropiado buscar parámetros de clasificación que suplan los problemas del PCA, manteniendo sus ventajas. Las características deseables serían: rapidez de cómputo, ortogonalidad^{5 *)}, compresión del perfil en pocos parámetros.

A estas características del PCA habría que agregarle características que no cumple el PCA: independencia del set de datos, y posiblemente una cierta relación intuitiva entre forma de la espiga, fisiología de la célula, y valor del parámetro de clasificación. Así la clasificación sería en base de parámetros más intuitivos, y no en base a parámetros puramente matemáticos como los coeficientes de componentes principales.

Se proponen los coeficientes wavelet como parámetros de clasificación. Estos coeficientes wavelet ofrecen todas las características enumeradas. Dado que el análisis de wavelet es un método poco difundido en la comunidad científica nacional y recién se está introduciendo en la literatura biomédica internacional, lo que sigue a continuación es una pequeña introducción al análisis de wavelet. El objetivo de esta introducción es

^{5 *)} ortogonalidad: propiedad matemática que se explica con mayor detalle en el **Anexo A1**. Dos vectores o funciones son ortogonales si el producto punto entre ellos es nulo. Vectores o funciones ortogonales son linealmente independientes. La ortogonalidad de los criterios de clasificación garantiza que éstos expresan información no relacionada, en forma no redundante. Criterios (vectores) ortogonales no covarían a no ser que la información cuantificada por cada uno de ellos covarie en la población.

solamente poder interpretar correctamente los coeficientes DWT que se usarán como parámetros de clasificación. El método de clasificar espigas en base a coeficientes DWT se publicó en el año 2000 bajo el nombre de WSC, *wavelet based spike classification* o clasificación de espigas basada en coeficientes wavelet (Letelier & Weber 2000, Anexo B).

2.2. Análisis de wavelets

El análisis de wavelet es una teoría matemáticas que se desarrolló específicamente buscando funciones que efectuaran un análisis frecuencia-tiempo ortogonal para señales no estacionarias. Es decir, debían expresar en forma óptima los componentes de frecuencia transitorios o localizados (Meyer 1993, Burke-Hubbard 1995).

Las sinusoides del análisis de Fourier (análisis de frecuencia, Anexo A4) representan componentes de frecuencias invariables, "eternos" (de soporte infinito) (Oppenheim y col. 1999). Cada componente de frecuencia es invariable en frecuencia, amplitud y fase. Una adaptación del análisis de Fourier para señales con frecuencias variables es el análisis frecuencia-tiempo (Anexo A5) implementado por la *short-time Fourier Transform* (STFT) (Oppenheim y col. 1999). En la STFT se segmenta las sinusoides mediante ventanas temporales de un ancho determinado, suponiendo cuasi-estacionariedad dentro de este intervalo temporal. Así se reflejan las variaciones temporales de amplitud, frecuencia o fase de los componentes de frecuencia. Este método permite un análisis cuasi-estacionario de las señales a diferentes tiempos (Burke-Hubbard 1995, Mallat 1999, Oppenheim y col. 1999). Pero no importa qué ancho se asigne a la ventana temporal: siempre resultará demasiado ancha para frecuencias altas, y demasiado angosta para frecuencias bajas (Burke-Hubbard 1995, Mallat 1999). En consecuencia, el análisis de Fourier y la STFT, que son herramientas muy potentes en el análisis de señales estacionarias y cuasi-estacionarias, respectivamente, no son las herramientas adecuadas para analizar señales no estacionarias.

Para las señales fuertemente no estacionarias, como son las señales biomédicas, el análisis escala-tiempo (Anexo A6) resulta más adecuado (Aldroubi & Unser 1996, Samar y col. 1999). Esencialmente, se trata de adaptar el ancho de la ventana de análisis a la frecuencia analizada: ventanas angostas para frecuencias altas, ventanas anchas para frecuencias bajas. En los años 80, se desarrollaron herramientas matemáticas para implementar en forma rápida este análisis escala-tiempo. El resultado se llamó Análisis de Wavelet, y cuenta con diversas transformadas. Una de ellas es la transformada de wavelets discreta (DWT) que se describe en el Anexo A7 (Meyer 1993, Burrus y col. 1997, Samar y col. 1999). El análisis de wavelet está transformando rápidamente todo el campo de análisis de señales (Meyer 1993, Mallat 1999) y la visión de los investigadores biomédicos (Aldroubi & Unser 1996, Dickhaus & Heinrich 1996, Samar y col. 1999).

Esta tesis utilizará los coeficientes DWT de las espigas como parámetros de clasificación, utilizando las características de ortogonalidad y la rapidez del cálculo de estos coeficientes. Los coeficientes son computados mediante el algoritmo rápido

(llamado "algoritmo piramidal"^{6 *)}), introducido por Burt-Adelson e implementado para las wavelets por Strang en 1993 (Meyer 1993, Strang 1993). Este algoritmo, llamado Banco de filtros en cuadratura o *Quadrature Mirror Filter Bank* QMFB se explica con detalle en el Anexo B (Letelier & Weber 2000). Esencialmente, se implementa por multiplicación matricial y es aún más eficiente que el algoritmo FFT, ya que para M muestras, sólo requiere del orden de M operaciones (Press y col. 1993). Por tanto, para $M=10.000$ muestras, la DWT implementada por QMFB requiere sólo de 10.000 operaciones, el 25% de las que requiere la FFT. Las wavelets usadas pertenecen a la familia de wavelets ortogonales descubiertas por Daubechies (Press y col. 1993, Burrus y col. 1997, Chui 1997).

Los coeficientes DWT, además de ortogonales y rápidos de calcular, cuantifican componentes de frecuencia localizados en el tiempo. Para poder interpretar los coeficientes DWT introduciré a continuación las ecuaciones fundamentales. Para mayor detalle, ver Anexos A, especialmente el Anexo A7.

2.2.1. DWT: ecuaciones básicas

Las wavelets se construyen a partir de una función generadora, también llamada "wavelet madre". La wavelet madre Ψ es una función que oscila muy rápidamente durante un intervalo breve. Las demás wavelets ("hijas") se construyen dilatando Ψ por un factor 2^j , donde $j = -1, -2, -3, \dots$ es un número entero negativo (el signo negativo indica que se trata de una dilatación, y no una compresión). Las wavelets "hijas" oscilan más lentamente a mayor grado de dilatación (a menor valor de j). La dilatación se implementa en pasos diádicos, es decir, exponentes enteros de 2: 2, 4, 8, 16, etc. Por ello, j no es un exactamente un índice de frecuencias, sino un índice de escala. El factor de dilatación s_j

$$(Ec. 2-1) \quad s_j = 2^{-j} \Delta$$

es la escala correspondiente al índice de escala $j = -1, -2, \dots$. El ancho de la wavelet es proporcional a la escala, y Δ es el intervalo temporal entre dos muestras sucesivas. La frecuencia de muestreo se define como $f_m = 1/\Delta$ (ver también Anexo A1).

En el análisis de frecuencias clásico (Fourier), cada período corresponde al inverso de una frecuencia (Oppenheim y col. 1999, Mallat 1999). Asimismo, en el análisis de wavelets discreto cada escala s_j representa una banda de frecuencias f_j de ancho inversamente proporcional a la escala

$$(Ec. 2-2) \quad f_j = \left[\frac{1}{2s_j}, \frac{1}{s_j} \right] = \left[2^{j-1}, 2^j \right] f_m$$

^{6 *)} algoritmo piramidal: procedimiento de cálculo numérico que consiste en una reducción sucesiva del número de variables relevantes del problema en estudio (reducción de dimensionalidad del espacio, reducción de los grados de libertad).

donde f_m es la frecuencia de muestreo. La Figura 2-2 muestra dilataciones de una familia de wavelets Daubechies-8 a diferentes escalas y sus espectros de frecuencia correspondiente.

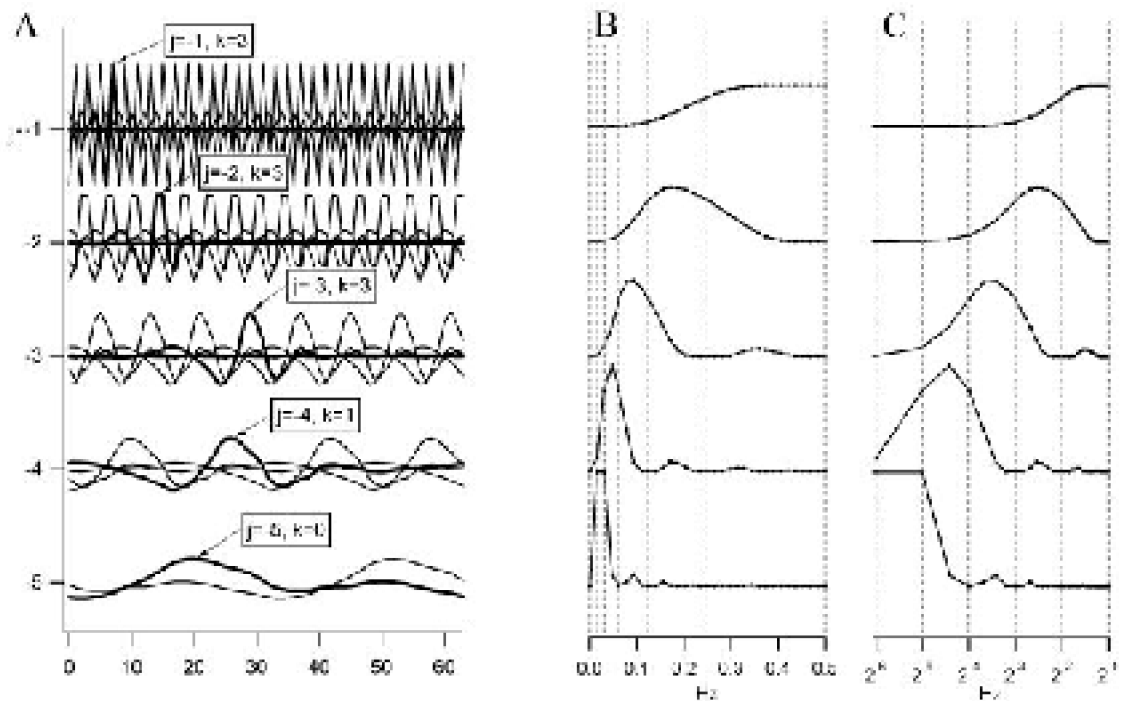


Figura 2-2. Wavelets Daubechies-8. Wavelets de la familia Daub-8 a diferentes escalas ($M=64$).

A. En dominio temporal. El índice j (eje vertical) indica la escala. El desplazamiento temporal (eje horizontal) está dado por ambos índices, j y k (Ec. 2-3, ver texto). Se especifica los índices j y k para las wavelets resaltadas en negro.

B. Espectro de potencia vs frecuencias lineales. Frecuencia de muestreo es 1 Hz. Las wavelets actúan como filtros pasa-banda.

C. Mismo espectro, frecuencias en escala logarítmica. Las potencias de 2 indican la segmentación diádica del dominio de frecuencias. Las translaciones en el dominio temporal no afectan el espectro de potencias, sino sólo las fases (no se muestra).

Dado que las wavelet son localizadas en el tiempo, es decir, ocupan un intervalo acotado proporcional a la escala s_j , para analizar un intervalo temporal más largo deberán desplazarse en el tiempo. En la literatura, este desplazamiento temporal se llama *shifting*, y se indica con un índice de translación k (Meyer 1993, Mallat 1999, Samar y col. 1999). Obviamente, las wavelet de oscilación rápida (valores j menos negativos, y escalas más pequeñas) ocupan intervalos más estrechos y deberán desplazarse en intervalos más cortos que las wavelets de oscilación lenta (valores j más negativos). Por ello la translación se efectúa a intervalos que son múltiplos enteros de la escala s_j (Figura 2-2).

$$(Ec. 2-3) \quad k s_j = k 2^{-j} \Delta$$

Las traslaciones no tienen efecto en el espectro de potencias, aunque sí tienen un efecto difuso, global, en el espectro de fases de las wavelets (Burke-Hubbard 1995).

La familia completa de wavelets se construye a partir de la wavelet madre Ψ mediante dilatación y translación temporal determinados por los índices de dilatación j y de translación k :

$$(Ec. 2-4) \quad \Psi_{j,k} = \Psi(2^j t - k)$$

La localización temporal de una wavelet a una escala s_j tiene una precisión igual a la escala. En otras palabras, la incerteza de localización temporal es igual a la escala s_j . En cuanto a su comportamiento en el espacio de frecuencias, debido al principio de incertidumbre de Heisenberg, funciones como las wavelets, con incertezas temporales (soporte temporal) finitas, necesariamente tienen incertezas en frecuencias mucho mayores a cero. Sólo funciones con incerteza temporal infinita (soporte temporal infinita) como las sinusoides pueden tener espectros tan localizados (soporte máximamente compacto en dominio de frecuencias). Las wavelets tienen espectros en forma de banda de frecuencias, por lo cual también se les describe como filtros pasa-banda de soporte (temporal) compacto.

La incerteza de la localización en frecuencia corresponde al ancho de la banda, que es inversamente proporcional a la escala s_j . Es decir, las bandas de frecuencia son más anchas en el caso de las wavelets de frecuencias altas (incerteza en frecuencia grande que compensa la incerteza temporal pequeña). En cambio, las bandas de frecuencia son más estrechas para las wavelets de frecuencias bajas y de gran escala (incerteza temporal grande permite incerteza más reducida en frecuencia) (ver también Figura A-2 del Anexo A).

La incerteza de la localización en el plano frecuencia-tiempo no sólo depende de la escala, sino también de la familia de wavelets. La wavelet madre –y por tanto las wavelet hijas generadas a partir de ella– pueden presentar mejor localización en tiempo (ej. Haar, Burt-Adelson) o mejor localización en frecuencia (ej. Daub20, Battle-Lemarie), pero no ambas. En la Figura 2-3 se muestra el comportamiento en dominio temporal vs dominio de

frecuencias para diferentes familias de wavelet que implementan la transformada de wavelet discreta (DWT).

¿Cómo se calculan los coeficientes wavelet? Al igual que los coeficientes Fourier, se calculan mediante el producto punto entre la señal y la wavelet (Press y col. 1993, Mallat 1999):

$$(Ec. 2-5) \quad c_{j,k} = \langle s, \psi_{j,k} \rangle_{(*)}$$

7 *)

Los coeficientes de wavelet pueden ser complejos o reales, según la familia de wavelets utilizada. En caso de las wavelet ortogonales de Daubechies utilizadas en esta tesis, los coeficientes de wavelet son número reales. Dado que las wavelet forman una base ortonormal del espacio de energía finita, toda secuencia s_m de M muestras finitas puede ser representada por una secuencia única de M coeficientes $c_{j,k}$. Asimismo, dado que la transformada discreta de wavelet es invertible, la señal puede ser reconstruida usando una serie muy similar a la serie de Fourier, sólo que con dos índices, el índice de dilatación j y el índice de translación k :

$$(Ec. 2-6) \quad s[m] = \sum_j \sum_k c_{j,k} \psi_{j,k}[m]$$

7 *) algunos textos invierten esta notación:

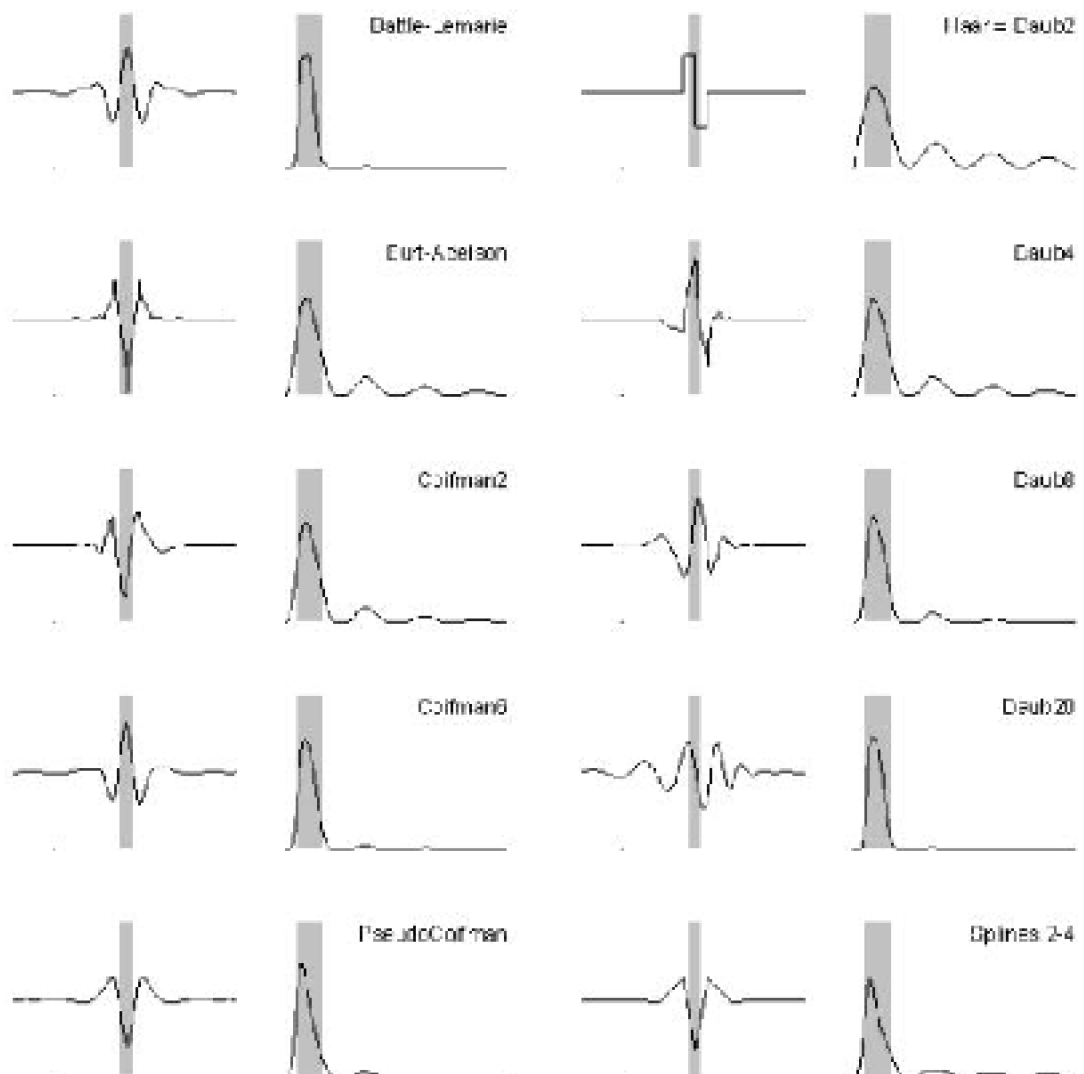


Figura 2-3. Familias de wavelet para DWT en dominio de tiempo y frecuencias.

Se muestra la wavelet $\psi_{-5,6}$ ($j=-5$, $k=6$) para cada familia de wavelets (primera y tercera columna) y sus espectros de potencia (segunda y cuarta columna). Los rectángulos grises muestran el soporte teórico: la escala s_j , (Ec. 2-1) en el dominio temporal, y la banda f_j (Ec. 2-2) en el dominio de frecuencias.

Las familias difieren en su perfil temporal y en su comportamiento como filtros pasa-banda. Wavelets de las familias Daubechies 2 (=Haar), Daub 4, Burt-Adelson tienen soporte temporal más compacto, pero su espectro afecta las altas frecuencias fuera de la banda f_j . En cambio, las familias Daub 20, o Battle-Lemarie, son filtros más compactos en el dominio de frecuencias, pero su soporte temporal es muy extendido.

2.2.2. Interpretación de coeficientes DWT: un ejemplo concreto

Al igual que los coeficientes de Fourier a_q , los coeficientes de wavelet $c_{j,k}$ cuantifican

energía en cumplimiento del Teorema de Parseval (Anexo A.3.). Específicamente, un coeficiente $c_{j,k}$ cuantifica la energía (i.e. presencia) de frecuencias de la banda f_j , localizados en un intervalo temporal de ancho s_j localizado en $t = t_0 + k s_j$. De esta forma, cada coeficiente $c_{j,k}$ da cuenta de un intervalo específico en el dominio frecuencia-tiempo (o, más específicamente, escala-tiempo). Así como Fourier segmenta el dominio de frecuencias, la DWT segmenta el dominio frecuencia-tiempo (Mallat 1999).

La Tabla 2-3 ejemplifica esta segmentación para $M=1024$ muestras tomadas a una frecuencia de muestreo $f_m = 1$ kHz (o sea, a intervalos de muestreo $\Delta=1$ ms) en un intervalo temporal $T=M \Delta =1024$ ms. Se ve claramente que para cada valor j , el intervalo temporal T ($=1024$ ms) es segmentado en un número decreciente de intervalos temporales cada vez más anchos. La descomposición prosigue hasta el índice $j=-9$, que segmenta el intervalo T en 2 intervalos de 512 ms, que corresponden a las localizaciones de las wavelet $\psi_{-9,0}$ y $\psi_{-9,1}$.

Tabla 2-3. Segmentación frecuencia-tiempo para 1024 muestras a 1 kHz

j	f_j (Hz) Ec. 2-2	Ancho banda (Hz)	$s_j = dt_j$ (ms) Ec. 2-1	Nº de translaciones	Rango $c_{j,k}$
-1	250 - 500	250	2	512	$c_{-1,0} \dots c_{-1,511}$
-2	125 - 250	125	4	256	$c_{-2,0} \dots c_{-2,255}$
-3	62 - 125	62	8	128	$c_{-3,0} \dots c_{-3,127}$
-4	31 - 62	31	16	64	$c_{-4,0} \dots c_{-4,63}$
-5	16 - 31	16	32	32	$c_{-5,0} \dots c_{-5,31}$
-6	8 - 16	8	64	16	$c_{-6,0} \dots c_{-6,15}$
-7	4 - 8	4	128	8	$c_{-7,0} \dots c_{-7,7}$
-8	2 - 4	2	256	4	$c_{-8,0} \dots c_{-8,3}$
-9 = J	1 - 2	1	512	2	$c_{-9,0}, c_{-9,1}$
(-10)	< 1 "frecuencia DC"				r_0, r_1 (ver texto)

El siguiente valor de j sería $j=-10$. Pero según la Ec. 2-1, la escala correspondiente sería de $s_{-10} = 1024 \Delta = 1024$ ms. Una wavelet $\psi_{-10,k}$ de 1024 ms de duración ya no puede segmentar el intervalo $T=1024$ ms, por lo cual la descomposición por DWT debe detenerse en $j=-9$. En general, para M muestras se define un índice de escala mínimo

$$(Ec. 2-7) \quad J = j_{\min} = -\log_2 \frac{M}{2}$$

El límite inferior de la banda de frecuencias correspondiente a este j mínimo es $f_m / M = 1/T$.

Las frecuencias menores a $1/T$ son cuantificados en dos "coeficientes residuales", r_0 y r_1 . Los coeficientes residuales no son coeficientes de wavelet, ya que no corresponden a convoluciones con filtros pasa-banda (que serían los wavelets) sino pasa-baja (banda de frecuencias $[0, 1/T]$) localizadas en los intervalos temporales $[0, T/2]$ (coeficiente r_0) y $[T/2, T]$ (coeficiente r_1). Las características de estas funciones pasa-baja, llamadas "*scaling functions*", se encuentran descritas en la literatura (Burrus y col. 1997, Chui 1997), pero para nuestra aplicación no se requiere mayor conocimiento de ellas.

Brevemente, así como la frecuencia mínima (no-nula) del análisis de Fourier es la frecuencia fundamental $1/T$, en la DWT el nivel mínimo de descomposición es aquel que cuantifica las frecuencias entre $1/T$ y $2/T$. Frecuencias menores que esa son llamadas "componentes DC" y son representadas, en el análisis de Fourier, por el coeficiente a_0 , y en la DWT, por los coeficientes residuales r_0 y r_1 .

Si se suman todos los coeficientes de wavelet $c_{j,k}$ para $j = -1, -2, \dots, J$ se obtienen exactamente $M-2$ coeficientes de wavelet para una secuencia de M muestras. Sumando los dos coeficientes residuales, se obtiene que la DWT de una secuencia s_m de M muestras tiene M coeficientes, y $M-2$ de ellos son coeficientes wavelet propiamente tales. En comparación, el análisis de Fourier entrega $(M/2) + 1$ coeficientes de Fourier complejos.

A diferencia de los coeficientes de Fourier, que tradicionalmente se grafican amplitud vs. frecuencia (clásico espectro de frecuencias), la DWT es una señal de tres dimensiones: amplitud vs. frecuencia (o escala) y tiempo. La presentación gráfica tradicional es en forma de matriz, con la frecuencia (o bien la escala) en el eje vertical y el tiempo en el eje horizontal.

La Fig. 2-4 compara la segmentación del dominio de las frecuencias y del dominio frecuencia-tiempo por la transformada de Fourier y la DWT, respectivamente, para $M=64$ muestras. En estas Figuras, se muestran a la derecha la representación tradicional magnitud/frecuencia (rotado en -90 grados), y a la izquierda la representación magnitud vs frecuencia/tiempo. Las Figuras muestran claramente cómo el análisis de Fourier segmenta el dominio de frecuencias no-nulas en 32 intervalos de ancho constante, sin localización temporal (Figura 2-4A). En cambio, la DWT segmenta el dominio de frecuencias en intervalos de ancho variable (mayor ancho a mayor frecuencia), pero introduce asimismo una segmentación temporal que, para frecuencias mayores, es de ancho menor, y para frecuencias más lentas es de mayor ancho temporal (Figura 2-4B).

Para ilustrar el poder de la segmentación tiempo-frecuencia de la DWT y compararlo con los resultados de un análisis espectral, en lo que sigue se mostrarán los resultados de ambas transformadas en una señal ejemplo expresamente diseñada para demostrar el poder de análisis de la DWT para señales no estacionarias y complejas.

Se ha considerado una señal de ejemplo que consiste en la suma de 5 componentes (Fig. 2-5C):

- dos cosenos, uno de frecuencia 5 Hz y amplitud 1 (a), y otro de 100 Hz y amplitud 4 (b): $\cos(2\pi 5 t) + 4 \cos(2\pi 100 t)$
- dos “transientes”^{8 *)} (pulsos o “deltas de Krönecker”^{9 *)}) de amplitud 20, localizadas a $t=0,252$ s (c) y $t=0,272$ s (d), respectivamente: $20 \cdot \delta_{0,252}$; $20 \cdot \delta_{0,272}$
- una transición más lenta (e), de aprox.2,5 ms de duración, localizada entre $t= 0,8$ y $t=0,825$ s, que corresponde a medio ciclo de un coseno de frecuencia 20 Hz y amplitud 5.

$5 \sin(2 \pi 20 t)$ para $t \in [0,8 \text{ s}; 0,825 \text{ s}]$

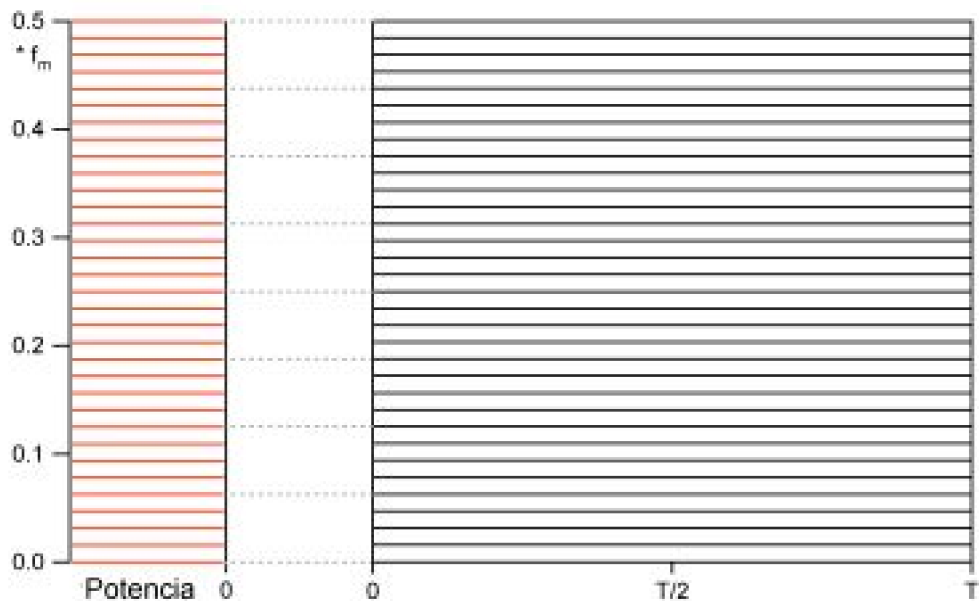


Figura 2-4. Segmentación del espacio frecuencia-tiempo. $M=64$ muestras reales, $T=$ duración del registro, $f_m =$ frecuencia de muestreo.

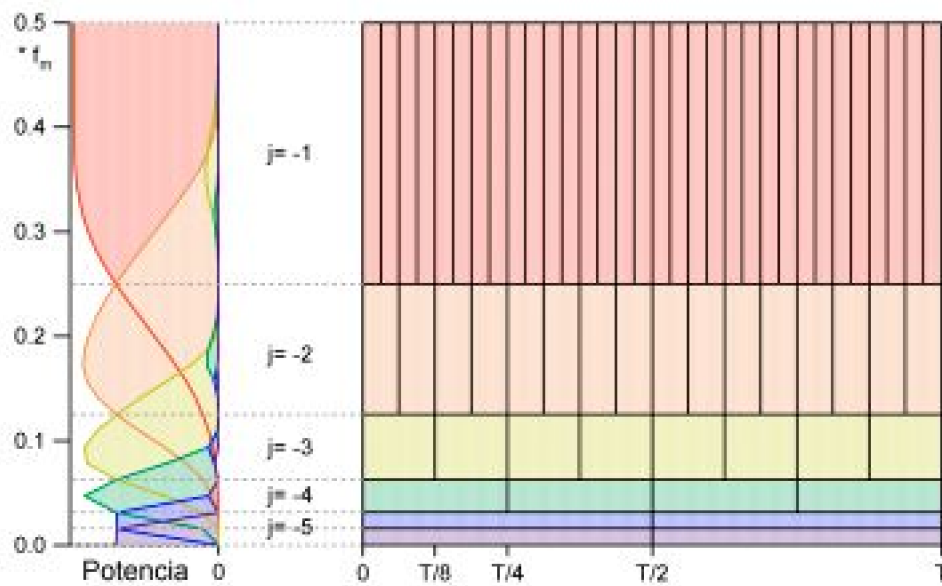
A. Transformada de Fourier discreta (DFT)

A1 (Izq). Segmentación del dominio de frecuencias (rotado en $+90^\circ$) en 33 bandas de ancho constante correspondientes a los 33 coeficientes de Fourier. Eje vertical frecuencia, eje horizontal potencia.

A2 (Der). Segmentación del plano frecuencia-tiempo. Bandas horizontales de ancho T indican ausencia de localización temporal.

^{8 *)} transiente: componente de corta duración que se caracteriza por un cambio de amplitud rápido y transitorio.

^{9 *)} delta (δ) de Krönecker: equivalente discreto de la “delta de Dirac”. Función discreta cuya suma es 1, y cuyo valor es cero excepto en un solo punto (aquí, para un sólo instante temporal t).



B. Transformada de wavelet discreta (DWT)

B1 (Izq). Los M coeficientes de wavelet dividen el dominio del tiempo en bandas de ancho decreciente. Se indica el índice de escala j para cada banda de frecuencias. Las translaciones determinadas por el subíndice k no afectan el espectro de potencias.

B2 (Der). Segmentación del plano frecuencia-tiempo en $M \cdot 2^j$ intervalos: 32 intervalos para $j=-1$, 16 intervalos para $j=-2$, etc. La descomposición para en $J=\log_2(M/2)=-5$, que determina 2 intervalos temporales de ancho $T/2$. Frecuencias menores son representadas por los "coeficientes DC" que representan la acción de filtros pasa-baja.

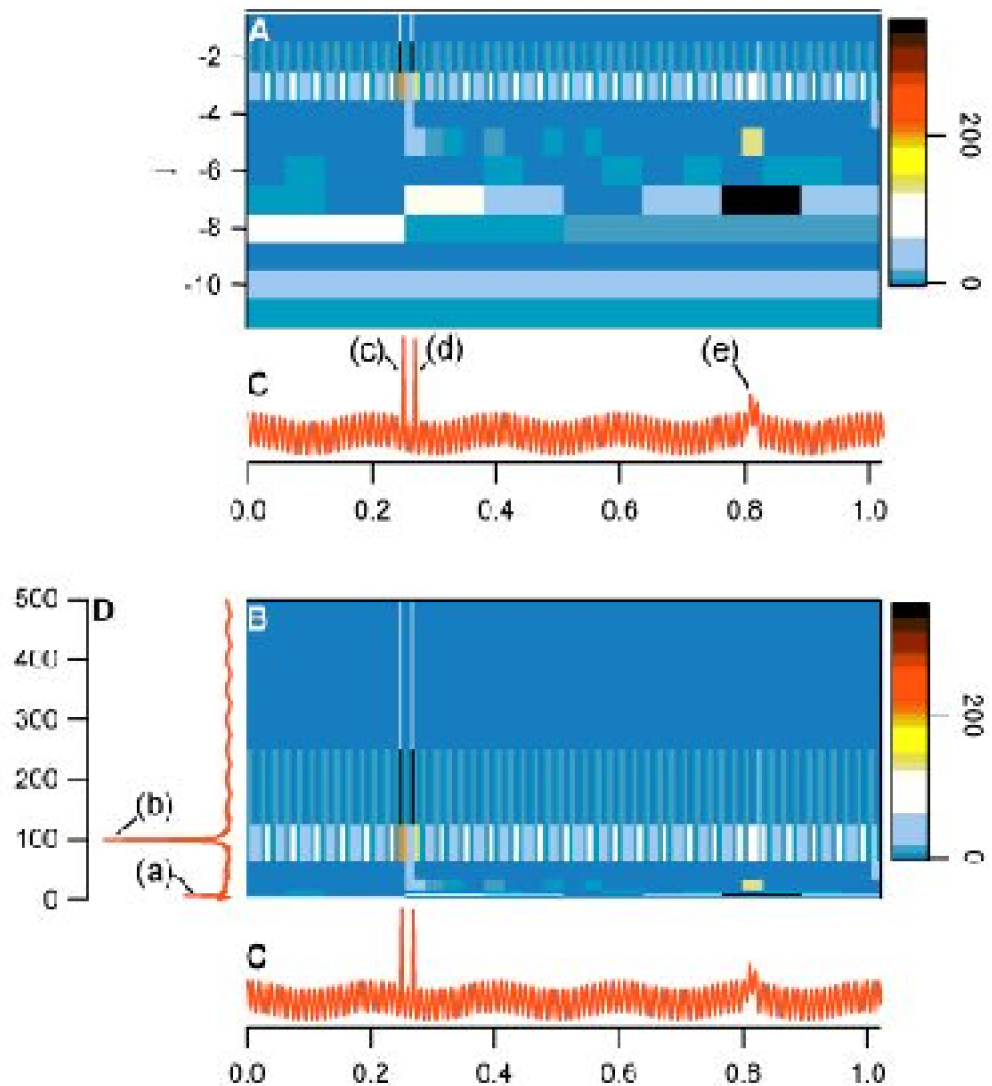


Figura 2-5. DWT de señal ejemplo. $M=1024$ muestras, $f_m=1$ kHz, ver tb. Tabla 2-3.

- A. DWT en espacio escala-tiempo.
- B. DWT en espacio frecuencia-tiempo.
- C. Señal en dominio del tiempo (unidad temporal en segundos).
- D. Espectro de potencia: señal en dominio de frecuencias, gráfico rotado en $+90^\circ$.

Componentes de la señal ejemplo:

2 sinusoides de frecuencia 5 (a) y 100 (b) Hz, respectivamente.

2 “transientes” localizadas en $t=252$ ms (c) y $t=272$ ms (d).

1 “transiente” lenta localizada a los 800 ms (e).

La señal está representada por 1024 muestras a intervalos $\Delta=1$ ms (frecuencia de muestreo $f_m=1$ kHz). Por tanto, la frecuencia de Nyquist (ancho de banda) para esta señal es de $f_{Nyg}=500$ Hz. La Figura muestra la representación en el dominio

escala-tiempo (Figura 2-5A) y en el dominio frecuencia-tiempo (Figura 2-5B). Para mejor comprensión del dominio frecuencia-tiempo, se agregó el espectro Fourier (amplitud lineal vs frecuencia en Hz) a la izquierda del plano frecuencia-tiempo (Figura 2-5D).

Los dos componentes (a) y (b) son componentes estacionarios, no localizados en el tiempo, pero de frecuencias muy precisas. Los componentes (c) y (d) son altamente localizados en el tiempo (“deltas de Krönecker”), y como tales, sus espectros de frecuencias cubren todo el ancho de banda (0-500 Hz). El componente (e) es localizado en el tiempo (dura sólo 25 ms), sin embargo, su contenido de frecuencias está más bien centrado las bajas frecuencias.

El espectro de frecuencias de esta señal (Fig. 2-5D) tiene dos valores máximos, asociados a las frecuencias 5 y 100 Hz, respectivamente. Estos máximos corresponden a los componentes sinusoidales (componentes (a) y (b)). La magnitud no-nula de los coeficientes de Fourier restantes reconstruyen (junto con las fases no mostradas) las tres “transientes” (c), (d), y (e). Toda información acerca de la localización, forma y amplitud de estas “transientes” está dispersa en las amplitudes y sobre todo en las fases de todos los coeficientes Fourier.

Las Fig. 2-5 C y D representan a la señal en los dominios puros de tiempo o de frecuencias. El trazo C (la señal en función del tiempo) sólo entrega información acerca de la localización temporal de los eventos; la información acerca de los contenidos de frecuencia no se puede cuantificar fácilmente. En el otro extremo, el espectro (trazo D, señal en función de la frecuencia) informa acerca de la magnitud relativa de los componentes de frecuencia presentes, pero la localización temporal está distribuida en los valores de amplitud y fase de los coeficientes y es imposible de deducir a simple vista.

El análisis escala-tiempo permite a la vez determinar contenido de frecuencias y localización temporal. La Fig. 2-5 A muestra los valores de los coeficientes $c_{j,k}$ de la señal, ordenados sobre un plano escala-tiempo. La magnitud cuadrada (energía) $|c_{j,k}|^2$ de cada coeficiente $c_{j,k}$ es representada por un código de colores. La Fig. 2-5 B muestra los mismos coeficientes en un plano frecuencia-tiempo. La Tabla 2-3 ayuda a interpretar el contenido de frecuencias y la resolución temporal de cada banda j .

La banda superior corresponde a los coeficientes con $j=-1$. Todos ellos cuantifican la energía de la señal en la banda de frecuencias $f_{-1} = [f_m/4, f_m/2]$, es decir, la mitad superior de la banda de frecuencias. Dado que en este caso la frecuencia de muestreo era de 1 kHz, la banda f_{-1} corresponde a las frecuencias entre 250-500 Hz. En esta franja de altas frecuencias, se pueden observar dos coeficientes con mayor intensidad, localizados justamente a la misma altura temporal que las “transientes” abruptas ((c) y (d)). Se observa la gran resolución temporal de estos coeficientes, que distinguen perfectamente estos dos eventos distanciados por sólo 20 ms. De hecho, en el nivel $j=-1$, la resolución temporal es de $2 \Delta = 2$ ms.

Dado que las “transientes” ((c) y (d)) son señales de muy amplio espectro, también están representadas por coeficientes de las bandas siguientes, la banda $j=-2$, corresponde a las frecuencias $f_{-2} = [f_m/8, f_m/4] = 125-250$ Hz, y la banda $j=-3$, corresponde a las frecuencias $f_{-3} = [f_m/16, f_m/8] = 62-125$ Hz. En menor grado, se ven representadas también en las bandas $j=-4$ y $j=-5$.

Pero la banda f_{-3} contiene, además de los dos coeficientes de gran amplitud que corresponden a las “transientes” (c) y (d), información repartida a lo largo de todo el intervalo temporal. Ello se debe a la senoide de 100 Hz (b) que está presente en toda la extensión temporal de la señal. La otra senoide, (a), de frecuencia 5 Hz, se ve representada en la banda $j=-7$, ya que ésta contiene las frecuencias $f_{-7} = [f_m/64, f_m/32] = 4-8$ Hz. Esta banda se visualiza mejor en la representación escala-tiempo (Fig. 2-5A).

Finalmente, la “transiente” más lenta (e) se ve reflejada en una especie de triángulo de coeficientes que se extienden desde la banda $j=-5$ y la banda $j=-7$ hasta las bandas $j=-2$ y $j=-3$, cubriendo así las frecuencias diversas entre 8 y 250 Hz. La razón de esta mezcla se encuentra al observar que la “transiente” lenta (e) interactúa con la senoide rápida (b) de 100 Hz para formar un perfil bastante peculiar montado en el máximo local de la senoide lenta (a) de 5 Hz. Por ello, si bien el valor máximo de este triángulo de coeficientes se encuentra en la banda $j=-7$ (la banda de la senoide lenta, (a)), el segundo mayor coeficiente de wavelet corresponde a la banda $j=-5$ que contiene las frecuencias entre 16 y 32 Hz, lo cual era de esperar ya que la “transiente” en cuestión (e) corresponde a una frecuencia localizada de 20 Hz.

El análisis de esta señal de ejemplo muestra cómo se pueden aislar rasgos distintivos de una señal en el dominio temporal, fijándose sólo en subconjuntos de los coeficientes wavelets producto de una descomposición de wavelet sobre esa señal. Es justamente la manipulación de estos subconjuntos donde reside el poder de la descomposición en wavelet. Por ejemplo: si uno quisiese extraer de la señal las deltas de Krönecker (a) y (b), basta con asignar valor cero a los coeficientes localizados en las bandas $j=-1$ a -5 asociados a los tiempos 0,252 y 0,272 segundos. En la descomposición de Fourier, la información sobre estas deltas de Krönecker está uniformemente distribuida en todo el espectro de frecuencias. Por tanto, para eliminar la información de estos componentes deberían modificarse todos los coeficientes Fourier en forma simultánea, tanto en magnitud como en fase, en una forma no obvia y difícil de implementar.

2.3. WSC: un nuevo método para clasificar espigas

El método de Clasificación de Espigas basada en Wavelets Discretos (WSC) fue publicado en el Journal of Neuroscience Methods del año 2000 (Letelier & Weber 2000, Anexo B). El protocolo básico sigue los mismos pasos que la mayoría de los software de clasificación de espigas publicados (Tabla 2-1). Una descripción precisa de cada paso del método WSC y su comparación con los métodos RFS y PCA se encuentra en el Anexo B.

2.3.1. Fundamentación teórica

Como ya se indicó, la idea básica es realizar la clasificación en base a componentes ortogonales (por tanto independientes), que representen contenidos de frecuencia localizados en el tiempo. Los coeficientes DWT cumplen con los requisitos de ortogonalidad, rapidez de cómputo (mediante el “Algoritmo Piramidal”, ver Anexo B),

compresión de las espigas, cómputo independiente del conjunto analizado. Además, los coeficientes DWT usados por la WSC representan características fácilmente interpretables de las espigas, lo cual podría permitir una interpretación biológica de la clasificación.

2.3.2 Objetivos de la tesis

Objetivos generales:

- Implementar una clasificación de espigas extracelulares basada en coeficientes de wavelet discretos (método WSC)
- Comparar los resultados de clasificación con WSC con dos métodos probados: el PCA, y el RFS
- Probar el método WSC en registros reales

Objetivos específicos:

- Implementar el método WSC en el software de análisis de datos programable IGOR PRO de Wavemetrics.
- Implementar los métodos PCA y RFS en el mismo software, con la misma interfase gráfica
- Construir un registro artificial que permita comparar en forma objetiva los métodos WSC, PCA y RFS
- Analizar resultados de clasificación de espigas artificiales por observadores inexpertos
- Analizar resultados de clasificación mediante WSC de espigas reales obtenidas en Laboratorio de Neurobiología y Biología del Conocer, Facultad de Ciencias.

3. Métodos

3.1. Comparación del método WSC con PCA y RFS

La implementación del método WSC y la comparación en datos artificiales con PCA y RFS se describe detalladamente en el Anexo B. En lo siguiente se esquematiza brevemente los métodos utilizados.

3.1.1. Implementación del método WSC

El procesamiento de los trenes de espigas sigue los pasos expuestos en la Tabla 2-1. Toda la programación se efectuó en el ambiente de programación del software de procesamiento de datos IGOR PRO (www.wavemetrics.com). La interfase de usuario gráfica permite detectar, extraer y clasificar espigas extracelulares mono y bifásicas.

Para cada espiga detectada se extrae un perfil temporal de 64 muestras, tomadas a una frecuencia de 20 kHz (Figura 3-1). El cálculo de parámetros de clasificación se efectuó sobre cada uno de estos vectores extraídos. La clasificación de las espigas basada en sus coeficientes DWT se efectúa manualmente mediante agrupación (*clustering*) en gráficos de dispersión (*scatterplots*) (Figura 3-2), y requiere poca experiencia por parte de los usuarios.

La DWT se implementó mediante el algoritmo rápido, matricial, descrito en el *Numerical Recipes for C* (Press y col. 1993). El Banco de Filtros En Espejo (QMF) se implementó para las wavelets Daubechies con 2, 4, 6, 8... 20 coeficientes (Figura 2-3). La mayoría de los pasos requieren mínima intervención del usuario, con excepción de la selección del pequeño grupo de coeficientes DWT que serán usados para la clasificación. Esta selección se hace manualmente, ayudado por una interfase gráfica especial (Figura 3-5).

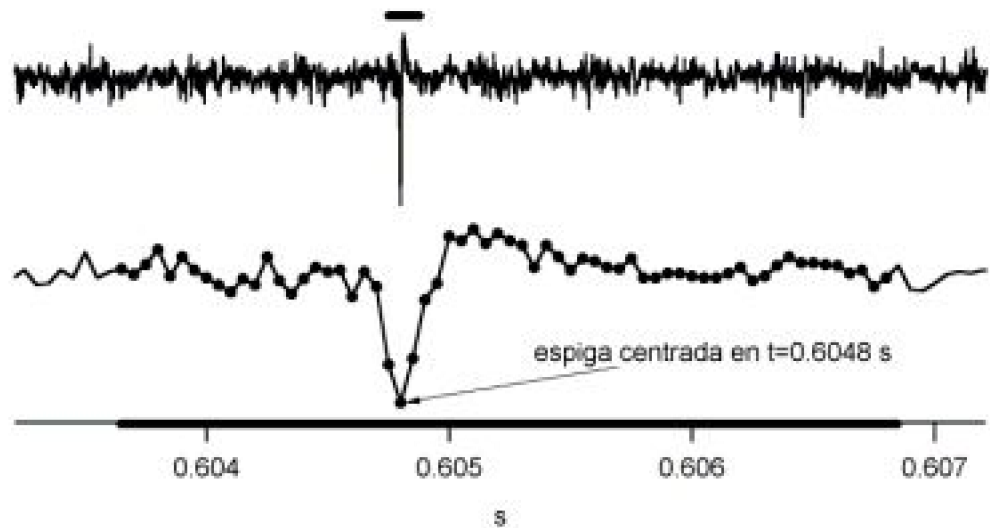


Figura 3-1: Extracción de espigas extracelulares

Para cada espiga detectada (trazo superior) se extraen 64 muestras. El sitio de extracción se muestra, amplificado, en el trazo inferior; los círculos indican las muestras que conforman la espiga extraída. Las barras horizontales gruesas en el borde superior y en el eje temporal inferior indican la duración de la espiga, 3,15 ms, centradas en el tiempo de referencia (primer mínimo).

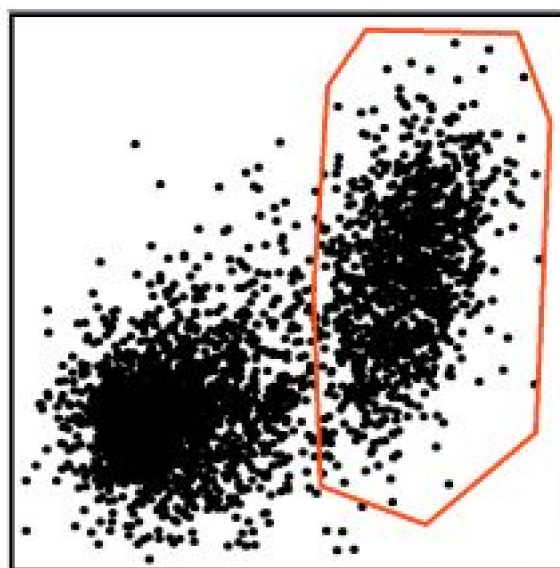


Figura 3-2. Agrupamiento de espigas en gráficos de dispersión.

Las espigas forman "nubes h-dimensionales" en el espacio h-D construido por los h parámetros de clasificación. Dado que es imposible representar gráficamente dicho espacio para $h > 2$, se analizan proyecciones 2-D. Las "nubes" en las proyecciones 2-D no son otra cosa que "sombras 2-D" de las "nubes h-D". En la Figura, los dos parámetros de clasificación que generan esta proyección permiten distinguir claramente dos "nubes 2-D". Cada punto representa una espiga. Delimitar las "nubes" permite identificar todas las espigas que pertenecen a ella, y asignar estas espigas a una clase común.

3.1.2. Implementación de PCA y RFS

Usando el mismo código del método WSC, se agregaron subrutinas para calcular y seleccionar coeficientes de componentes principales (PCA), y para seleccionar las muestras de amplitud que servirían como coeficientes del método RFS. El código para computar los componentes principales proviene de David W. Niles, Agilent Technologies (david_niles@hp.com, agosto 1999) y fue adaptado para funcionar con el código del método WSC. La interfase de agrupación (*clustering*) fue la misma para todos los métodos.

Para la PCA, se obtuvieron los componentes principales de la población de espigas detectadas calculando la SVD (*single value decomposition*) de la matriz de datos. La subrutina usada no sólo calcula los componentes principales de la población y los coeficientes PCA para cada espiga, sino también indica qué porcentaje de la variabilidad presente en la población se debe a cuál de estos componentes. Generalmente, de los N componentes principales de la población, los primeros 3-4 componentes principales condensan un alto porcentaje (80% o más) de la variabilidad. Por ello, para representar cada espiga se escogen los primeros 3-4 coeficientes de su vector de coeficientes PCA. Ello implica una reducción de la dimensionalidad del espacio de 64 dimensiones a 4 ó menos.

Para la RFS, no hace falta calcular coeficientes: los "coeficientes RFS" equivalen a las M muestras de cada espiga digitalizada. Para reducir dimensionalidad se usa un criterio de selección de coeficientes similar al de la DWT, sólo que en el dominio del tiempo. El operador escoge manualmente aquellas muestras que presentan, a simple vista, mayor variabilidad y/o una distribución bimodal. Habitualmente se escogen unos 3-6 muestras, las cuales pasan a ser parámetros de clasificación. De este modo, se logra una reducción de la dimensionalidad del espacio de 64 dimensiones a sólo 3-6. Los pasos restantes del protocolo básico (Tabla 2-1) son comunes a las tres técnicas: WSC, PCA y RFS.

3.1.3. Tren de espigas artificiales

Se generaron tres "espigas tipo" T-I, T-II y T-III (Figura 3-3), dos de las cuales (llamadas T-II y T-III) son muy similares entre sí, y radicalmente diferentes a la espiga T-I, la cual sirve de control. Estas espigas tipo se extienden sobre 64 muestras, lo cual equivale a

3,15 ms de registro a 20 kHz.

Para generar condiciones de ruido realistas, se construyó un "registro de ruido" semiartificial de $2^{16}=65.536$ muestras (equivalente a aprox. 3,3 segundos de registro) a partir de fragmentos de ruido de registros extracelulares reales, en una técnica descrita en el Anexo B. En este registro de ruido, se insertaron al azar 100 espigas de cada tipo, T-I, T-II y T-III (Figura 3-3), obteniendo así un tren de 300 espigas de casi 3,3 segundos de duración que emula 3 neuronas descargando a tasas promedio de 30,5 Hz. Para cada espiga insertada, se tomó nota del tipo y de la localización exacta de la inserción. Esta información permite evaluar objetivamente el performance de cada método de clasificación.

Los algoritmos de detección de espigas suelen ser una fuente no despreciable de errores en la clasificación de espigas. Así como no existen métodos universalmente válidos para la clasificación de espigas, los métodos de detección suelen tener problemas sobre todo en presencia de ruido y superposiciones. Los errores de detección más frecuentes consisten en rechazar espigas reales como eventos inválidos (falsos negativos de detección, especialmente cuando se trata de superposiciones), o al aceptar como espigas eventos que no lo son ("espigas de ruido" o falsos positivos de detección). Además, incluso si se detecta una espiga real como evento válido, determinar la posición de esta espiga detectada puede ser problemático.

Para eliminar los errores de detección (tanto falsos positivos como falsos negativos) como fuentes de error de clasificación en esta comparación de métodos de clasificación, se supuso un "detector perfecto" que detectaba todas las espigas insertas en el registro de ruido (sin falsos positivos ni falsos negativos de detección). Sin embargo, se aplicó el mismo criterio de "tiempo

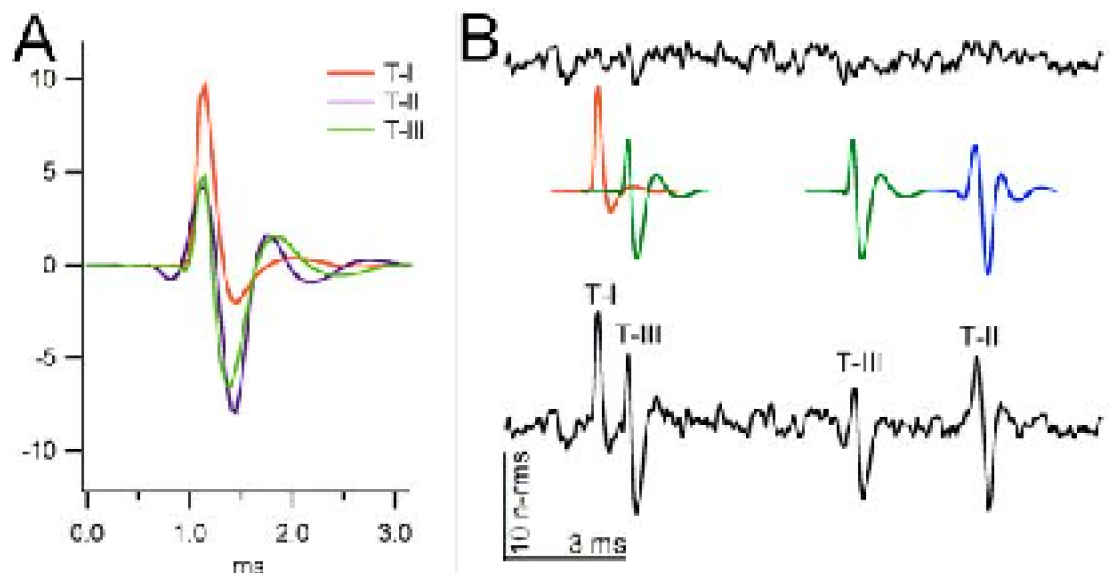


Figura 3-3. Inserción de espigas tipo en "registro de ruido"

A. Se usaron tres espigas tipo para evaluar el éxito de clasificación de los métodos WSC, PCA y RFS: dos de ellas muy similares (T-II y T-III), la tercera (T-I), claramente

diferente, cumple la función de "espiga control". Los tres métodos deben distinguir, como mínimo, las espigas generadas con T-I de aquellas generadas con T-II y T-III. La unidad del eje vertical es el valor rms del ruido (n-rms, ver Anexo B). Las tres espigas tipo tienen amplitud peak-to-peak de aprox. 10 n-rms, y serán insertadas en un "registro de ruido" de valor rms unitario (1 n-rms).

B. Las espigas se insertaron en el "registro de ruido" (trazo superior) en localizaciones al azar. En el intervalo temporal mostrado, se insertaron 4 espigas, tipo T-I, T-III, T-III y T-II respectivamente. El ruido introduce una importante distorsión de las espigas que hace muy difícil distinguir entre las espigas T-II y T-III. En el intervalo temporal mostrado (trazo inferior), se puede apreciar que la primera espiga T-III (2ª espiga insertada) se parece más a la espiga T-II (4ª espiga insertada) que a la segunda espiga T-III (3ª espiga insertada). Las primeras dos espigas (tipos T-I y T-III) forman una superposición de 0,75 ms, que en este caso no produce una distorsión muy importante en las formas de las espigas, ya que la espiga T-I tiene una repolarización rápida.

cero" descrito para el protocolo básico de la WSC. Para cada espiga insertada en el "registro de ruido" se determinó la amplitud máxima, la cual, por efecto del ruido, estaba en hasta ± 2 puntos ($\pm 0,1$ ms) de la localización de la amplitud máxima en ausencia de ruido. Esta incerteza en posición debida al ruido, también llamada *jitter* horizontal o temporal, desplaza posición detectada de la espiga hacia la derecha o hacia la izquierda con respecto a la posición de inserción, y puede ser fuente de error importante en algunos algoritmos de detección. Algunos algoritmos de detección centran la espiga no en el primer máximo (o mínimo), sino en la pendiente máxima de repolarización. Sin embargo, esta forma de centrado es imposible en caso de superposiciones.

En los trenes de espigas artificiales se optó por el centrado en valor máximo y por permitir errores de posicionamiento en la "detección". La idea básica es que el cálculo de la DWT sería, en teoría, extraordinariamente sensible a desplazamientos temporales en la detección de espigas, y se deseaba evaluar el método WSC en presencia de este *jitter* temporal inevitable. De esta forma, al utilizar trenes de espigas artificiales se modificaron los pasos 1 y 2 del protocolo básico de la WSC (Tabla 2-1) con el fin de poder comparar los tres métodos, PCA, RFS y WSC. Además, en el paso 5 se agregó un ítem de evaluación de la clasificación mediante matrices de clasificación, que se discutirá a continuación.

3.1.4. Clasificación por observadores inexpertos

Se presentó la interfase de clasificación con 6 gráficos de dispersión, para los métodos WSC, PCA y RFS a cinco integrantes del laboratorio de Neurobiología y Biología del Conocer (tres investigadores, dos estudiantes). Los observadores no conocían la forma ni el número de "espigas tipo", ni el número de espigas generadas a partir de cada espiga tipo. Tampoco se les informó qué coeficientes de clasificación estaban usando (WSC, PCA o RFS). Sólo se les pidió delimitar manualmente los grupos y revisar sus resultados de clasificación en los gráficos de espigas superpuestas por cada clase.

Las evaluaciones de la clasificación lograda con cada método y la comparación entre

métodos se explica con detalle en el Anexo B. Básicamente, se comparó la capacidad de los coeficientes de clasificación de cada método de generar tres "nubes" claramente identificables en un conjunto de 6 proyecciones 2-D, usando los 4 coeficientes de clasificación más adecuados para cada método. En teoría, cada "nube" debería agrupar las 100 espigas generadas a partir de una misma espiga tipo.

Dado que el reconocimiento y delimitación de dichas nubes es realizada por un operador humano (*clustering* manual), la experiencia del operador puede en teoría influir en el resultado de la clasificación. Por ello se presentaron a un grupo de 5 observadores no entrenados 3 x 6 proyecciones 2-D (6 proyecciones por cada método), y se les pidió delimitar "nubes" de espigas en estas proyecciones, ayudados por la superposición de espigas asignadas a cada "nube" o clase.

A los operadores se les hizo una breve introducción a la interfaz gráfica, se les mostró las 300 espigas extraídas, pero no se les informó cuántos tipos (o clases) de espigas estaban presentes ni a qué método pertenecían los parámetros de clasificación que construían las seis proyecciones 2-D.

Para comparar la clasificación lograda por método y observador, el número de espigas de cada tipo (T-I, T-II y T-III) asignadas a cada clase se resumen en Matrices de Clasificación (Tabla 3-1) (Anexo B, Ec. 15).

Tabla 3-1. Matriz de Clasificación

	espigas tipo		
Asignación a:	T-I	T-II	T-III
Clase 1	C_1	I_3	I_5
Clase 2	I_1	C_2	I_6
Clase 3	I_2	I_4	C_3
$C_1 - C_3$: asignaciones correctas, $I_1 - I_6$: asignaciones incorrectas.			

Las matrices de clasificación tabulan, para cada clase definida por el observador, cuántas espigas fueron generadas por qué espiga tipo. Se reordenan y reenumeran las clases de forma tal que la Clase 1 corresponda a aquella clase que presente un máximo de espigas T-I, etc. De esta forma las asignaciones correctas C_i se encuentran en la diagonal de la matriz de clasificación. Dado que se insertaron 100 espigas por cada espiga tipo, los valores C_i e I_i representan al mismo tiempo número y porcentaje.

Esta matriz permite cuantificar dos tipos de errores de clasificación:

1) asignación incorrecta. Por ej., I_3 corresponde al número de espigas tipo T-II que fueron erróneamente asignadas a la clase T-I, es decir, reconocidas como espigas tipo T-I. El número total de asignaciones incorrectas es la suma de los valores I_i : $\sum(I_i)$

2) ausencia de asignación. Si N_{T-I} es el número de espigas tipo T-I, entonces $[N_{T-I} - (C_1 + I_1 + I_2)]$ es el número de espigas tipo T-I que no fueron clasificadas. El número total de espigas no clasificadas es $[N - (\sum C_i + \sum I_i)]$, donde N es el número total de espigas insertadas.

Además, cada matriz de clasificación obtenida fue comparada con una matriz de clasificación esperada (Anexo B, Ec. 16), que supone 100 (%) de asignación correcta y 0 (%) de asignación incorrecta. Se introduce un criterio de comparación de matrices de clasificación, llamado Índice de Error o *Error Index*, definido como diferencia RMS entre la matriz de clasificación esperada y aquella observada (Anexo B, Ec. 17). Índices de Error pequeños implican mayor exactitud en la clasificación.

3.2. Implementación del método WSC en datos reales

En el curso de un registro de fisiología visual, se colocó un electrodo de tungsteno (2 M Ω de impedancia a 1.000 Hz) en la capa 13 del tectum (profundidad aprox. 1.250 μ m) de una paloma anestesiada. En la capa 13, existe una delgada lámina de células que localmente presentan un gran empaquetamiento. En esta capa, por lo tanto, es difícil obtener registros unitarios. Los registros usualmente presentan una variedad de unidades, algunas de muy baja amplitud, difícil de distinguir del ruido (Figura 3-4).

La señal fue pre-amplificada por un factor 5.000, filtrada en un intervalo de 100 a 10.000 Hz, y digitalizada a 20 kHz. Cada registro tenía una duración de 1,2 ms, y contenía las respuestas de las unidades neuronales tectales a un estímulo luminoso que se movía en forma horizontal a través de una pantalla, a velocidad constante.

Se analizaron 20,4 segundos de registro. En ellos, se detectaron 484 espigas, fijando un criterio de amplitud intencionalmente permisivo (Figura 3-4) con el fin de detectar espigas de baja amplitud. En la mayoría de los métodos de clasificación, se intenta minimizar el número de falsos positivos de detección ("espigas de ruido") para evitar errores de clasificación. En este caso, nosotros confiábamos en que el método WSC fuese capaz de distinguir entre espigas de baja amplitud y eventos de ruido.

Se calcularon los vectores DWT para cada espiga detectada y se escogieron cinco de los coeficientes como parámetros de clasificación (Figura 3-5). Se efectuó asimismo la clasificación por PCA y por RFS para este mismo conjunto de 484 espigas.

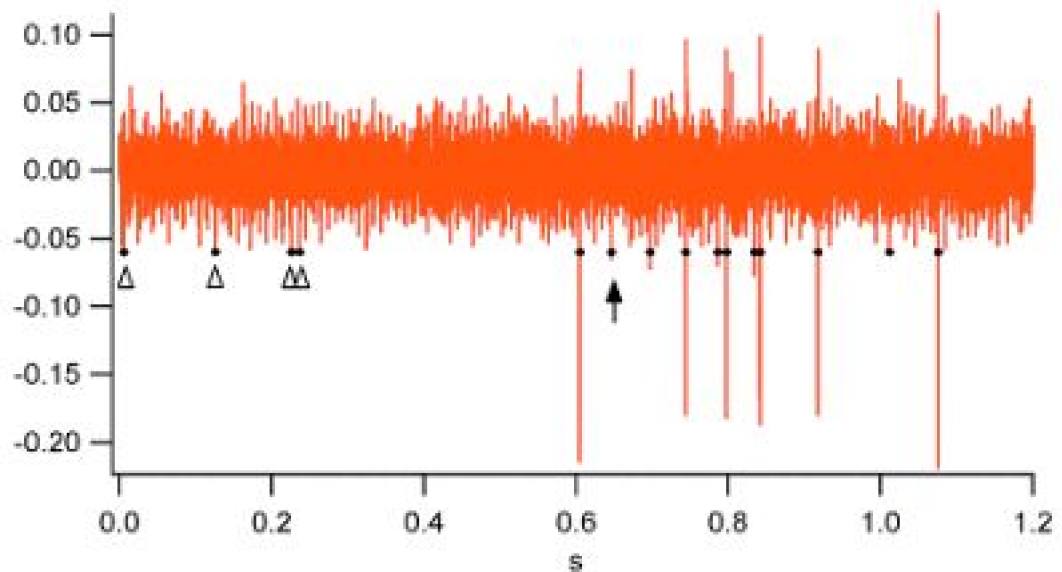


Figura 3-4: Registro multiunitario en capa 13 de tectum óptico de paloma

En este registro, se detectaron 15 espigas con un mínimo local claramente definido que excediera $-0,06$ mV de amplitud (aprox. $4 \times$ rms del ruido, marcadas con ●). Se distinguen 6 espigas de gran amplitud (amplitud negativa $< 0,15$ mV).

Este criterio de detección permisivo permitió extraer espigas de baja amplitud (flecha negra), pero a cambio de una gran contaminación con eventos de ruido que fueron erróneamente detectados como espigas (Δ). Las espigas de baja amplitud se distinguen de eventos de ruido solamente por la forma de su perfil temporal, por lo que dependíamos críticamente de la eficiencia de nuestros parámetros de clasificación. La Figura 3-3 muestra los vectores DWT (Daub-4) de estas espigas.

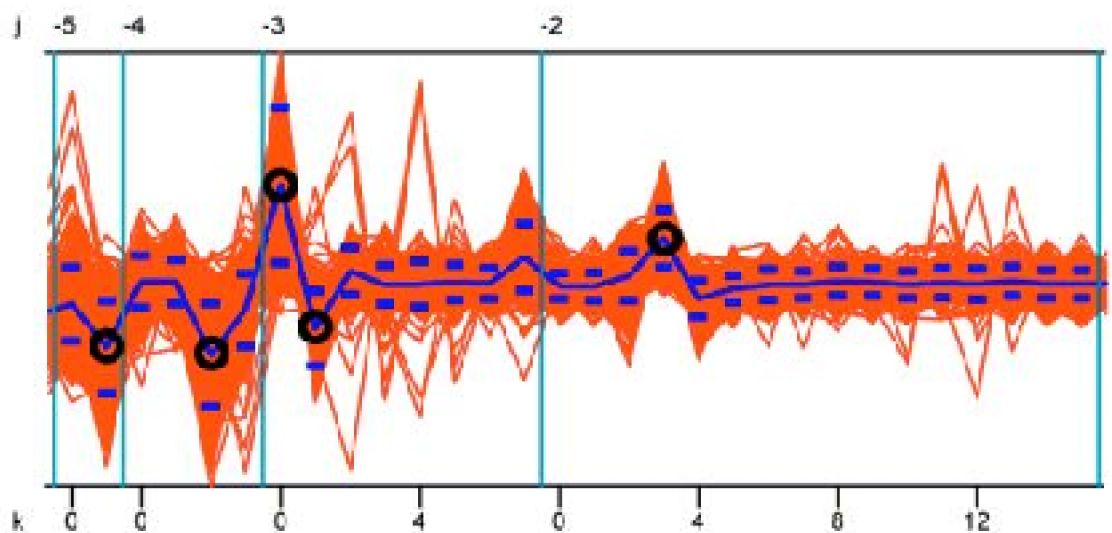


Figura 3-5: Vectores DWT de espigas extracelulares reales

Se muestran 30 de los 62 coeficientes DWT de las espigas mostradas en la Figura 3-4 (Daub-4, índices $j=-2$ a -5). Cinco de los coeficientes se escogieron como parámetros

de clasificación: $c_{-5,1}$, $c_{-4,2}$, $c_{-3,0}$, $c_{-3,1}$, y $c_{-2,3}$ (círculos negros).

4. Resultados

4.1. Comparación de métodos de clasificación WSC, RFS y PCA en tren de espigas artificial

En este capítulo veremos los resultados de la clasificación basado en el método WSC, y se comparará con los métodos alternativos RFS y PCA. En esencia, para evaluar los méritos del método, se comparó la clasificación manual de 5 operadores cuyos resultados se muestran en las Tablas siguientes. Estos resultados también fueron publicados en el año 2000 (Letelier & Weber 2000) (Anexo B).

4.1.1. Agrupación en proyecciones 2-D: Matrices de Clasificación

La Tabla 4-1 muestra las matrices de clasificación (MC) para los cinco observadores inexpertos. En la Figura 8 del Anexo B se muestran algunas proyecciones 2-D que generaron las MC del observador CC.

Cada método de clasificación arrojó dos o tres Clases (filas de la MC). Las 100 espigas de cada tipo (columnas de la MC) fueron asignadas a una de estas Clases, o a una "Clase 0" de espigas no clasificables. Para efectos de análisis, para cada MC, el número de cada Clase corresponde al tipo de espiga que prevalecía en ella. Además, en

la Tabla 4-1 se resalta para cada tipo de espiga (T-I, T-II y T-III) a qué clase se asignó la mayoría de las espigas de ese tipo. Se esperaría que una clasificación exitosa agrupara la mayoría de las espigas T-I en la Clase 1, la mayoría de las espigas T-II en la Clase 2, etcétera. Es decir, los valores resaltados deberían alinearse en la diagonal. En la práctica, para los observadores inexpertos, ello no sucedió en las MC del método PCA ni del método RFS.

Como era de esperar, las espigas T-I fueron correctamente clasificadas con los tres métodos. Para las espigas T-I, el método PCA fue el más eficiente, con 92-99% de clasificaciones correctas, 0% de asignaciones incorrectas y 1-8% de espigas T-I no asignadas. El método WSC fue, para estas espigas, menos eficiente, con sólo 80-88% de asignaciones correctas, 2-5% de asignaciones incorrectas y 8-19% de espigas no clasificadas.

En cuanto a las espigas T-II y T-III, cuyo perfil temporal era intencionalmente similar, los resultados de clasificación varió según el método usado.

Con PCA, todos los observadores inexpertos agruparon en una única Clase (llamada "Clase 2") el 81-94% de las espigas T-II y el 91-99% de las espigas T-III. Es decir, el algoritmos PCA "atribuyó" las diferencias en los perfiles temporales de ambos tipos como ruido.

Con RFS, todos los observadores separaron una Clase 3, que contenía casi la totalidad (88-98%) de las espigas T-III, y más de la mitad (53-60%) de las espigas T-II; y una Clase 2, que agrupó aprox. un tercio (29-38%) de las espigas T-II. En consecuencia, si bien se distinguió entre espigas T-II y T-III, la mayoría de estas espigas aún se agruparon en una misma clase (Clase 3).

Con WSC, en cambio, las espigas T-II se asignaron mayoritariamente (67-93%) a una Clase 2, y las espigas T-III, a una Clase 3 (76-79%).

Se observa una diversidad peculiar en las MC del método WSC. Los observadores PH y JM, cuyas MC para PCA y RFS son muy similares a las de los demás observadores, generaron MC marcadamente diferentes con WSC. El número de asignaciones correctas (valores resaltados en la Tabla 4-1) de las espigas T-I y T-II de estos observadores es notablemente menor que las de los observadores restantes. Ello se debe a un mayor número de espigas, especialmente espigas T-I y T-II, no asignadas, e implica mayores valores de los indicadores de error de clasificación para

Tabla 4-1. Matrices de Clasificación individuales para métodos WSC, PCA y RFS (observadores inexpertos)

	Clase	WSC			PCA			RFS		
		T I	T II	T III	T I	T II	T III	T I	T II	T III
JCL	Clase 1	88	0	0	99	0	0	98	0	0
	Clase 2	1	90	15	0	94	99	0	34	0
	Clase 3	3	3	79	-	-	-	1	60	98
GM	Clase 1	85	0	1	97	1	0	95	2	0
	Clase 2	2	90	16	0	87	92	0	35	0
	Clase 3	3	3	79	-	-	-	1	60	96
CC (*)	Clase 1	86	0	0	95	1	0	83	0	0
	Clase 2	1	93	16	0	91	91	2	38	0
	Clase 3	2	3	79	-	-	-	1	58	96
JM	Clase 1	80	0	0	92	0	0	95	0	2
	Clase 2	0	80	16	0	81	94	1	34	0
	Clase 3	2	2	79	-	-	-	0	53	88
PH	Clase 1	79	0	0	93	0	0	85	0	0
	Clase 2	0	67	10	0	89	92	0	29	0
	Clase 3	2	2	76	-	-	-	1	57	90

(*) El observador CC se consideró representativo para el conjunto de observadores inexpertos, debido a la similitud entre sus matrices de clasificación y el promedio de las matrices de los cinco observadores (Tabla 4-2). Valores resaltados: Clase en la que se agrupó el mayor número de espigas de cada tipo.

Tabla 4-2. Matrices de Clasificación para métodos WSC, PCA y RFS: observadores inexpertos (promedio) y experta

		WSC			PCA			RFS		
		T I	T II	T III	T I	T II	T III	T I	T II	T III
Inexpertos (promedio)	Clase 1	84	0	0	95	0	0	91	0	0
	Clase 2	1	84	15	0	88	94	1	34	0
	Clase 3	2	3	78	-	-	-	1	58	94
	Clase 0*	13	13	7	5	12	6	7	8	6
Experta	Clase 1	87	0	0	94	0	0	95	2	0
	Clase 2	1	93	17	0	51	2	0	88	18
	Clase 3	3	3	80	0	42	94	0	5	78
	Clase 0*	9	4	3	6	7	4	5	5	4

*Clase 0 = espigas no clasificadas

Tabla 4-3. Indicadores de error para métodos WSC, PCA y RFS y para 6 observadores.

Observador	No asignadas ("Clase 0")			Asignación incorrecta			Índice de Error		
	WSC	PCA	RFS	WSC	PCA	RFS	WSC	PCA	RFS
JCL	21	8	9	22	99	61	1,82	8,24	5,23
GM	21	23	11	25	93	63	1,94	8,20	5,22
CC	20	22	22	22	92	61	1,85	8,13	5,20
JM	41	33	27	20	94	56	2,41	8,49	5,18
PH	64	26	38	14	92	58	3,06	8,25	5,73
Promedio de obs. inexpertos	33,4	22,4	21,4	20,6	94,0	59,8	2,22	8,26	5,31
Obs. experta	16	17	14	24	44	25	1,81	3,87	1,88

los observadores PH y JM en el método WSC, especialmente en el Índice de Error (Tabla 4-3). En la Figura 4-1 se contrastan las agrupaciones efectuadas con WSC por el observador PH, con aquellas del observador CC (observador inexperto representativo), y de la autora de esta tesis (observadora experta).

Las MC de los observadores inexpertos se promediaron para contrastarlas con las MC logradas por la autora de la tesis, observadora experta a fuerza de haber diseñado, programado y probado el software innumerables veces en este conjunto de datos artificiales. En la Tabla 4-2 se comparan, para cada método, la MC promediada de los cinco observadores inexpertos con una MC lograda por la observadora experta.

Al programar la interfase gráfica, la observadora experta tenía acceso a su propia MC durante la clasificación. En base a esa información, aprendió a distinguir, en las proyecciones de coeficientes PCA, tres clases que contenían la mayoría de las espigas T-I, T-II y T-III, respectivamente (Tabla 4-2, Figura 4-2). La Clase 2 agrupó sólo una estrecha mayoría de 51/100 de espigas T-II; el 42% de las espigas T-II contaminaron la Clase 3. Además, la división de la "Clase 2" en las proyecciones 2-D ópticamente no es muy convincente, por lo cual no es de extrañar que ninguno de los observadores inexpertos la haya logrado (Figura 4-2).

Con RFS, el mismo procedimiento le permitió a la observadora experta una mejor clasificación de las espigas T-II (82% en Clase 2) y T-III (78% en Clase 3) (Tabla 4-2, Figura 4-3). Numéricamente, este resultado es muy similar al que se obtuvo con WSC, pero visualmente no es muy convincente.

Cabe recalcar que la metodología será útil solamente si conduce a una clasificación exitosa para el observador que aquí llamamos "inexperto", puesto que ante señales reales, todos los observadores somos "inexpertos" en el sentido que no podemos comprobar la validez de nuestro resultado. De acuerdo a este criterio, la WSC supera ampliamente los métodos RFS y PCA en la clasificación de este conjunto de espigas artificiales.

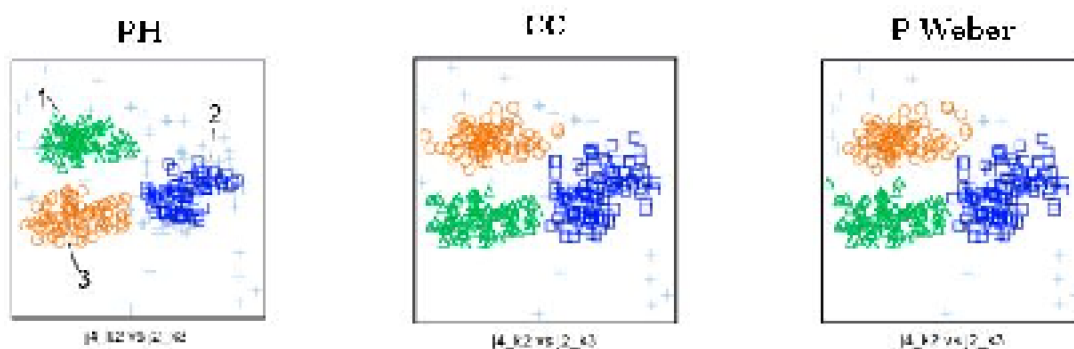


Figura 4-1. Agrupación por método WSC.

En las proyecciones 2-D de coeficientes DWT, el observador inexperto PH delimitó "nubes" más pequeñas (especialmente Clases 1 y 2). En consecuencia, aumentaron el número de espigas no asignadas (+) y los indicadores de error de Clasificación para WSC (Tabla 4-3). El observador CC (y los observadores JCL y GM) delimitaron nubes similares a la de la observadora experta P.Weber.

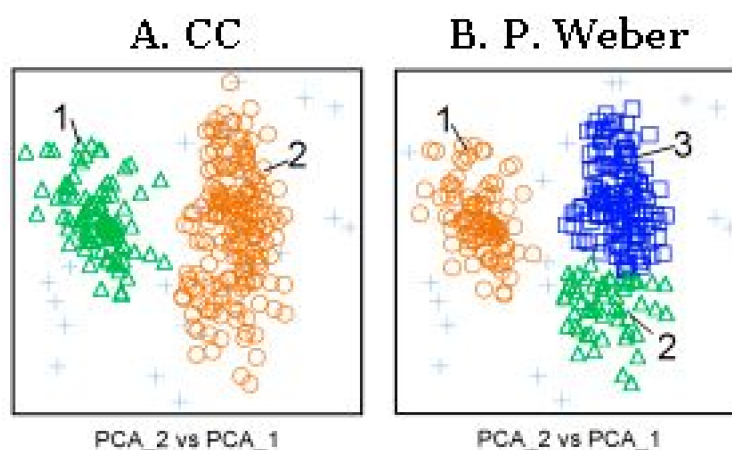
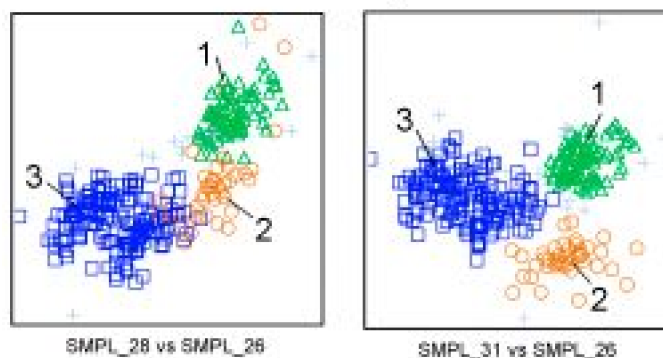


Figura 4-2. Agrupación con coeficientes PCA

A. Los observadores inexpertos (aquí representados por observador CC) separaron sólo dos clases, que en promedio contenían 95 (Clase 1) y 182 (Clase 2) espigas, respectivamente.

B. La observadora experta (y autora de la tesis) logró, inspeccionando la matriz de clasificación, separar tres clases de 94, 53 y 136 espigas, respectivamente (Tabla 4-2). En consecuencia, el Índice de Error bajó a menos de la mitad (Tabla 4-3).

A. CC (inexperto)



B. P Weber (experta)

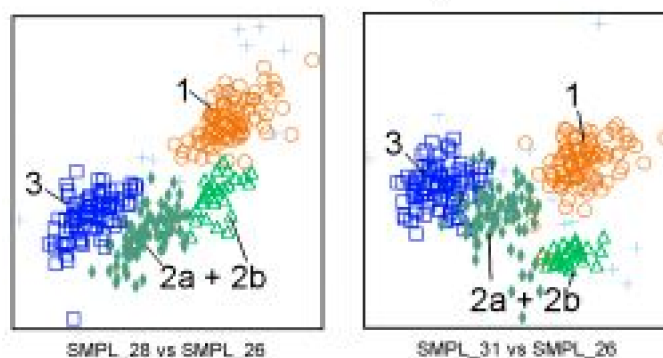


Figura 4-3. Agrupación con coeficientes RFS

A. El observador inexperto CC agrupó tres clases, una de las cuales contenía el 58% de las espigas T-II y el 96% de las espigas T-III (Clase 3, Tabla 4-3). En tanto, la Clase 2 sólo contenía el 34% de las espigas T-II.

B. La autora de la tesis aprendió a separar las espigas T-II de las espigas T-III durante la programación de esta interfase. Los resultados de 88% y 75% de agrupación correcta para las espigas T-II y T-III (Tabla 4-3) se logran uniendo en una sola clase (Clase 2) los grupos 2a y 2b.

4.1.2. Indicadores de errores de clasificación

La Tabla 4-3 muestra los indicadores de error de clasificación para los tres métodos y todos los observadores.

Para el método WSC, los observadores inexpertos JCL, GM y CC y la observadora experta P. Weber presentaron números similares de espigas no asignadas y asignaciones incorrectas. El número de asignaciones incorrectas y, en consecuencia, el Índice de Error de la WSC para estos 4 observadores arrojaron valores casi idénticos.

Los observadores inexpertos JM y PH mostraron cierta tendencia de dejar un mayor número de espigas sin asignar, sobre todo para el método WSC (41 y 64 espigas sin asignar por JM y PH, respectivamente, comparado con 20-21 para JCL, GM y CC). En

consecuencia, los Índices de Error para WSC de estos observadores arrojaron valores notablemente mayores que para los observadores restantes (2,4 y 3,1 para JM y PH, respectivamente, comparado con 1,8-1,9).

Para los métodos PCA y RFS, tanto el número de asignaciones incorrectas como los Índices de Error fueron similares para todos los observadores inexpertos. La observadora experta, quien podía acceder su propia matriz de clasificación, logró Índices de Error menores que los de los observadores inexpertos. Ello se debe al menor número de asignaciones incorrectas para estos métodos, comparado con las asignaciones de los observadores inexpertos, quienes no tenían acceso a sus propias matrices de clasificación.

En resumen, en términos de Índice de Error, el método WSC superó con creces los métodos PCA y RFS en todos los observadores, con la sola excepción del método RFS aplicado por la observadora experta, que por su conocimiento previo de la estructura de los datos obtuvo un Índice de Error casi tan reducido como el método WSC.

4.2. Método WSC en datos reales

A continuación, se presentan los resultados del método WSC y de los métodos PCA y RFS en registros reales. Estos resultados se discutirán en el siguiente capítulo. En el registro extracelular en tectum de paloma, el método WSC con wavelet Daub-4 (Figura 3-3) permitió separar la población de 484 espigas detectadas en 3 clases de 223, 26 y 231 espigas, respectivamente (Figura 4-4). Cuatro espigas permanecieron en la "Clase 0" de espigas no clasificadas.

De las tres clases, dos corresponden claramente a espigas provenientes de dos neuronas distintas. La tercera clase corresponde a ruido eléctrico de mayor amplitud que fue detectado como espigas (falsos positivos de detección). Cabe hacer notar la amplitud muy similar entre las espigas de la Clase 2 y las "espigas de ruido" agrupadas en la Clase 3. En este caso, los coeficientes DWT con mayor potencial clasificador fueron $c_{-4,0}$, $c_{-3,1}$, $c_{-2,4}$ y $c_{-2,5}$.

Con el método PCA se logró separar las mismas tres Clases, con prácticamente el mismo número de espigas: 224, 28 y 229 espigas en Clase 1, 2 y 3, respectivamente; 3 espigas no clasificadas (Figura 4-5). A diferencia del método WSC, la PCA diferenció las tres clases prácticamente en base a un solo coeficiente (primer coeficiente, "PCA0", Figura 4-5 A). Esto refleja la gran capacidad de compresión de la PCA, que sin embargo va asociada a una gran especificidad.

El método RFS logró reconocer y distinguir entre estas tres tipos de espiga, si bien la clase de la espiga menos numerosa y de menor amplitud (Clase 2), confluye con la clase de las "espigas de ruido" (Clase 3) y contiene un mayor número de espigas que en las clasificaciones efectuadas con WSC y PCA ($n=39$ para RFS, comparado con $n=26$ y $n=28$ para WSC y PCA). Las Clases 1 y 3 agruparon 221 y 210 espigas, respectivamente, y quedaron 14 espigas sin asignar. Las muestras usadas para la clasificación

correspondían a las muestras nº 23 (localización del primer mínimo), 24, 27 y 29. En la proyección A1 de la Figura 4-6, el eje horizontal ("coeficiente" o muestra nº 23) corresponde a la amplitud máxima de cada espiga, reflejando el criterio de amplitud mínima del algoritmo de detección.

Espigas de Capa 13 (Tectum de Paloma)

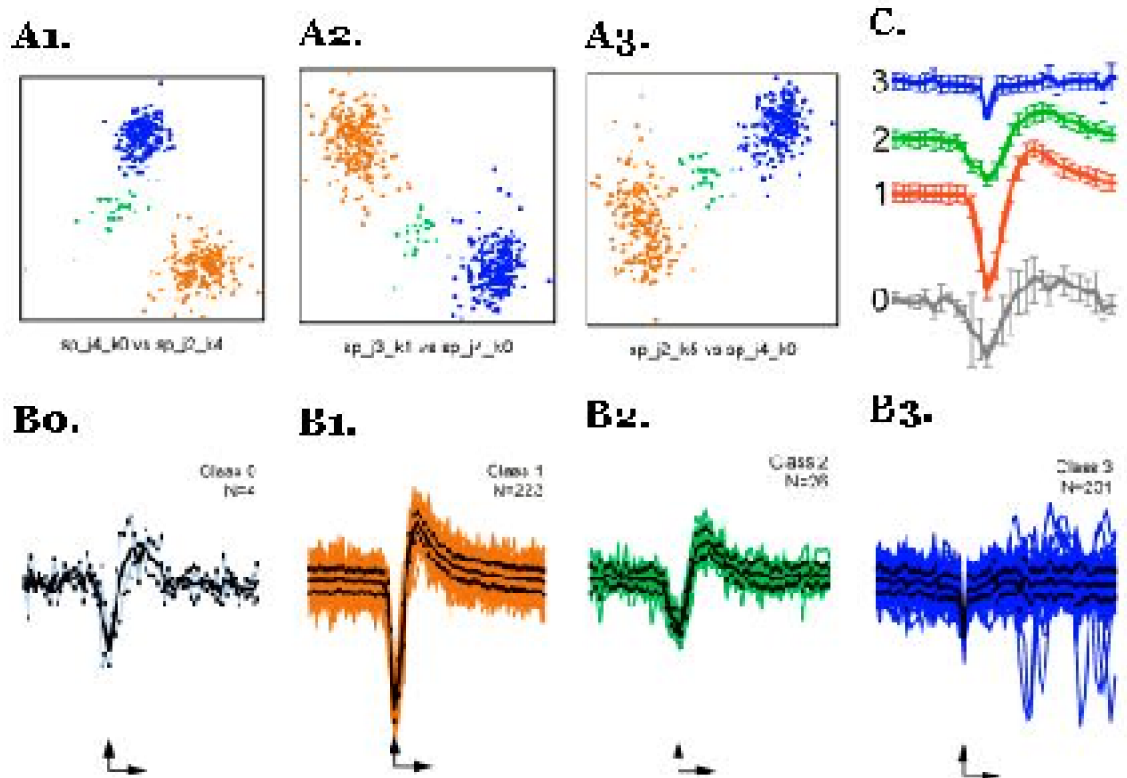


Figura 4-4: Método WSC (Daub-4)

A. Proyecciones 2-D de parámetros WSC (wavelet Daub-4, Figura 3-5). B. Se aíslan tres clases, una de 223 espigas de gran amplitud (B1), una de 26 espigas de amplitud pequeña (B2), y una clase de 231 "espigas de ruido" (B3). Quedaron 4 espigas sin asignar ("Clase 0", B0). C. Promedios ± 1 SD para cada clase.

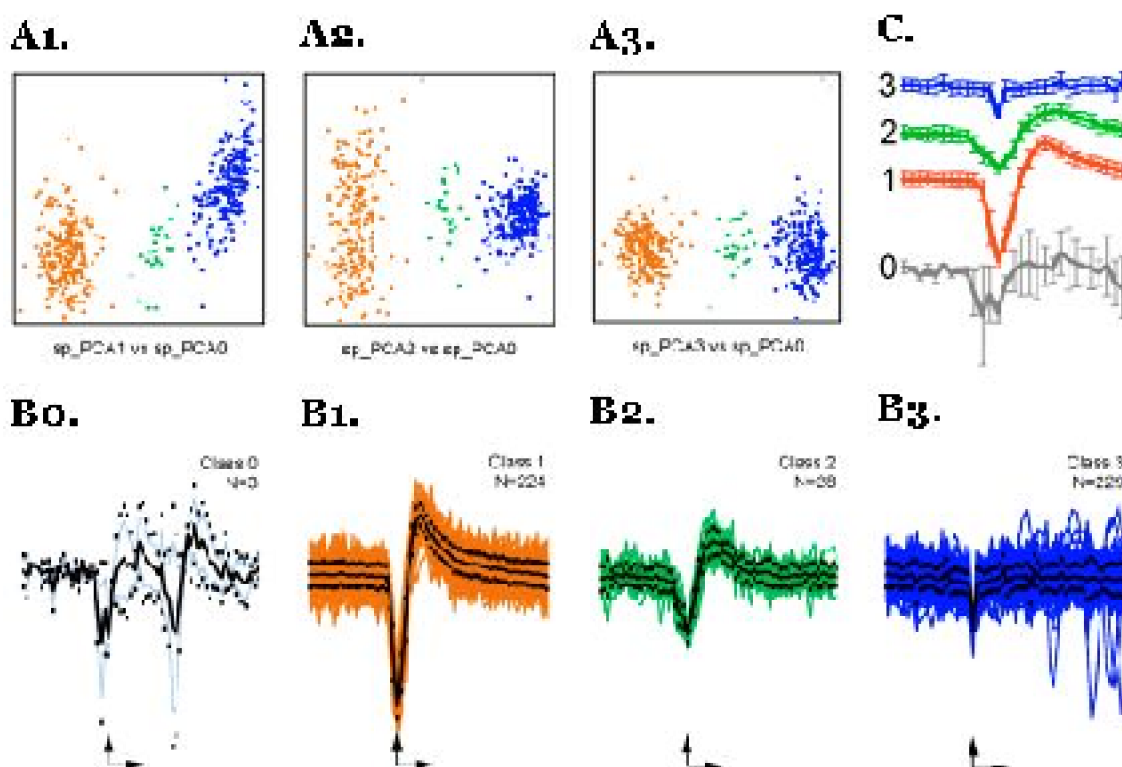


Figura 4-5: Método PCA

A. Proyecciones 2-D de parámetros PCA: 2° vs 1° (A1), 3° vs 1° (A2), 4° vs 1° (A3). Esencialmente, el coeficiente clasificador es el 1° coeficiente PCA. B. Las Clases aisladas se asemejan a las con WSC, con 224, 28 y 229 espigas en Clase 1 (B1), Clase 2 (B2), y Clase 3 (B3), y 3 espigas no clasificadas ("Clase 0", B0). C. Promedios ± 1 SD para cada clase.

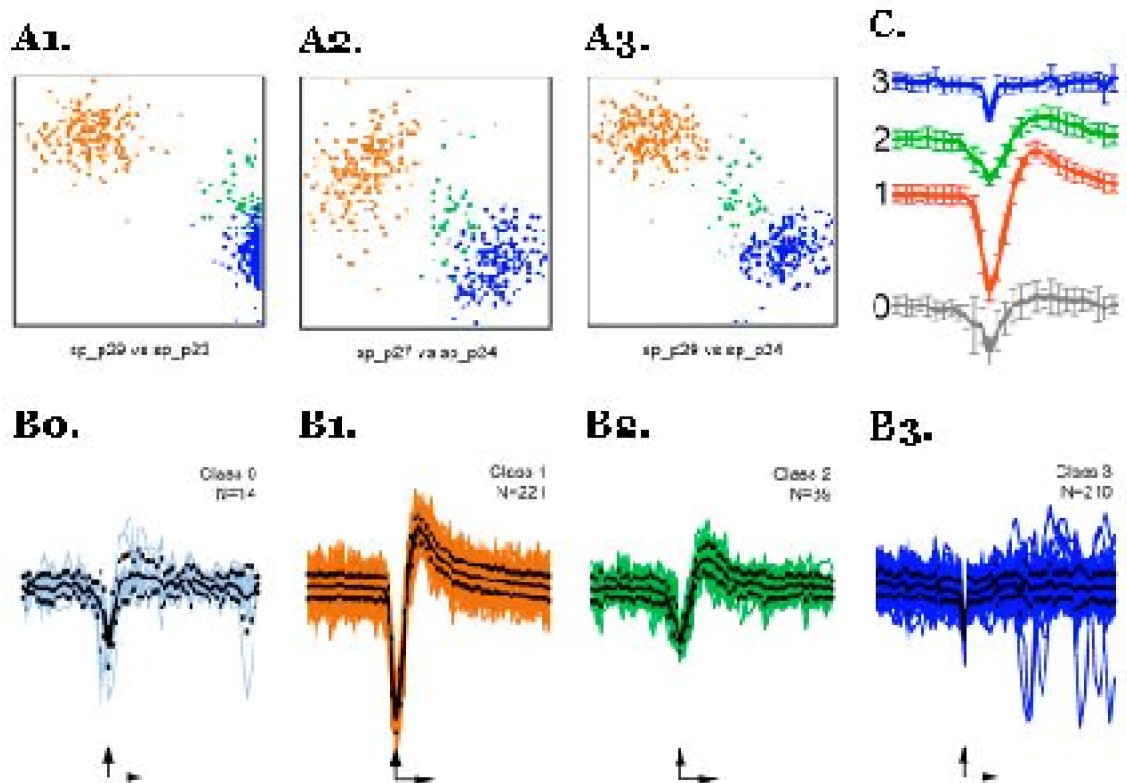


Figura 4-6. Método RFS

A. Proyecciones 2-D de parámetros RFS, muestras n° 29 vs 23 (A1), 27 vs 24 (A2) y 29 vs 24 (A3). La muestra 23 corresponde a la máxima amplitud negativa (ver Figura 3-1).
 B. Se aislaron una Clase muy delimitada (Clase 1, 221 espigas, B1); y 2 Clases poco delimitadas Clase 2 (B2, 39 espigas) y Clase 3 (B3, 210 espigas). 14 espigas no fueron clasificadas (B0).
 C. Promedios ± 1 SD para cada clase.

5. Discusión

El análisis de wavelets es una herramienta matemática que ha tenido un alto impacto en el análisis de señales biomédicas. Treinta años atrás era realmente revolucionaria la idea de una ventana de análisis que se ajustara a los componentes de frecuencia, ensanchándose para evaluar cambios lentos y globales, y mostrando los detalles localizados a un mayor aumento. El hecho que se pudiera encontrar una transformada ortogonal y de implementación extraordinariamente rápida tomó por sorpresa a la comunidad científica (Meyer 1993). Pero lo más extraordinario fue el cambio conceptual de frecuencias definidas como invariables y estacionarias, a una visión de escalas que reflejan la estructura dinámica de señales altamente no estacionarias (Burke-Hubbard 1995).

Luego de una intensa década de desarrollo teórico en los años ochenta del siglo 20, resumida en (Meyer 1993, Burke-Hubbard 1995), surgieron rápidamente las aplicaciones en el área biomédica. Sin duda influyó el hecho de que muchas wavelets tienen un notable parecido con señales electrofisiológicas: complejos QRS en electrocardiogramas, potenciales evocados en electroencefalogramas, y por supuesto espigas en registros extracelulares de tejido nervioso. De hecho, las primeras aplicaciones fueron en electrofisiología del sistema nervioso (Akay y *col.* 1994, Bertrand y *col.* 1994, Aldroubi & Unser 1996) y cardiovascular (Aldroubi & Unser 1996). También abundaron las aplicaciones en la imagenología médica, especialmente en la compresión y análisis de imágenes tomográficas (Aldroubi & Unser 1996).

Sin embargo, el análisis de wavelet no sólo permitió efectuar un procesamiento más

adecuado de las señales biomédicas, también invitó a experimentar con métodos nuevos. El análisis de frecuencias se había desechado tempranamente como criterio de clasificación de espigas extracelulares (Schmidt 1984b). La aplicación exitosa de métodos wavelet en potenciales evocados (Zouridakis y col. 1997) invitaba a intentarlo con espigas extracelulares (Zouridakis & Tam 1997). Este primer intento no tuvo mucha repercusión en los neurofisiólogos. Por una parte, el uso del PCA parecía haberse convertido en un estándar para la clasificación de espigas (Lewicki 1998). Por otra parte, la teoría subyacente del análisis de wavelets parecía difícil de implementar. La mayoría de la literatura sobre wavelets está escrita por matemáticos, ingenieros o físicos, y dirigida a lectores con una sólida formación en cálculo. Esta literatura es difícil de entender para la mayoría de los científicos biomédicos (Samar y col. 1999). Finalmente, los datos artificiales de Zouridakis y Tam (1997) tenían una relación señal/ruido muy alta, y eran a simple vista muy fáciles de clasificar con cualquier método de discriminación por amplitud. Este hecho me indujo, durante el desarrollo de esta tesis, a poner especial cuidado en el diseño de nuestro tren de espigas artificial, generando un registro especialmente difícil con ruido de gran amplitud y espigas de perfiles muy similares.

5.1. Análisis de resultados

El método WSC (Letelier & Weber 2000, Anexo B) se desarrolló con un enfoque de reconocimiento de patrones. La idea fundamental en que se apoya el método WSC es que cada una de las características que hace que dos espigas ruidosas se vean diferentes al observador humano, se puede cuantificar en uno o en pocos coeficientes DWT (Letelier & Weber 2000).

En esta tesis, se presenta la aplicación del método WSC en dos circunstancias. Primero, se contrasta con dos métodos pre-existentes en una población de espigas conocida (espigas artificiales). Luego se utiliza para clasificar espigas de muy baja amplitud en un registro ruidoso.

Los resultados de la comparación del método WSC con los métodos PCA y RFS y el análisis de las matrices de clasificación de los observadores inexpertos se encuentran y discuten en el Anexo B. Los resultados obtenidos por la observadora experta (autora de esta tesis) se resumen en la sección de Resultados.

En los datos artificiales, los resultados con WSC superaron los del PCA o RFS. El fracaso del PCA en distinguir entre las espigas generadas por las espigas tipo II y III fue inesperado. Mientras programaba la interfase de *clustering*, agrupando una y otra vez las espigas según sus coeficientes PCA, logré finalmente una separación poco obvia de las espigas tipo II y tipo III en dos Clases (Clase 2 y Clase 3) (Tabla 4-2, Figura 4-2). Sin embargo, dudaba si hubiese siquiera intentado esta separación si no hubiese sabido, a ciencia cierta, que habían tres grupos de igual número de espigas. Por ello no informé a los observadores inexpertos con cuántas espigas tipo había construido el registro artificial. Todos ellos, sin excepción, separaron solamente dos grupos en las proyecciones de coeficientes PCA, pero tres grupos con WSC y RFS (Tabla 4-1). En

consecuencia, el índice de error (IE) promedio de los observadores inexpertos fue muy alto para el PCA (IE=8,26, comparado con IE=2,22 para WSC). La observadora experta obtuvo un mejor índice de error para PCA que los observadores inexpertos (3,87 vs 8,26). Aún así, la observadora experta obtuvo resultados claramente inferiores para PCA que para WSC (IE=3,87 vs IE=1,81).

Estos resultados muestran el peligro que corre el usuario con PCA, al comprimir en exceso la información de los perfiles de espiga. Los componentes PCA son calculados de forma tal que un número mínimo de componentes principales capturen el máximo de variación entre las espigas de la población. Ello conlleva a que rasgos localizados del perfil temporal de las espigas tiendan a ser atribuidos a ruido y no a características distintivas de una subpoblación. La PCA tiende a atribuir mayor importancia a características globales que a detalles localizados. En consecuencia, los primeros componentes PCA, a los que se atribuye el mayor potencial clasificador, contienen más bien componentes de bajas frecuencias. Los componentes de altas frecuencias de las espigas están distribuidos en los componentes PCA de menor importancia, y no se usan para la clasificación (Lewicki 1998). Justamente, tales componentes distinguen las espigas T-II y T-III (Figura 4-2).

La separación mediante RFS fue muy exitosa, considerando la simplicidad del método y el grado de dificultad de los datos artificiales. La Figura 4-3 muestra que las espigas T-II y T-III forman, efectivamente, nubes diferenciables, aunque confluentes. El criterio de agrupación (*clustering*) gráfico indujo a los observadores inexpertos a agrupar la nube 2a con la nube 3, lo cual da cuenta del índice de error claramente mayor para RFS (IE=5,31) vs WSC (IE=2,22). Agrupando la nube 2a con la nube 2b, la operadora experta obtuvo índices de error similares para RFS (IE=1,88) y WSC (IE=1,81).

Mi experiencia como programadora de la interfase hizo una gran diferencia en el análisis de los datos artificiales por los métodos PCA y RFS (Figura 4-3), pero no para el método WSC (Tabla 4-2). Las matrices de clasificación de los observadores inexpertos y las mías son comparables.

En el análisis de los datos experimentales, se extrajeron 484 espigas que se clasificaron mediante los tres métodos: WSC con Daub 4 (Figura 4-4), PCA (Figura 4-5) y RFS (Figura 4-6). Los tres métodos arrojaron tres nubes claramente distinguibles. El número de espigas no clasificadas fue < 1% para PCA y WSC, y 2,9% (14/484) para RFS.

Comparando los trazos promedio para las clases 1, 2 y 3 (Gráfico C de las figuras), se concluye que las poblaciones seleccionadas por los tres métodos son, en términos generales, las mismas. La Clase 1 está compuesta por espigas de gran amplitud, la clase 2, por espigas de menor amplitud, y la Clase 3 por lo que claramente son “espigas de ruido”, es decir, falsos positivos de detección. Las espigas de ruido conforman casi el 50% de la población total de espigas detectadas (210/484 – 231/484), lo cual se debe a un criterio de detección muy permisivo. En el Gráfico A1 de la Figura 4-6, se hace evidente que sin esa permisividad, no se habrían detectado un gran porcentaje de las espigas Clase 2. En ese gráfico, el eje horizontal representa la muestra 23 de las espigas, es decir, el valor de amplitud mínima, en el cual están centradas todas las espigas. La nube de puntos verdes que representa las espigas Clase 2 se extiende hasta al límite

derecho del gráfico. Una mayor permisividad del criterio de detección probablemente permitiría detectar algunas espigas Clase 2 adicionales, pero el número de espigas de ruido (Clase 3) crecería a valores inmanejables.

Comparando los Gráficos B1 de las tres Figuras, se observa que los tres métodos obtienen un número muy similar de espigas Clase 1 (WSC: 223, PCA: 224, RFS: 221). Para la Clase 2 (Gráficos B2), la RFS detectó notablemente más espigas (N=39) que WSC (N=26) y PCA (N=28). Al mismo tiempo, la RFS reconoce un número notablemente menor de espigas Clase 3 ó “espigas de ruido” (N=210, vs N=231 con WSC y N=229 con PCA). Se concluye que aprox. 30% de las espigas Clase 2 detectadas por RFS son en realidad falsas asignaciones de “espigas de ruido”. Esta dificultad de método RFS para distinguir entre espigas de baja amplitud (Clase 2) y ruido (Clase 3) es también responsable del mayor porcentaje de espigas no clasificadas por RFS.

Los resultados de la clasificación mediante PCA y WSC son extremadamente similares. Llama la atención que en el método PCA, la agrupación (Gráficos A1 – A3 de Figura 4-5) se basa exclusivamente en el primer componente principal (coeficiente PCA0, en eje horizontal de los tres gráficos). En el Gráfico A1, la nube de la Clase 3 (en azul) está ligeramente desplazada hacia arriba, lo cual indica que el segundo componente principal (PCA1) tiene una limitada capacidad de distinguir entre espigas de ruido (Clase 3) y espigas propiamente tales (Clase 1 y Clase 2). Este resultado es de esperar si se observa que las espigas Clase 1 tiene forma prácticamente igual a las espigas Clase 2.

Sin embargo, entre las espigas no clasificadas por PCA (Gráfico B0 de la Figura 4-5) se nota una espiga con un *peak* negativo a la derecha del *peak* principal. Este perfil corresponde a una espiga de ruido (Clase 3) seguida inmediatamente por una espiga Clase 1. Los métodos RFS y WSC no tuvieron problemas en asignar esta espiga a la Clase 3, en cambio, con el método PCA quedó sin clasificar.

En la actualidad, el método WSC se utiliza en el Laboratorio de Neurobiología y Biología del Conocer para describir las respuestas de las células de la capa 13 del tectum de paloma a diferentes escalas temporales. Asimismo, Carlos Maureira, un tesista del programa de Doctorado de Biología de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Chile, dirigido por el Dr. Pedro Labarca Prado, utiliza el método WSC para clasificar espigas extracelulares en *Drosophila* (Anexo C). Cuatro trabajos publicados en revistas internacionales mencionan nuestro método, entre ellos (Gerstein & Kirkland 2001).

5.2. Potencial de Desarrollo del Método

Tal como está, el método WSC ya ha mostrado una sorprendente capacidad para distinguir entre espigas de perfiles muy similares en presencia de ruido de gran amplitud. En este momento, el método se beneficiaría de cuatro mejoras importantes:

- un buen y confiable algoritmo de detección y centrado
- optimización en cuanto a familia de wavelets y uso de transformadas alternativas

wavelet packets)

- la selección automática de parámetros de clasificación
- un algoritmo de *clustering*, probablemente con interacción de usuario

Algoritmo de Detección

El algoritmo de detección usado por nosotros ahora es muy sencillo: un detector de amplitud seguido por criterios poco estrictos de primera derivada para determinar si se trata efectivamente de un máximo (mínimo) local. Dado que la clasificación por forma es tan eficiente en distinguir entre un evento válido (espiga) y uno no válido (ruido, artefacto), el clasificador se puede permitir una mayor tasa de error en la detección. De hecho, en el registro real mostrado, $223/484 = 46\%$ de las espigas clasificadas eran "espigas de ruido", lo cual no impidió detectar el pequeño grupo de espigas de baja amplitud (26 espigas). La PCA no se puede dar este lujo, ya que por su gran número, estas "espigas de ruido" determinarían en forma importante la forma de los primeros componentes principales. De hecho, éste es el caso para el componente principal PCA1. Por ello se publican tantos algoritmos de detección que se aseguran minimizar los errores de detección, para que la PCA se calcule sobre una población "pura" de espigas válidas. Ello implica que espigas de muy baja amplitud generalmente ni siquiera son detectadas ni extraídas.

Lo mismo sucede con las superposiciones. La PCA tiene grandes dificultades con las superposiciones "cercanas" (tiempo entre máximos < 1 ms). Eventos de superposiciones son generalmente excluidas del análisis ya en la etapa de detección. Se describen criterios de hasta 2 ms entre máximos. Esto no sería necesario con la WSC, ya que los coeficientes DWT son, por diseño, localizados.

Selección de transformada de wavelets

Poco después de la publicación del método WSC se consideró usar *wavelet packets*, una técnica muy relacionado con la DWT, como una mejor alternativa para la clasificación de espigas extracelulares (Hulata y col. 2002). Los *wavelet packets* permiten una segmentación del espacio frecuencia-tiempo que se adapte mejor a la estructura frecuencia-tiempo de la señal que la segmentación genérica impuesta por la DWT (Mallat 1999). La implementación es más compleja, ya que hay que encontrar la mejor base para esa señal específica (*matching pursuit*). Sin embargo, se especula que en el caso de las superposiciones, los coeficientes DWT de gran escala (bajas frecuencias) abarcan intervalos temporales que exceden en mucho los 1-2 ms de duración de las espigas. Los *wavelet packets* permitirían estimar específicamente los componentes de baja frecuencia con mayor localización temporal, a costa de una peor localización en frecuencias. (Hulata y col. 2002). Una consecuencia desventajosa es que la segmentación que es óptima para un grupo de espigas, no necesariamente lo es para otro grupo. Se presenta el dilema de la especificidad de la descomposición para ese set de señales, tal como en la PCA, con todos los problemas que ello conlleva.

Selección de la mejor base

Tanto la DWT como las *wavelet packets* pueden ser implementadas por varias familias de wavelets. Escoger la mejor familia de wavelets (o bien generar una familia

propia, adaptada a las espiga extracelulares), requiere una larga investigación, y sobre todo un gran entendimiento de los detalles matemáticos de la construcción de wavelets.

Trataré de explicitar esto con un ejemplo: en el caso de las wavelet Daubechies (Chui 1997), se han descrito 10 de ellas, con tamaños de kernel que varían desde 2 (Daub-2 o wavelet de Haar) hasta 20 valores (Daub-20) (ver Figura 2-3). A mayor tamaño de kernel, las wavelets generadas por ese kernel son más suaves y "mejor comportadas" en el dominio de frecuencias (filtros pasa-banda más precisos). Obviamente, estas ventajas vienen a un costo. En el dominio del tiempo, las wavelets Daubechies de gran kernel de convolución oscilan muchas veces antes de decaer a cero, y por consiguiente, en la práctica, el "ancho" temporal de tales wavelets es bastante mayor que $s_j = 2^j$ muestras.

Si se desea mayor precisión temporal, se debe usar wavelets Daubechies de kernel más pequeño, que oscilan un menor número de veces y decaen rápidamente en el dominio temporal. Desgraciadamente, estas wavelets son todo menos suaves, y como filtros pasa-banda dejan bastante que desear. Llevados al límite, la wavelet Daub-2, que corresponde a la base Haar originalmente descrita en 1909, ni siquiera es una "wavelet" propiamente tal: no tiene soporte compacto en el dominio de frecuencias.

En el caso de las espigas extracelulares, la wavelet Daub-8 utilizada por nosotros es un compromiso entre suavidad y localización temporal. A raíz de nuestra publicación en el año 2000, el grupo de George Gerstein, en la Universidad de Pennsylvania, ha implementado la WSC y la ha comparado con las clasificaciones obtenidas con PCA. En muchos casos, la wavelet Daub-10 ha demostrado mejores resultados que coeficientes PCA calculados a partir de una base de datos de componentes principales recogidos de un gran número de registros (comunicación personal Gerstein 2002).

Intuitivamente, está claro que para perfiles más suaves y más oscilatorios como lo son, por ejemplo, los potenciales de campo locales, se obtendrían mejores resultados con wavelets más suaves (Daub-14, 16 etc) o posiblemente wavelets simétricas. De hecho, la mayoría de los análisis de EEG se hacen con transformada de wavelet continua (CWT), que usa wavelets por lo general más suaves y tiene la ventaja adicional de ser invariante frente al corrimiento temporal (*shift-invariant*). Para la clasificación de espigas extracelulares como las que obtenemos nosotros en tectum de paloma, tiene más sentido usar coeficientes DWT, que si bien se alteran con un corrimiento temporal, es no redundante, ortogonal, y entrega resultados bastante buenos para fines de clasificación.

Si se deseara efectuar un análisis fisiológico de la forma de la espiga, probablemente valdría la pena implementar una forma transformada de wavelet semi-continua: "continua" en tiempo, diádica en frecuencia (bandas de frecuencia f_j). La transformada de wavelet semi-continua deja de ser ortogonal, pero facilita la interpretación de los coeficientes, sobre todo de los coeficientes de bajas frecuencias.

Contribuciones previas

En los aprox. 15 años de literatura de wavelet (1985-2000) previas a la publicación del método WSC, se utilizaron wavelets para analizar todo tipo de datos neurofisiológicos, incluyendo potenciales evocados. Pero no se había publicado ningún intento de usar coeficientes DWT para la clasificación de espigas extracelulares, y sólo una publicación

que proponía un método de clasificación basado en coeficientes de alguna transformada de wavelets.

Zouridakis y Tam publicaron, en 1997, un artículo titulado *Multi-unit spike discrimination using wavelet transforms*. El título induce a confusiones: se trata de un método de "corrección de fase" (*phase correction*) implementado por una transformada de wavelets semidiscreta para corregir la latencia de componentes del perfil de espigas, y para reducir el ruido. Supuestamente, este método podría ayudar en resolver superposiciones. Requiere conocer el "*spike template*" de la espiga por analizar (es decir, la forma de la espiga aislada, sin ruido), para lo cual propone algoritmos de Lógica Difusa (*fuzzy logic*) previamente publicados (Zouridakis y col. 1997).

El método de "corrección de fase" propuesto en esa publicación no es por mucho un método de clasificación, si bien en la publicación se refiere a él como un "detector y clasificador". Más bien se trata de una idea altamente creativa pero poco convincente de eliminar ruido y desfases temporales.

La eficacia del método es demostrada en un tren de espigas artificial con 16 espigas (dos clases de 11 y 5 espigas, respectivamente) las que, a juzgar por la Figura 6 de dicha publicación, podrían ser clasificado por un simple discriminador por amplitud. A juzgar por la misma Figura 6 y por la Tabla 1 de la misma publicación, los autores confunden espigas vecinas (separados por aprox. 3 anchos de espiga) con "superposición" en dos de los tres casos definidos como superposición. En resumen, el método expuesto en esa publicación no es convincente.

Selección automática de parámetros de clasificación

Actualmente, la selección de los h coeficientes DWT que serán usados como parámetros de clasificación para construir los gráficos de dispersión se efectúa manualmente, en base a criterios muy simples (amplitud, dispersión) y subjetivos. Sin duda, puede implementarse fácilmente un método automático y subjetivo para esta selección. Conviene, eso sí, que este método sea más bien permisivo, para no obstaculizar el paso de agrupación en el espacio h -dimensional.

Clustering automático

Se han discutido varios métodos de *clustering* automático en el marco de la clasificación de espigas extracelulares. Estos métodos van desde el *k-means clustering* que se basa en distancias Euclidianas entre las espigas en el espacio h -dimensional (Lewicki 1998, Zouridakis & Tam 2000) hasta el *Clustering Bayesiano* (Lewicki 1998). Resulta indispensable incluir ajustes adaptativos del algoritmo de agrupación para registros largos, en los cuales se observan migraciones de las nubes en el espacio h -dimensional (Fee y col. 1996, Snider & Bonds 1998). La correcta agrupación de las espigas, especialmente en registros multiunitarios, es crítica para poder correlacionar las complejas interacciones neuronales en las pequeñas redes locales con la actividad animal (Gerstein & Kirkland 2001). Todo el análisis de los patrones de descarga neuronal depende finalmente de la confiabilidad de la descarga de las distintas unidades neuronales, que se obtienen de la correcta clasificación de las espigas (Tetko & Villa 2001a, Tetko & Villa 2001b).

6. Conclusiones

La clasificación de espigas basada en coeficientes de transformada de wavelet (método WSC) demostró ser exitosa en datos artificiales y experimentales. En los datos artificiales, la comparación del WSC con los métodos preexistentes PCA y RFS favorecía claramente el método propuesto.

El método WSC se beneficiaría mucho de

- (1) una optimización en cuanto a la selección de transformada y familia de wavelets,
- (2) criterio automático para selección de coeficientes de clasificación, y
- (3) clustering automático y adaptativo.

La clasificación confiable y estable frente a cambios lentos en los perfiles de las espigas permitirá correlacionar las interacciones complejas y “transientes” en conjuntos neuronales con el comportamiento animal.

7. Bibliografía

- Akay, M., Akay, Y.M., y col.(1994). Time-frequency analysis of the electrocortical activity during maturation using wavelet transform. *Biological Cybernetics* 71(2): 169-76.
- Aldroubi, A. y Unser, M. (1996). Wavelets in Medicine and Biology. Boca Raton, NY, London, Tokyo, CRC Press.
- Bar-Gad, I., Ritov, Y.a., y col. (2001). Failure in identification of overlapping spikes from multiple neuron activity causes artificial correlations. *Journal of Neuroscience Methods* 107(1-2): 1-13.
- Bertrand, O., Bohorquez, J., y col.(1994). Time-frequency digital filtering based on an invertible wavelet transform: an application to evoked potentials. *Ieee Transactions on Biomedical Engineering* 41(1): 77-88.
- Burke-Hubbard, B. (1995). Ondes et ondelettes. La saga d'un outil mathématique. Paris, Pour la science.
- Burrus, C.S., Gopinath, R.A., y col.(1997). Introduction to Wavelets and Wavelet Transform. A Primer. New Jersey, Prentice Hall.
- Chui, C.K. (1997). Wavelets: a mathematical tool for signal analysis. Philadelphia, SIAM Society for Industrial and Applied Mathematics.
- Dickhaus, H. y Heinrich, H. (1996). Classifying biosignals with wavelet networks [a method for noninvasive diagnosis]. *IEEE Engineering in Medicine and Biology*

- Magazine* 15(5): 103-11.
- Fee, M.S., Mitra, P.P., y col. (1996). Automatic sorting of multiple unit neuronal signals in the presence of anisotropic and non-Gaussian variability [published erratum appears in *J Neurosci Methods* 1997 Feb;71(2):233]. *Journal of Neuroscience Methods* 69(2): 175-88.
- Gerstein, G.L. y Kirkland, K.L. (2001). Neural assemblies: technical issues, analysis, and modeling. *Neural Networks* 14(6-7): 589-98.
- Gray, C.M., Maldonado, P.E., y col. (1995). Tetrodes markedly improve the reliability and yield of multiple single-unit isolation from multi-unit recordings in cat striate cortex. *Journal of Neuroscience Methods* 63(1-2): 43-54.
- Gur, M., Beylin, A., y col. (1999). Physiological properties of macaque V1 neurons are correlated with extracellular spike amplitude, duration, and polarity. *Journal of Neurophysiology* 82(3): 1451-64.
- Harris, K.D., Henze, D.A., y col. (2000). Accuracy of tetrode spike separation as determined by simultaneous intracellular and extracellular measurements. *Journal of Neurophysiology* 84(1): 401-14.
- Hulata, E., Segev, R., y col. (2002). A method for spike sorting and detection based on wavelet packets and Shannon's mutual information. *Journal of Neuroscience Methods* 117(1): 1-12.
- Humphrey, D.R. (1979). Extracellular, single unit recording methods. *En: 1979 Short Course of Electrophysiological Techniques ed*. Atlanta, Georgia, Society for Neuroscience: 199-258.
- Letelier, J.C. y Weber, P.P. (2000). Spike sorting based on discrete wavelet transform coefficients. *Journal of Neuroscience Methods* 010: 93-106.
- Lewicki, M.S. (1998). A review of methods for spike sorting: the detection and classification of neural action potentials. *Network* 9(4): R53-78.
- Mallat, S. (1999). A wavelet tour of signal processing. San Diego, Academic Press.
- Meyer, I. (1993). [Book Reviews: An Introduction to Wavelets (Chui ChK), Ten Lectures on Wavelets (Daubechies I)]. *Bulletin (New Series) of the American Mathematical Society* 28(2): 350-60.
- Mitra, P.P. y Fee, M.S. (1998). The spike sorting FAQ. WAND Workshop for the Analysis of Neural Data.
- Musial, P.G., Baker, S.N., y col. (2002). Signal-to-noise ratio improvement in multiple electrode recording. *Journal of Neuroscience Methods* 115(1): 29-43.
- Nicholson, C. (1979). Generation and analysis of extracellular field potentials. *En: 1979 Short Course of Electrophysiological Techniques*. Atlanta, Georgia, Society for Neuroscience: 93-147.
- Oppenheim, A.V., Schafer, R.W., y col. (1999). Discrete-time signal processing. Upper Saddle River, New Jersey, Prentice Hall.
- Press, W.H., Flannery, B.P., y col. (1993). Numerical Recipes in C : The Art of Scientific Computing. Cambridge, Cambridge University Press.
- Quirk, M.C. y Wilson, M.A. (1999). Interaction between spike waveform classification and temporal sequence detection. *Journal of Neuroscience Methods* 94(1): 41-52.

-
- Salganicoff, M., Sarna, M., y col. (1988). Unsupervised waveform classification for multi-neuron recordings: a real-time, software-based system. I. Algorithms and implementation. *Journal of Neuroscience Methods* 25(3): 181-7.
- Samar, V.J., Bopardikar, A., y col. (1999). Wavelet analysis of neuroelectric waveforms: a conceptual tutorial. *Brain and Language* 66(1): 7-60.
- Sarna, M.F., Gochin, P., y col. (1988). Unsupervised waveform classification for multi-neuron recordings: a real-time, software-based system. II. Performance comparison to other sorters. *Journal of Neuroscience Methods* 25(3): 189-96.
- Schmidt, E.M. (1984). Instruments for sorting neuroelectric data: a review. *Journal of Neuroscience Methods* 12(1): 1-24.
- Schmidt, E.M. (1984). Computer separation of multi-unit neuroelectric data: a review. *Journal of Neuroscience Methods* 12(2): 95-111.
- Snider, R.K. y Bonds, A.B. (1998). Classification of non-stationary neural signals. *Journal of Neuroscience Methods* 84(1-2): 155-66.
- Strang, G. (1993). Wavelet transforms versus Fourier transforms. *Bulletin (New Series) of the American Mathematical Society* 28(2): 288-305.
- Tetko, I.V. y Villa, A.E.P. (2001). A pattern grouping algorithm for analysis of spatiotemporal patterns in neuronal spike trains. 1. Detection of repeated patterns. *Journal of Neuroscience Methods* 105(1): 1-14.
- Tetko, I.V. y Villa, A.E.P. (2001). A pattern grouping algorithm for analysis of spatiotemporal patterns in neuronal spike trains. 2. Application to simultaneous single unit recordings. *Journal of Neuroscience Methods* 105(1): 15-24.
- Torrence, C. y Compo, G.P. (1998). A practical guide to wavelet analysis. *Bulletin of the American Meteorological Society* 79(1): 61-78.
- Wood, C.C. y McCarthy, G. (1984). Principal component analysis of event-related potentials: simulation studies demonstrate misallocation of variance across components. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology* 59(3): 249-60.
- Zouridakis, G., Jansen, B.H., y col. (1997). A fuzzy clustering approach to EP estimation. *Ieee Transactions on Biomedical Engineering* 44(8): 673-80.
- Zouridakis, G. y Tam, D.C. (1997). Multi-unit spike discrimination using wavelet transforms. *Computers in Biology and Medicine* 27(1): 9-18.
- Zouridakis, G. y Tam, D.C. (2000). Identification of reliable spike templates in multi-unit extracellular recordings using fuzzy clustering. *Computer Methods and Programs in Biomedicine* 61(2): 91-98.

8. Anexos

Anexo A. Procesamiento digital de señales

Por lo general toda introducción al análisis de wavelet es precedida por una introducción al análisis espectral o análisis de Fourier (Aldroubi & Unser 1996, Mallat 1999). Frecuentemente, se presenta al análisis de wavelet como una transformada de Fourier en ventanas temporales (STFT o *Short-time Fourier Transform*) mejorada (Meyer 1993). Ello no es completamente correcto, pero suele ser una buena primera aproximación. Hay muchos paralelos entre el análisis frecuencia-tiempo implementado por la STFT, y el análisis escala-tiempo implementado por las transformadas de wavelet.

Dado que el análisis de Fourier transforma una señal en el dominio del tiempo al dominio de frecuencias, las ecuaciones fundamentales y la interpretación del análisis de Fourier son la base de la transformada al dominio escala-tiempo implementada por la transformada de wavelet.

Este anexo no pretende ser un libro de análisis de señales, sino introducir solamente aquellos conceptos imprescindibles para la comprensión del análisis de wavelet discreto y la interpretación de sus coeficientes.

A.1. Digitalización

En la práctica, el primer paso en el tratamiento y análisis de señales requiere efectuar un proceso fundamental llamado digitalización, para que una señal $s(t)$ pueda ser representada en un computador (Press y col. 1993, Oppenheim y col. 1999). El proceso de adquisición de una señal analógica sólo obtiene el valor de esta señal a ciertos tiempos discretos, usualmente a intervalos temporales constantes Δ .

La frecuencia de muestreo f_m asociada a la adquisición de M muestras en un intervalo temporal $[t_0, t_0 + T]$ se define como:

$$(Ec. A-1) \quad f_m = \frac{M}{T} = \frac{1}{\Delta}$$

Así, una señal continua en el tiempo, $s(t)$, una vez digitalizada, queda representada por una secuencia finita s de M muestras s_m

$$(Ec. A-2) \quad \mathbf{s} = \{s_m\}, \quad m = 0, 1, K, M - 1$$

donde s_m es la muestra tomada a tiempo $t = t_m$:

$$(Ec. A-3) \quad s_m = s(t_m) = s(t_0 + m\Delta)$$

La digitalización tiene un importante efecto en el espectro de frecuencias de la señal. De acuerdo al teorema de muestreo, toda secuencia digitalizada a frecuencia f_m tiene un ancho de banda limitado por la frecuencia de Nyquist (Press y col. 1993, Oppenheim y col. 1999):

$$(Ec. A-4) \quad f_{Nyq} = \frac{f_m}{2} = \frac{M}{2T} = \frac{1}{2\Delta}$$

Habitualmente, el espectro de frecuencias de la señal digitalizada parte de frecuencia 0, por lo cual la secuencia s_m tiene un contenido de frecuencias $f \in [0, f_{Nyq}]$. Éste es el caso de la mayoría de las señales electrofisiológicas, incluyendo aquellas analizadas en esta tesis. En otras aplicaciones (ej. señales de radio), se trabaja con señales con un ancho de banda estrecho localizado a altas frecuencias. La correcta aplicación del teorema de Nyquist permite digitalizar estas señales a frecuencias de muestreo notablemente bajas (*undersampling*).

El teorema de muestreo obliga al investigador a cerciorarse que su frecuencia de muestreo f_m sea al menos el doble del ancho de banda de la señal. Para lograrlo, es importante pasar la señal por un filtro pasa-baja de hardware con frecuencia de corte menor a f_{Nyq} . En caso contrario, se produce una contaminación irreversible de la señal

digitalizada, llamada *aliasing*, y que no puede ser removida por software (Figura A-1) (Press y col. 1993, Mallat 1999).

A Wavelet Tour of Signal Processing
Stéphane Mallat, Academic Press 1999 (2nd edition)

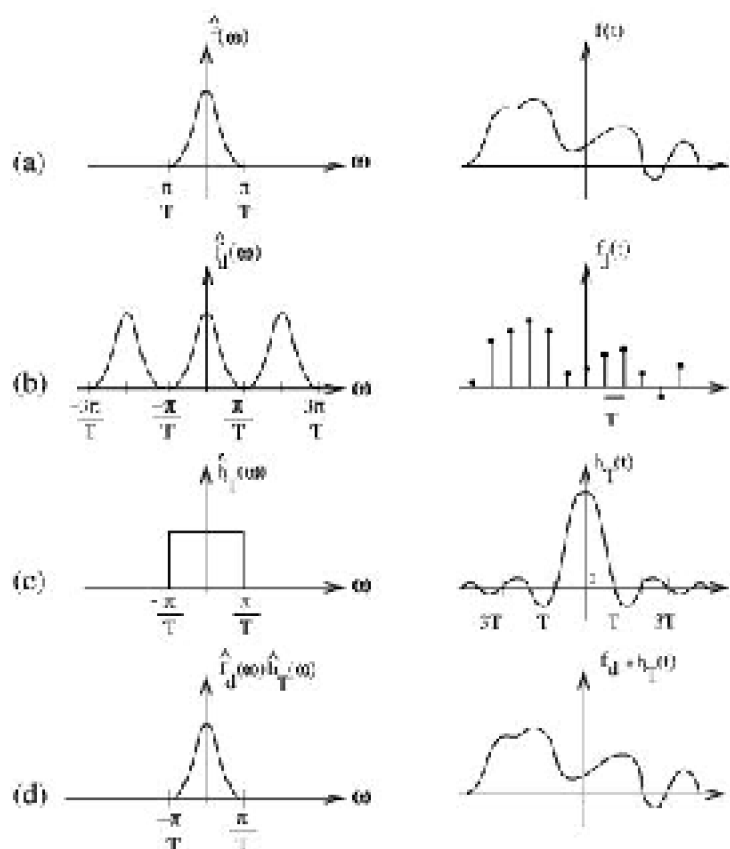


Figure 3.1: (a): Signal f and its Fourier transform \hat{f} . (b): A uniform sampling of f makes its Fourier transform periodic. (c): Ideal low-pass filter. (d): The filtering of (b) with (c) recovers f .

Figura A-1. Aliasing (Figura 3-1 de Mallat, 1999)

Notación:

Se muestran señales en dominio del tiempo (derecha) y sus espectros de frecuencia (izquierda).

En el espectro, se muestran las frecuencias positivas y negativas en función de la frecuencia angular ω (en radianes). El espectro es simétrico debido a que la señal $f(t)$ es real. Usualmente, para señales reales se muestran sólo las frecuencias positivas.

En el caso de esta figura, el autor Stéphane Mallat, un matemático francés, utiliza la convención de mostrar las frecuencias negativas, y expresa las frecuencias como frecuencia angular en radianes:

$$\omega \text{ (radianes)} = 2\pi \cdot \text{frecuencia (Hz)}.$$

Además, en esta Figura, T denota el intervalo de muestreo, y la frecuencia (angular) de muestreo es por tanto $\omega_m = 2\pi/T$.

(a) Una señal $f(t)$ (a der) y su espectro de frecuencias (ω) (a izq).

El ancho de bandas de la señal (frecuencias positivas) es aprox. $1,5 \pi/T$. De acuerdo al teorema de muestreo, la frecuencia de muestreo debería ser superior a $3 \pi/T$.

(b) La digitalización $f_d(t)$ a una frecuencia de muestreo insuficiente $\omega_m = 2 \pi/T$ (b der). La diferencia entre el espectro de la señal digitalizada f_d (b izq, línea continua) y el espectro de la señal original (a izq) se debe al aliasing (f_d izq, líneas interrumpidas) de frecuencias mayores a la frecuencia de Nyquist $\omega_{Nyq} = \omega_m / 2 = \pi/T$.

(c) La digitalización a una frecuencia de muestreo $\omega_m = 2 \pi/T$ actúa en forma similar a un filtro pasa-baja ideal \hat{h}_T con frecuencia de corte $\omega_m / 2$ (c izq). En el dominio del tiempo, este filtro se caracteriza por una función de transferencia $h_T(t)$ (c der).

(d) Para frecuencias $\omega \leq \omega_{Nyq}$, la digitalización f_d corresponde a la convolución circular del filtro h_T con la señal f : (d der) = (c der) * (a der). En el dominio de frecuencias, esta convolución se transforma en una multiplicación: (d izq) = (c izq) * (a izq).

Las frecuencias $\omega > \omega_{Nyq}$ son "reflejadas" hacia las frecuencias menores: una frecuencia $\omega_{Nyq} + \epsilon$, $\epsilon > 0$ se digitaliza como $\omega_{Nyq} - \epsilon$. Por ello, es imposible saber, posterior a la digitalización, si la señal original tenía el espectro (d izq) o el espectro (a izq). De hecho, hay un número infinito de señales cuya digitalización a $f_m = 2\pi/T$ es f_d (b der). La señal f (a der) es sólo una de ellas. La reconstrucción (d der), que corresponde a una interpolación de (b der), es otra. Para señales electrofisiológicas, todo el problema del aliasing se resuelve por el uso juicioso de filtros pasa-bajo justo antes del proceso de digitalización (Figura 2-1).

A.2. Transformadas lineales invertibles

Una transformada lineal invertible (Mallat 1999, Oppenheim y col. 1999) permite descomponer una señal s (discreta o no) en componentes x_i tales que

$$(Ec. A-5) \quad \mathbf{s} = \sum_i a_i \mathbf{x}_i$$

Los factores numéricos (escalares) a_i son los coeficientes de la transformada y permiten reconstruir la señal s a partir de los componentes x_i . Los componentes x_i definen la transformada lineal de tal forma que cada señal s quede representada por una secuencia única de coeficientes a_i . Cada coeficiente a_i se calcula a partir del producto interno entre la señal y el componente x_i correspondiente:

$$(Ec. A-6) \quad a_i = \langle \mathbf{s}, \mathbf{x}_i \rangle$$

Las Ecs. A-6 y A-5 definen la descomposición (transformada) y la reconstrucción (transformada inversa), respectivamente. La transformada de una señal mediante los

componentes x_i es posible sólo si

- los componentes x_i conforman una base de
 - un espacio de funciones en el caso de funciones $s=s(t)$, o
 - del espacio vectorial en el caso de señales discretas $s=\{s_m\}$
- la señal a transformar pertenece a ese espacio

El producto interno de la Ec. A-6 se define como (Press y col. 1993)

$$\text{(Ec. A-7a)} \quad \langle \mathbf{s}, \mathbf{x} \rangle = \int s(t) \mathbf{x}^*(t) dt$$

para funciones $s=s(t)$, y como

$$\text{(Ec. A-7b)} \quad \langle \mathbf{s}, \mathbf{x} \rangle = \sum_m s_m x_m^*, \quad s_m = s(t_m), x_m = \mathbf{x}(t_m)$$

para vectores o señales discreta $s=\{s_m\}$. El asterisco * denota el complejo conjugado.

La base conformada por los componentes x_i puede ser finita ($i=0,1,\dots,i_{max} < \infty$) o infinita ($i=0,1,\dots,\infty$). Adicionalmente, los componentes (y por ende la base formada por los componentes) son ortogonales si

$$\text{(Ec. A-8)} \quad \langle \mathbf{x}_i, \mathbf{x}_k \rangle \begin{cases} = 0 & \text{si } i \neq k \\ \neq 0 & \text{si } i = k \end{cases}$$

La ortogonalidad implica que cada coeficiente representa una porción única de la información contenida en la señal. En consecuencia, la representación de una señal por componentes ortogonales siempre es no redundante.

Para dar un ejemplo, las señales electrofisiológicas pertenecen al espacio de funciones de energía finita $L^2(\mathbb{R})$. La transformada de Fourier usa sinusoides con determinadas frecuencias como base ortogonal de ese espacio de funciones, y la transformada de wavelet usa conjuntos de funciones llamadas wavelets (ver Figura 1 del Anexo B). Ambas transformadas son invertibles.

El análisis de componentes principales PCA también implementa una transformada ortogonal e invertible. La diferencia entre el PCA y las transformadas de Fourier y wavelet radica en que para la PCA, el conjunto de componentes PCA_n se calcula a partir de un conjunto de señales s_n , y es específico para él. En cambio, tanto el análisis de Fourier como el análisis de wavelet se basan en conjuntos propios de componentes que no dependen de la señal s analizada.

A.3. Energía

La energía de una señal s se define como (Press y col. 1993)

$$(Ec. A-9a) \quad E(\mathbf{s}) = \int s^2(t) dt$$

en caso de $s=s(t)$ función, y

$$(Ec. A-9b) \quad E(\mathbf{s}) = \sum_m (s_m)^2$$

en caso de $s=\{s_m\}$ vector. Tanto la transformada de wavelet como la transformada de Fourier cumplen el teorema de Parseval (Press y col. 1993, Mallat 1999), que indica que la energía de toda señal s es igual a la energía de los coeficientes de la transformada de s . Para una señal discreta, el teorema de Parseval implica

$$(Ec. A-10) \quad \sum_m s_m^2 = \sum_i a_i^2$$

La energía de un coeficiente a_i^2 informa sobre la presencia (o ausencia) del componente x_i correspondiente dentro de la señal. También puede interpretarse como el grado de similitud entre la señal s y el componente x_i .

Por ejemplo, en caso de la transformada de Fourier, los componentes x_q corresponden a sinusoides que oscilan con una frecuencia constante f_q . Entonces, la energía de un coeficiente de Fourier (a_q^2) cuantifica la presencia global de la frecuencia f_q (ver Anexo A4).

En caso de la transformada de wavelet, la energía de un coeficiente de wavelet ($c_{j,k}^2$) cuantifica la presencia de un componente de cierta banda de frecuencias (determinado por el índice j) y en un intervalo localizado en el tiempo (determinado por el índice k) (ver Anexo A5).

A.4. Análisis de frecuencia, Transformada de Fourier

El análisis de Fourier (o análisis espectral o análisis armónico) es una herramienta ampliamente usada en ingeniería y ciencias biológicas, por lo cual este capítulo sólo pretende enumerar las ideas fundamentales y definir una notación que se usará luego para introducir las bases del análisis de wavelet (Anexo A5) y, más específicamente, de la transformada de wavelet discreta (DWT) (Anexo A6).

Serie de Fourier

Hay diferentes formas de enunciar la Serie de Fourier (Press y col. 1993, Mallat 1999, Oppenheim y col. 1999). Aquí usaré la notación compleja, más compacta, basada en la ecuación de Euler que relaciona la función exponencial compleja con las funciones

trigonométricas seno y coseno:

$$(Ec. A-11) \quad \exp(ix) = e^{ix} = \cos x + i \sin x$$

donde $i = \sqrt{-1}$, e es el número de Euler, y x puede ser un número real o complejo.

En esta notación, la serie de Fourier para una secuencia $s = \{s_m\}$ de M muestras (ver Anexo A1) es:

$$(Ec. A-12a) \quad \mathbf{s} = \sum_q \mathbf{a}_q \Phi_q$$

donde Φ_q es una secuencia de valores, a tiempos discretos t_m , de la función compleja ϕ_q que oscila a frecuencia constante f_q :

$$(Ec. A-12b) \quad \Phi_q : \phi_q(t_m) = \exp(i 2\pi f_q t_m)$$

Los tiempos t_m se definen como para la digitalización de la secuencia $s = \{s_m\}$ (Anexo A1, Ec. A-3).

En rigor, la serie de Fourier fue presentada en 1807 por el matemático Jean Baptiste Fourier (1768 - 1830) para representar funciones periódicas en T , definidas para todo tiempo t : $s(t) = s(t + nT)$ para todo t y para todo $n \in \mathbb{Z}$ (Burke-Hubbard 1995). En estos casos, la serie de Fourier (Ec. A-12) es infinita, es decir,

$$q = 0, 1, K, \infty$$

y las frecuencias f_q están determinadas por el período T de la función periódica $s(t)$, y por el índice de frecuencias q :

$$f_q = q/T$$

En el caso de una señal digitalizada durante un intervalo $[t_0, t_0 + (M-1)\Delta]$ (Anexo A1), la señal original $s(t)$ puede o no haber sido periódica. La secuencia de muestras s_m no entrega esa información, pero eso no importa realmente. Lo que sí importa, es que la secuencia de M muestras $s = \{s_m\}$ representa la señal $s(t)$ solamente en un intervalo finito de largo $(M-1)\Delta$. El comportamiento de $s(t)$ fuera de ese intervalo no influye en la secuencia s_m . (Press y col. 1993).

Por tanto, puedo suponer que la secuencia $s = \{s_m\}$ proviene de una señal periódica $s'(t)$ tal que $s'(t_M) = s(t_0)$, $s'(t_{M+1}) = s(t_1)$, etcétera, y $s'(t_{-1}) = s(t_{M-1})$, $s'(t_{-2}) = s(t_{M-2})$, etcétera. El período de esta señal periódica hipotética $s'(t)$ es $T = M\Delta$, por tanto, su serie de Fourier queda determinada por la Ec. A-12. En consecuencia, la serie de Fourier de una secuencia de muestras (señal digitalizada) en un intervalo de largo T es la misma Ec. A-12, siempre que se cumpla

$$(Ec. A-12c) \quad f_q = q/T = q/M \Delta$$

La digitalización tiene otro efecto importante sobre la serie de Fourier de una señal (Press y col. 1993, Mallat 1999). La señal original puede haber tenido ancho de banda infinito. Por ello, el índice de frecuencia q de la serie de Fourier para funciones periódicas llega a infinito. Pero según el teorema de Nyquist, el ancho de banda de la señal discreta $s = \{s_m\}$ está limitada por el teorema de muestreo (Anexo A1). Si suponemos que la frecuencia más baja es cero, entonces el espectro de la señal s cubre el intervalo de frecuencias $[0, f_{Nyg}]$. Por tanto, los valores "permitidos" para el índice de frecuencia q están limitados por la Ec. A-4, de lo que se concluye que para una secuencia de M muestras tomadas a intervalos Δ ,

$$f_{q \max} = f_{Nyg} = 1/2\Delta$$

y

$$(Ec. A-12d) \quad q = 0, 1, \dots, \frac{M}{2}$$

En resumen, la Serie de Fourier tiene $M/2 + 1$ sumandos, que consisten en funciones exponenciales complejas que oscilan a frecuencia f_q y están multiplicadas por los coeficientes de Fourier a_q .

¿Cómo obtengo y cómo interpreto los coeficientes de Fourier?

Los coeficientes de Fourier se calculan mediante el producto interno (Ec. A-6 y 7b) de la secuencia s con la función ϕ_q . Pero los coeficientes de Fourier son números complejos,

$$(Ec. A-13) \quad a_q = \langle s, \phi_q \rangle = |a_q| \exp(i\theta_q) \in \mathbb{C}$$

con información de magnitud $|a_q| \in \mathbb{R}^+$ y fase $\theta_q \in]-\pi, \pi]$ (en radianes).

La magnitud o amplitud $|a_q|$ está relacionada con la energía del componente de frecuencia f_q : $Energía(f_q) = |a_q|^2$. Habitualmente, un "espectro de frecuencias" corresponde a un gráfico magnitud-frecuencia ($|a_q|$ vs f_q), y un "espectro de potencia" es un gráfico energía-frecuencia ($|a_q|^2$ vs f_q).

La información de fase es generalmente ignorada, porque es difícil de interpretar. En rigor, una fase θ_q (en radianes) indica que la senoide compleja ϕ_q de frecuencia f_q está desplazada en un intervalo $\theta_q/2\pi$ hacia la izquierda con respecto a $t=t_0$. Sin embargo, como ϕ_q es una función periódica, de soporte infinito en el tiempo, este corrimiento no implica localización temporal, ya que la densidad de energía de la función ϕ_q está distribuida sobre todo el eje temporal.

Conviene introducir un cambio de notación que ayudará a introducir el análisis de wavelet. De la ecuación Ec. A-12c se puede concluir que todas las frecuencias f_q son múltiplos enteros de la frecuencia $1/T$. Se puede, por tanto, definir una función generadora Φ que oscila con la frecuencia fundamental f_1

$$\text{(Ec. A-14a)} \quad \Phi(t) = \phi_1(t) = \exp(i 2\pi t/T)$$

El conjunto de sinusoides ϕ_q se genera a partir de Φ dilatándola por un factor q :

$$\text{(Ec. A-14b)} \quad \phi_q(t) = \Phi(qt), \quad q = 0, 1, \dots, \frac{M}{2}$$

Transformada de Fourier Discreta (DFT)

Las Ecs. A-13 y A-14 a, b implementan la Transformada de Fourier Discreta para secuencias de M muestras digitalizadas a intervalos $\Delta = T/M$ (Mallat 1999). Las funciones ϕ_q generadas por dilatación a partir de la función generadora Φ constituyen una base ortonormal del espacio de señales discretas de M muestras digitalizadas a intervalos Δ . Cada uno de los $M/2+1$ coeficientes de Fourier a_q cuantifica la presencia (energía) y la fase θ_q de una frecuencia $f_q = q/T$, $q = 0, 1, \dots, M/2$. Por tanto, la base de funciones ϕ_q corresponde a una secuencia de filtros, cada uno de los cuales deja pasar sólo la frecuencia f_q . La descomposición de M muestras en función del tiempo a $M/2 + 1$ coeficientes complejos en función de la frecuencia es ortonormal y no redundante, y conserva la dimensionalidad de la señal^{10*)}.

Las Ecs. A-12a y 14 a, b implementan la Transformada de Fourier Discreta Inversa que permite reconstruir la señal a partir de sus coeficientes complejos de Fourier.

Para la transformada de Fourier, la existencia de una función generadora no reviste mayor importancia, porque hay sólo una. En caso de las transformadas de wavelet (y también, hasta cierto punto, en caso de la STFT), existe un mayor número de bases del espacio de señales (Mallat 1999). Cada base queda definida por una función generadora específica, y es específica para una transformada. Una base de wavelet no puede implementar una STFT, y *vice versa*.

Localización e incerteza de la DFT

Las características de las funciones base del análisis determinan las características de la transformada. Ya constatamos que las funciones ϕ_q de la base de Fourier oscilan periódicamente con una frecuencia constante f_q , y su energía se distribuye uniformemente a lo largo del eje temporal. Específicamente, la distribución de energía de todo ϕ_q oscila periódicamente en el tiempo con período $1/(2 f_q)$. Por tanto, no se puede decir que la energía de la función ϕ_q esté localizada en un instante específico. Se dice

^{10*)} dimensionalidad de la señal: Si bien una señal real de M muestras genera sólo $M/2 + 1$ coeficientes de Fourier, hay que considerar que éstos son números complejos (cada uno correspondientes a 2 números reales), con excepción de los coeficientes a_0 y $a_{M/2}$, que son ambos números reales. De este modo los $M/2+1$ coeficientes de Fourier encierran también M valores reales independientes.

también que toda φ_q tiene soporte infinito en el tiempo.

Para señales digitalizadas en un intervalo T , lo único que se puede afirmar es que la energía de cualquier coeficiente de Fourier a_q está concentrada en un intervalo de ancho T . Una estimación de la incerteza temporal de la DFT sería:

Incerteza de la DFT en el dominio del TIEMPO:

$$(Ec. A-15a) \quad dt \approx T = M\Delta$$

En el dominio de frecuencias, podría pensarse que la frecuencia f_q de una función generada por la Ec. 14b debería tener incerteza cero. O sea, φ_q debería tener soporte infinitamente pequeño en el dominio de frecuencias. En la práctica, la DFT cuantifica el contenido de frecuencias a intervalos fijos $1/T$ (Ec. A-12c). Luego, el soporte de φ_q en el dominio de las frecuencias es compacto, pero no nulo, y la incerteza es del orden de:

Incerteza de la DFT en el dominio de FRECUENCIAS:

$$(Ec. A-15b) \quad df \approx \frac{f_m}{M} = \frac{1}{M\Delta}$$

donde $f_m = 1/\Delta$ es la frecuencia de muestreo. Nótese que las Ecs. 15 no dependen del índice de frecuencias q , es decir, para todas las frecuencias, se localiza la energía con la misma precisión tanto en tiempo como en frecuencias.

Así, el análisis de Fourier (específicamente, la DFT) cumple el principio de incertidumbre de Heisenberg (Press y col. 1993, Mallat 1999):

$$(Ec. A-16) \quad df \cdot dt \geq \frac{1}{2}$$

La Figura 2-4A de la Introducción muestra la segmentación del eje de frecuencias y del plano frecuencia-tiempo por una DFT de una señal de 64 muestras. Cada cuadrado corresponde a uno de los 33 coeficientes de Fourier. El plano frecuencia-tiempo es segmentado en franjas horizontales que abarcan todo el eje temporal, lo cual refleja el soporte infinito en el dominio del tiempo. La escasa altura de las franjas horizontales refleja el soporte compacto en el dominio de las frecuencias.

Implementación de la DFT

Hay una forma más eficiente de calcular los coeficientes de la DFT que el producto punto entre secuencias (Ec. A-7b). En 1965, J.W. Cooley y O.W. Tukey publicaron una implementación matricial de la Transformada de Fourier Discreta (DFT), que ya había sido enunciada por el matemático alemán Gauss (1777-1855) (Burke-Hubbard 1995).

Este algoritmo es llamado FFT (*Fast Fourier Transform*) y permite computar

rápido el espectro Fourier, o espectro de frecuencias. Para computar la DFT de una serie de M muestras se requieren M^2 operaciones aritméticas. En cambio, para la FFT se requieren $M \log M$ operaciones (Press y col. 1993). La diferencia es notable: por ejemplo, la DFT de 10 mil muestras precisa 100 millones de operaciones, y la FFT sólo 40 mil.

El algoritmo FFT es uno de los algoritmos computacionales más eficientes que se conoce, tan eficiente que se usa para acelerar una amplia gama de algoritmos computacionales que pueden no tener absolutamente nada que ver con el espectro de frecuencias (Press y col. 1993).

Pero por sobre todo, el FFT convirtió el análisis espectral o análisis de Fourier en la forma por excelencia para cuantificar los componentes oscilatorios o repetitivos de una señal.

A.5. Análisis frecuencia-tiempo, STFT

¿Para qué un análisis frecuencia-tiempo?

En el lenguaje coloquial, el término "frecuencia" es la respuesta a la pregunta: "¿Cuántas veces se repite un fenómeno por unidad de tiempo?". Hablamos con gran familiaridad de sucesos semanales, mensuales, anuales, etcétera, y entendemos intuitivamente los términos "frecuencia cardíaca" y "frecuencia respiratoria". También podemos definir una frecuencia espacial como número de veces que se presenta una característica por unidad de espacio. Así, con un mínimo de instrucción somos capaces de cuantificar el número de bombas de bencina cada 100 kilómetros a lo largo de una carretera, o bien determinar el número de eritrocitos por unidad de volumen de sangre.

Nuestro concepto intuitivo de frecuencia en la vida cotidiana permite variaciones instantáneas en frecuencia. Un evento que ocurre diariamente, no necesariamente tiene que ocurrir exactamente a la misma hora. Otro ejemplo: se considera normal que la frecuencia cardíaca varíe constantemente, según los requerimientos de oxigenación del cuerpo, en un rango amplio de 65 a más de 150 latidos/minuto.

La definición matemática del término "frecuencia" es "inverso de un período". Una función periódica no varía su período en toda su extensión. Ello implica que el concepto matemático de frecuencia es el de una frecuencia invariable en el tiempo. Esta definición data de 1807, año en que el matemático francés Jean Baptiste Fourier (1768-1830) hizo público un revolucionario y, en ese entonces, controversial método para descomponer una amplia gama de funciones en sus "componentes de frecuencia". Este método se conoce como Análisis de Fourier, e influyó decisivamente en el concepto matemático del término "frecuencia" (Burke-Hubbard 1995).

En el Anexo A4 se explica el análisis de Fourier y cómo relaciona la definición de frecuencia a funciones sinusoidales. Éstas tienen las siguientes características, que naturalmente determinan el concepto matemático de frecuencia:

- frecuencia constante
- amplitud constante (no varía entre períodos)

- fase constante
- soporte infinito (i.e. ausencia de localización en el tiempo)
- espectro de frecuencias invariable y de soporte muy compacto (i.e. frecuencia que, además de constante, es muy precisa)

Si lleváramos este concepto de frecuencia a la vida real, tendríamos que contemplar corazones que laten como reloj, bombas de bencina equidistantes a lo largo de todas las carreteras del planeta, recuentos de células sanguíneas que no varían a lo largo de la vida del individuo, sin importar su estado de salud. Este tipo de señales se llaman señales estacionarias: es decir, señales cuyas estadísticas (promedio, desviación estándar y estadísticas de orden superior) son invariantes en el tiempo.

Obviamente, este concepto matemático de frecuencia invariante no se ajusta a lo observado en el mundo real (Burke-Hubbard 1995), especialmente en el ámbito biomédico (Aldroubi & Unser 1996, Samar y col. 1999). Al contrario, las señales biomédicas son fuertemente no estacionarias. Si bien un coeficiente de Fourier a_g –específicamente, su magnitud $|a_g|$ – cuantifica, con un margen de error muy pequeño, la presencia global de un componente de frecuencia determinado f_g en una señal, la información concerniente a la evolución temporal de este componente de frecuencia f_g se encuentra dispersa en los valores de fase θ de muchos coeficientes. Cuanto más localizada una variación en frecuencia o amplitud, tanto más se dispersa la información de localización en el espectro de fases (Burke-Hubbard 1995, Mallat 1999).

En conclusión, el análisis de Fourier resulta útil para señales estacionarias, pero prácticamente todas las señales biomédicas de interés son no estacionarias. Por tanto se usa una adaptación del método Fourier, llamado análisis frecuencia-tiempo.

Cuasi-estacionariedad

En algunas señales no estacionarias, es posible definir segmentos temporales dentro de los cuales la señal se considera estacionaria. Es decir: los contenidos de frecuencia (espectro) varían de un segmento a otro, pero se mantienen constantes dentro de cada segmento temporal.

Todos los métodos de análisis frecuencia-tiempo clásicos hacen uso de este concepto de señal cuasi-estacionaria. El más conocido y el más usado en el ambiente biomédico es el STFT (*Short-time Fourier Transform*), también conocido como *Windowed Fourier Transform* (transformada de Fourier en ventanas temporales). Un uso clásico es la construcción de sonogramas, en el análisis del habla o de reconocimiento de conducta vocal de varios animales.

La STFT está ampliamente documentada (Oppenheim y col. 1999, Mallat 1999). Brevemente, consiste en "cortar" la señal, multiplicándola con una función llamada "ventana temporal". Se obtiene un segmento, y se efectúa la transformada de Fourier. Luego se desplaza la ventana y se repite el procedimiento. El análisis de Gabor es un STFT usando ventanas gaussianas (Figura A-2A), pero existen también otras ventanas temporales.

El análisis frecuencia-tiempo tiene dos problemas grandes:

La cuasi-estacionariedad es un concepto artificial. Generalmente, los componentes de frecuencia de las señales biomédicas reales no varían a intervalos discretos, mucho menos de ancho constante. Determinar el ancho de la ventana temporal puede ser un verdadero problema.

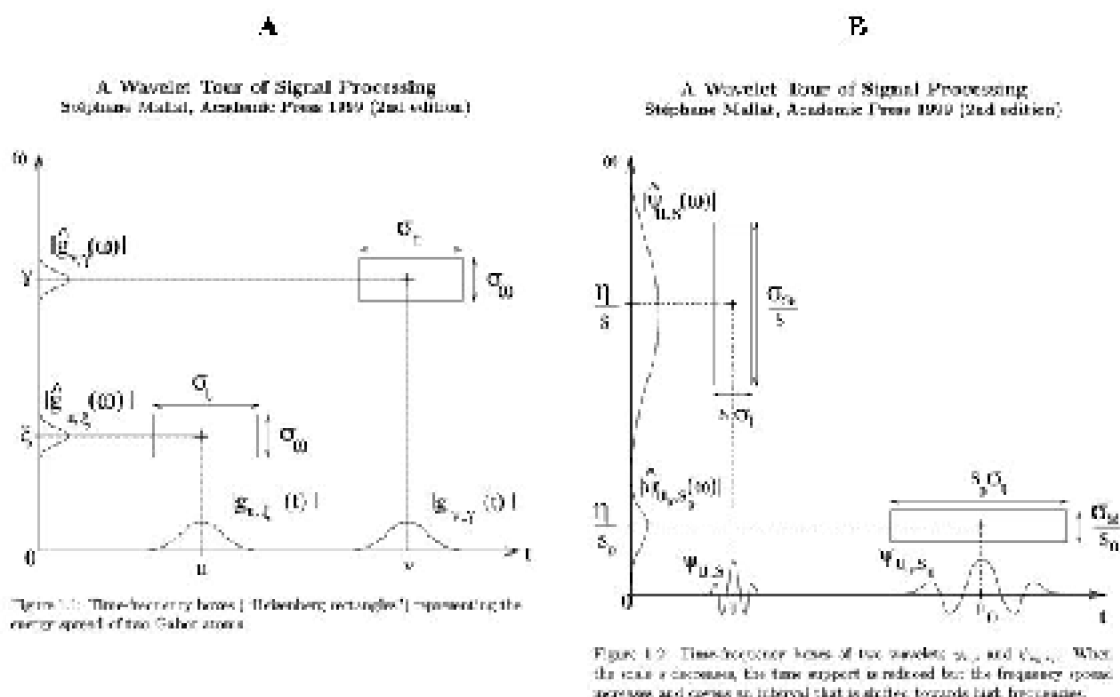


Figura A-2. Segmentación del plano frecuencia-tiempo e incertidumbre de Heisenberg (Figuras 1.1 y 1.2 de Mallat, 1999)

A. Análisis de Gabor. El análisis de Gabor corresponde a una STFT mediante ventanas temporales gaussianas. Se muestra la distribución de energía de dos átomos frecuencia-tiempo. El átomo izquierdo, localizado en $t=u$ (dominio tiempo) representa un rango de bajas frecuencias centradas en $\omega = \xi$ (dominio frecuencia angular). El átomo derecho, localizado en un instante temporal posterior $t=v>u$, representa un rango de frecuencias más altas centradas en $\omega = \gamma > \xi$. Sin embargo, ambos átomos presentan la misma incerteza temporal (σ_t) y en frecuencias (σ_ω). Ello se debe a que el análisis frecuencia-tiempo implementado por la STFT no adapta el ancho de la ventana temporal a los diferentes rangos de frecuencias.

B. Análisis de wavelets. Se muestran dos wavelets pertenecientes a una misma familia. La wavelet izquierda, localizada en $t=u$, tiene escala menor (s), por tanto, una mayor frecuencia (η/s). La wavelet derecha, localizada en $t=v$, tiene escala mayor ($s_0 > s$), y representa una banda de frecuencias más bajas ($\eta/s_0 < \eta/s$). La incerteza en tiempo y frecuencias de ambas wavelets dependen de su escala: la wavelet de escala pequeña s tiene soporte temporal más compacto (incerteza $s \sigma_t < s_0 \sigma_t$) y mayor incerteza en el dominio de las frecuencias ($\sigma_\omega/s > \sigma_\omega/s_0$). El área del rectángulo se mantiene constante.

Cualquiera que sea el ancho de la ventana escogida, siempre resultará demasiado ancha para las frecuencias altas, y demasiado angosta para las frecuencias bajas. No hay forma de evitarlo: el principio de incertidumbre de Heisenberg (Ec. A-16) limita la precisión con la cual podemos determinar tiempo y frecuencia. Si disminuimos el ancho de la ventana temporal, aumenta la precisión temporal, es decir, disminuye la incerteza dt . En consecuencia, la incerteza en frecuencia aumenta. Por otra parte, para analizar el contenido de frecuencias con gran resolución, i.e. disminuir la incerteza df , debemos incrementar el ancho de la ventana temporal, y por tanto la incerteza en tiempo.

En términos matemáticos, supongamos que segmentamos la duración total de la señal T en σ segmentos. El ancho de la ventana temporal (y por tanto la incerteza en tiempo), es del orden de

Incerteza de la STFT en el dominio del TIEMPO:

$$(Ec. A-17a) \quad dt \approx T/\sigma = M\Delta/\sigma$$

Dado que la incerteza disminuye, aumenta la precisión con la cual puedo localizar el componente de frecuencia. Pero también disminuye el número de muestras dentro de cada segmento temporal: para σ segmentos, obtengo M/σ muestras por cada segmento. En consecuencia, obtengo $M/(2\sigma) + 1$ coeficientes de Fourier en cada segmento, con una resolución en frecuencia aproximada de:

Incerteza de la STFT en el dominio del FRECUENCIA:

$$(Ec. A-17b) \quad df \approx \sigma/M\Delta = \sigma f_m/M$$

A mayor número de segmentos σ , mayor es la precisión de la localización temporal dt , pero disminuye la resolución en el dominio de frecuencias df .

A.6. Análisis wavelet

Concepto de escala

El concepto matemático de frecuencia presupone una rara característica en las señales: la estacionariedad, o al menos la cuasi-estacionariedad. Pero ¿qué si usáramos una herramienta matemática que imponga condiciones no a la señal, sino al observador?

Las señales tienen variaciones a diferentes rangos de frecuencia: Variaciones lentas, globales, cuyo espectro se concentra en las frecuencias bajas, y variaciones rápidas, más o menos localizadas en el tiempo, cuyo contenido de frecuencias está corrido hacia las altas frecuencias. Supongamos que analizamos la señal a poco aumento para cuantificar los cambios globales, como variaciones en la línea base, o bien oscilaciones lentas. Luego incrementamos el aumento al cual miramos la señal, para obtener detalles cada vez más localizados. Esto constituye, en principio, un análisis escala-tiempo (Burke-Hubbard 1995, Mallat 1999). La primera herramienta matemática para análisis escala-tiempo fue el análisis de wavelet, desarrollado en la década de los 80 (Burke-Hubbard 1995, Meyer 1993).

El análisis de wavelet se ha llamado también el "microscopio matemático" (Meyer 1993), y ese nombre resulta muy apropiado. Al igual que en un microscopio, las visiones "globales", a "gran escala", muestran la señal entera o grandes porciones de ésta con poco aumento (aumentos 1:1; 1:2; 1:10). La visión global permite orientarse en la imagen y tener una idea de la distribución global de energía. El análisis a aumentos cada vez mayores (1:100, 1:1000) muestran una porción cada vez más pequeña de la señal, o sea, "escalas más pequeñas", pero tienen la ventaja de poder cuantificar los detalles altamente localizados.

En el lenguaje cotidiano, por lo general, hablamos de escalas cuando nos referimos a imágenes o modelos tridimensionales, es decir, señales espaciales en dos o tres dimensiones. Sin embargo, el mismo concepto es válido en señales en función del tiempo. La escala simplemente determina el tamaño de la ventana de análisis, o bien el orden de magnitud, ya sea espacial o temporal, del fenómeno que se desea analizar (Burke-Hubbard 1995).

Lo interesante es que el término escala no presupone una forma específica de la señal analizada. A diferencia del término "frecuencia", ni siquiera evoca repeticiones u oscilaciones. Pero cuando se presentan características repetitivas, éstas se visualizan mejor cuando se "observan" a una escala que sea adecuada al período de oscilación.

El período es el intervalo –temporal o espacial– característico y constante entre repeticiones consecutivas de una repetición periódica. Desde el punto de vista matemático, el período es el inverso de la frecuencia, expresada en Hertz (o en 1/metros, en caso de frecuencia espacial). Así, una frecuencia de descarga neuronal de 50 Hz implica un período de 20 ms entre potenciales de acción, una frecuencia cardíaca de 90 latidos/min implica un latido cada 1,5 segundos, y una frecuencia espacial de 0,33 gasolineras/100 km implica un "período espacial" o distancia de 300 km entre gasolineras. Intuitivamente, podemos afirmar que una escala de análisis adecuada equivale a unos pocos (2-10) períodos para poder comparar variaciones en frecuencia, amplitud o desfases temporales entre un número manejable de repeticiones. Así, la intuición nos dice que la escala o tamaño de ventana de análisis debería ser 2-10 / frecuencia del componente de frecuencia por analizar.

Pero ¿a qué exactamente me refiero con "componente de frecuencia"? No solamente a un rasgo sinusoidal de frecuencia y amplitud constante, que sería el concepto Fourier de componente de frecuencia. También incluye características descriptivas de la señal.

Rasgos altamente localizados en el tiempo, de pendientes acentuadas, cambios abruptos, *peaks*, son todos componentes de alta frecuencia, ya que su duración es corta, o bien asemejan localmente sinusoides de muy alta frecuencia. De hecho, alguien con alguna experiencia en análisis de Fourier sabe que la presencia de detalles rápidos, altamente localizados en una señal, se reflejan en un corrimiento del espectro Fourier hacia las altas frecuencias. Al contrario, características que se presentan a lo largo de intervalos temporales (o espaciales) amplios, cambios lentos, paulatinos, a los que intuitivamente aplicaríamos la palabra "global", como alteraciones de línea base, etcétera, se relacionan con bajas frecuencias (Figura 2-5 de la Introducción).

Naturalmente, componentes de alta frecuencia tienen períodos cortos, y deben ser analizados en un gran número de intervalos temporales muy pequeños. Para las frecuencias bajas bastan un pequeño número de ventanas de análisis amplios, que reflejan los períodos largos de las bajas frecuencias. Así, un análisis escala-tiempo implica adecuar la ventana de análisis a los componentes de frecuencia analizados. Esa adaptación de la ventana de análisis al componente de frecuencia es la principal diferencia entre el análisis escala-tiempo y un análisis frecuencia-tiempo como la STFT, que usa una ventana de análisis del mismo ancho para altas y bajas frecuencias (Meyer 1993, Mallat 1999).

La transformada de wavelet revolucionó rápidamente el análisis de señales no estacionarias (Meyer 1993). En el área biomédica, el análisis de wavelet ha permitido tratar las señales fisiológicas como señales no estacionarias propiamente tales, en vez de forzar al investigador a definir una ventana de análisis para un análisis cuasi-estacionario mediante STFT (Akay y col. 1994, Bertrand y col. 1994, Aldroubi & Unser 1996).

Transformadas de wavelet

Las ecuaciones básicas de la transformada de wavelet son muy similares a las de la transformada de Fourier. Toda transformada de wavelets se implementa mediante una base de funciones llamadas wavelets ψ , y que se generan, en analogía a la Ec. A-14b, a partir de una función generadora, llamada wavelet madre $\Psi(t)$ (Meyer 1993):

$$(Ec. A-18) \quad \psi_{a,b} = \Psi\left(\frac{t-b}{a}\right)$$

Los coeficientes de wavelet se calculan mediante el producto punto de la señal s con la wavelet (comparar con Ec. A-13)

$$(Ec. A-19) \quad c_{a,b} = \langle s, \psi_{a,b} \rangle$$

Esta ecuación corresponde a la implementación de la transformada de wavelet. La transformada inversa se calcula como

$$\text{(Ec. A-20a)} \quad s(t) = \int_{a,b} c_{a,b} \psi_{a,b}(t) da db$$

si a y b varían continuamente, o bien como

$$\text{(Ec. A-20b)} \quad s(t) = \sum_a \sum_b c_{a,b} \psi_{a,b}(t)$$

si a y b varían en forma discreta. La Ec. A-20b es análoga a la Serie de Fourier (Ec. A-12a). La Ec. A-20a es análoga a la Integral de Fourier, que no se discutió en este anexo.

Hay una gran diferencia que distingue la transformada de Fourier de las transformadas de wavelet. El subíndice de frecuencias q es reemplazado por dos factores: el factor de escala (*scaling index*) a y el factor de translación (*shifting index*) b .

El factor de escala indica el valor de dilatación, o ampliación (Figura A-2B). A mayor escala (mayor valor de a), la wavelet será más ancha en el dominio del tiempo, y oscilará con menor frecuencia. El factor de translación desplaza la localización temporal de esta wavelet hacia la derecha a mayor valor de b . Dado que las wavelet son siempre de soporte compacto, la translación implica efectivamente un corrimiento de la energía a lo largo del eje temporal.

Al igual que en el análisis de Fourier, existen varias implementaciones de la transformada matemática, según se desee valores a a tiempos y frecuencias continuas o discretas. Existen la transformada de wavelet (Meyer 1993, Mallat 1999):

- - continua para funciones continuas (CWT en forma integral): cualquier valor real para a y b
- - continua para señales discretas (CWT en forma de serie): valores discretos para el índice de translación b (múltiplos enteros del intervalo de muestreo Δ), valores continuos para el índice de escala a
- - semi-continua: valores discretos para el índice de translación $b=m\Delta$, valores diádicos para el índice de escala $a=1, 2, 4, 8, \dots = 2^n$ para $n \in \mathbb{N}_0$.
- - discreta (DWT): índices de escala diádicos ($a=2^n$), índices de translación ajustados a la escala diádica: $b_a = a\Delta$

Estas diferentes formas de implementación pueden resultar muy confusas para quien se inicia en el análisis de wavelets. Para aumentar la confusión, las transformadas continuas usan familias de wavelet diferentes (generadas por wavelet madre Ψ diferentes, ver Ec. A-18) que las transformadas discretas. Además, existen otras herramientas matemáticas emparentadas con el análisis de wavelets: los wavelet packets, y las bases locales de cosenos (*local cosine bases*), que ofrecen una segmentación del espacio frecuencia-tiempo diferente al análisis de wavelet propiamente tal (Mallat 1999).

En esta tesis se hablará exclusivamente de la transformada de wavelet discreta. Para interiorizarse en las otras transformadas, se recomienda la siguiente literatura (Burrus y col. 1997, Chui 1997, Mallat 1999). Para una introducción corta desde el punto de vista de la teoría matemática, se recomienda (Meyer 1993, Strang 1993).

Por otra parte, Barbara Burke (Burke-Hubbard 1995) escribió una introducción no-matemática muy completa al análisis de wavelet. El N° 1 del Volumen 66 (1999) de la revista *Brain and Language* fue completamente dedicado a las aplicaciones del análisis de wavelet en la Neurofisiología, e incluye una larga introducción teórica, escrita para personas con formación matemática básica (Samar y col. 1999).

A.7. Transformada de wavelet discreta

Características de las wavelet madre

Muchas wavelet madre usadas para la DWT (Figura 2-3 de la Introducción) no tienen forma analítica, sino se expresan como un kernel finito de convolución (Meyer 1993). Por ello, para la DWT no existen ecuaciones análogas a la Ec. A-14a. Sin embargo, todas las wavelet madre para la DWT cumplen con las siguientes características básicas (Meyer 1993, Chui 1997):

- - promedio cero
- - de soporte compacto en el dominio del tiempo
- - de soporte compacto en el dominio de frecuencias (espectro de frecuencias como un filtro pasa-banda)
- - generan, mediante dilatación y translación, una familia de wavelets
- - esta familia forma una base ortonormal del espacio de funciones de energía finita $L^2(\mathbb{Z})$
- - esta familia permite un análisis de multirresolución de toda señal de energía finita

Dentro de las wavelet madre más usadas se cuentan las wavelet ortogonales de Daubechies, las spline wavelets, y otras (Figura 2-3 de la Introducción).

Fórmulas básicas de la DWT

Dado que escala a y translación b pueden tomar sólo valores discretos, se introducen el *índice de escala* j y el *índice de translación* k . La Ec. A-18 se transforma en la Ec. 2-4 (ver Introducción)

$$\psi_{a,b}(t) = \Psi\left(\frac{t-b}{a}\right) \rightarrow \psi_{j,k}(t) = \Psi(2^j t - k)$$

donde la escala a se expresa en términos del índice de escala (Ec. 2-1):

$$a \rightarrow s_j = 2^{-j} \Delta$$

y la translación b se expresa en términos de índice de escala j y del índice de translación k (Ec. 2-3):

$$b \rightarrow k s_j = k 2^{-j} \Delta$$

Los coeficientes DWT se obtienen calculando el producto punto, tal como se describe en la Introducción (Ec. 2-5):

$$c_{j,k} = \langle s, \psi_{j,k} \rangle$$

Como la DWT es una transformada invertible, la señal se puede reconstruir mediante la siguiente serie de wavelet (Ec. 2-6):

$$s(t_m) = \sum_j \sum_k c_{j,k} \psi_{j,k}(t_m)$$

Implementación de la DWT

En la práctica, los $c_{j,k}$ no se calculan como producto interno de la secuencia de muestras con las wavelet correspondientes (Ec. 2-5). En cambio, se usa uno de los algoritmos más rápidos y eficientes conocidos: el banco de filtros (*quadrature mirror filter bank*). Ello se debe a que la interpretación física de una DWT es que la señal pasa por un banco de filtros. Estos bancos de filtros son altamente peculiares y para comprenderlos re-escribamos la ecuación Ec. 2-5, separando según índice j .

$$(Ec. A-21) \quad s_m = \sum_{k=0}^{M/2-1} c_{-1,k} \psi_{-1,k}(t_m) + \sum_{k=0}^{M/4-1} c_{-2,k} \psi_{-2,k}(t_m) \dots \text{residuo}(r_0, r_1)$$

La primera sub-suma agrupa los $M/2$ componentes de la serie con $j=-1$. Conceptualmente, el primer componente de la suma separada (Ec. A-21) dice que si la secuencia de puntos s_m abarca un tiempo $T=M \Delta$, es como si en ese tiempo T se hubiesen aplicado $M/2$ filtros idénticos (correspondientes a las wavelet $\psi_{-1,k}$, $k=0, 1, \dots$) que abarcan un intervalo temporal $s_{-1} = 2\Delta$, separados por los mismos intervalos temporales $s_{-1} = 2\Delta$ (Ec. 2-1). Cada uno de estos filtros localizados extrae el contenido de frecuencias f_{-1} dado por la Ec. 2-2 (ver Introducción).

Para $j=-2$, la sub-suma correspondiente sólo tiene $M/4$ términos y puede interpretarse como que la señal original s_m es pasada por un banco de filtros de ancho temporal $s_{-2} = 4\Delta$, separados en el tiempo por un intervalo temporal de 4Δ , y que extraen los contenidos de frecuencia correspondientes a la banda f_{-2} .

Este esquema se generaliza para los índices posteriores, y todo el proceso para cuando se llega al índice J definido por la Ec. 2-7. Para ese entonces, ya se han calculado los $M-2$ coeficientes de wavelet. Diferentes implementaciones de este algoritmo difieren en cuanto a cómo calcular los dos coeficientes residuales r_0 y r_1 que cuantifican las "frecuencias DC" (ver Introducción y Tabla 2-3). En esta tesis se utilizó aquella descrita en (Press y col. 1993). Los detalles de la implementación numérica del algoritmo de banco de filtros para esta tesis está descrita en el Anexo B. Específicamente, las Figuras 3 y 4 del Anexo B esquematizan el funcionamiento de este algoritmo piramidal recursivo y la presentación de los coeficientes DWT en un "vector DWT" de M coeficientes.

Este "vector DWT" tiene la siguiente conformación:

$$(Eq. A-22) \quad \left[r_0, r_1, c_{0,0}, c_{0,1}, c_{0,2}, \dots, c_{0,M/2-1}, c_{1,0}, c_{1,1}, c_{1,2}, \dots, c_{1,M/4-1}, \dots, c_{j-2,0}, \dots, c_{j-2,M/4^{j-2}}, c_{j-1,0}, \dots, c_{j-1,M/4^{j-1}} \right]$$

Es decir, los coeficientes están ordenados por frecuencias crecientes. Los coeficientes del nivel $j=-1$ se escriben a la extrema derecha, a la izquierda de éstos los coeficientes del nivel $j=-2$, y así sucesivamente. Los primeros dos lugares corresponden a los coeficientes residuales r_0 y r_1 .

Los $M-2$ coeficientes DWT de este vector se usarán, en esta tesis, para una inusual aplicación de reconocimiento de patrones: se usarán como parámetros para clasificación de espigas.

Anexo B. Publicación del Método WSC

Journal of NeuroScience Methods, 2000

Anexo C. Aplicación de Método WSC En Tesis de Doctorado

Figura de: Versión preliminar (Octubre 2002) de

Tesis de Doctorado en Biología

Facultad de Ciencias, Universidad de Chile

Carlos H. Maureira Pastén

Estudios Electrofisiológicos en los "mushroom bodies" de *drosophila*

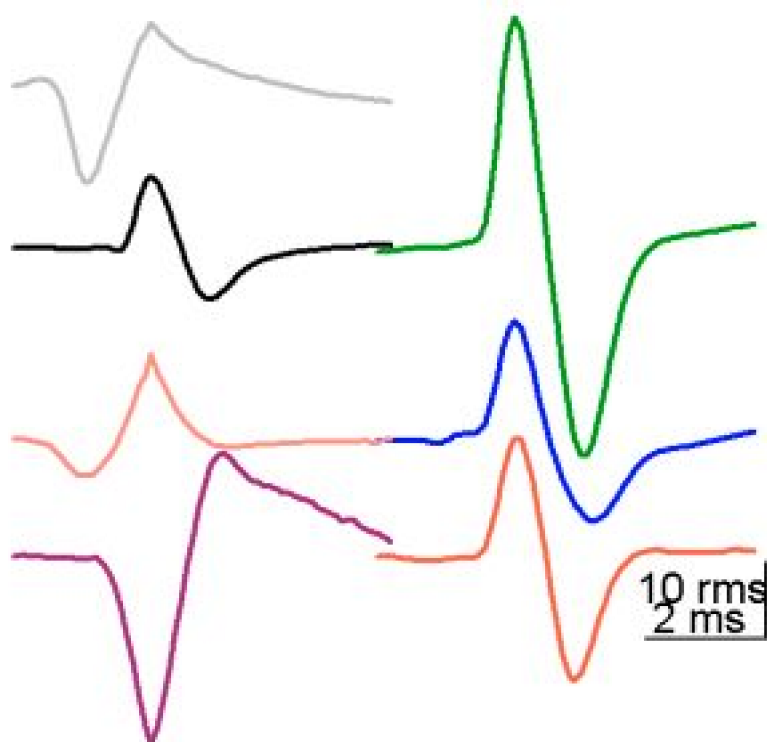


Fig.III-1. Polaridad y forma de las espigas.

Ejemplos de espigas de potenciales de acción extracelulares. Provenientes de distintos registros, se realizó la separación de los distintos grupos de espigas mediante análisis de wavelet (Letelier & Weber 2000). Luego se promediaron el conjunto de espigas de la misma clase para obtener el perfil promedio del grupo.

Anexo D. Lista de Abreviaciones

Clasificación de Espigas Extracelulares Basada en la Transformada de Wavelet Discreta

A/D	...	<i>analog / digital</i>	...	(conversión de) analógico a digital
CWT	...	<i>continuous wavelet transform</i>	...	transformada de wavelets continua
DFT	...	<i>discrete Fourier transform</i>	...	transformada de Fourier discreta
DWT	...	<i>discrete wavelet transform</i>	...	transformada de wavelets discreta
ECG	...			electrocardiograma
EEG	...			electroencefalograma
FFT	...	<i>fast Fourier transform</i>	...	transformada de Fourier rápida
IE	...			índice de error
PCA	...	<i>principal component analysis</i>	...	análisis de componentes principales
QMFB	...	<i>quadrature mirror filter bank</i>	...	(algoritmo de) banco de filtros en cuadratura “en espejo”
QRS	...	<i>complejo QRS</i>	...	segmento característico del ECG
RFS	...	<i>reduced feature set</i>	...	conjunto reducido de patrones o rasgos
STFT	...	<i>short time Fourier transform</i>	...	transformada de Fourier sobre intervalos temporales cortos
SVD	...	<i>single value decomposition</i>	...	descomposición de valor único
WSC	...	<i>wavelet based spike classifier</i>	...	clasificador de espigas basado en (transformada de) wavelets