

UCH-FC  
MAG-Biof. med.  
V297  
C.1

# Sistema Multicanal de Registro Extracelular para el Estudio de Potenciales Oscilatorios Neuronales de Alta Frecuencia



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

por

**SUSANA L. VARGAS LÓPEZ**

Julio, 2005

Director de Tesis: **PhD. Juan Carlos Letelier Parga**

FACULTAD DE CIENCIAS  
UNIVERSIDAD DE CHILE



INFORME DE APROBACIÓN  
TESIS DE MAGÍSTER

Se informa a la Escuela de Postgrado de la Facultad de Ciencias que la Tesis de Magíster presentada por el candidato

**SUSANA L. VARGAS LÓPEZ**

ha sido aprobada por la Comisión de Evaluación de la Tesis como requisito para optar al grado de Magíster en Biofísica Médica, en el examen de Defensa de Tesis rendido el día 21 de Julio de 2005.

**Director de Tesis**

PhD. Juan Carlos Letelier Parga

A handwritten signature in blue ink on a horizontal line, with the initials "JP" written to the left.

**Comisión de Evaluación de la Tesis**

Dr. Jorge Mpodozis

Dr. José Rogan

Dr. Ennio Vivaldi

Three handwritten signatures in green ink on horizontal lines, corresponding to the names listed to the left.



A MI FAMILIA Y AMIGOS

# Agradecimientos

Gracias a Héctor Pizarro Contreras, mi futuro esposo, quien ha sabido esperar y comprender lo difícil de este camino. Gracias por su paciencia y ayuda.

Tres grandes amigos, Pamela Weber, Carolina Román y Xavier Andrade. Quienes, a pesar de su propia carga, estuvieron siempre dispuestos a ayudar.

A mis padres, hermano y hermanas quienes siempre han vitoreado cada pequeño logro.

Profesor Juan Carlos Letelier Parga, director de esta tesis, quien me ha sorprendido con su enorme disposición a enseñar. Gracias por permitirme participar en proyectos tan constructivos e ingeniosos, los que resultaron esenciales en mi formación e integración.

Gracias a los profesores Jorge MPodozis, José Rogan y Ennio Vivaldi, integrantes de la comisión de evaluación, por el esfuerzo realizado.

A todos los docentes del programa de Magíster en Biofísica Medica.

Por último quiero dar las gracias a todos los integrantes del Laboratorio de Neurobiología y Biología del Conocer, estudiantes y maestros, por su acogida, colaboración y paciencia.

Esta tesis fue parcialmente financiada por el proyecto FONDECYT N°1030761.

# Índice

<b>1. Introducción</b>	<b>1</b>
<b>2. Sistema AAPS</b>	<b>5</b>
<b>3. Hardware</b>	<b>9</b>
3.1. Arreglos de Micro-electrodos: . . . . .	9
3.2. Pre-Amplificador: . . . . .	12
3.3. Amplificador de 16 canales: . . . . .	14
3.4. Tarjeta de Adquisición: . . . . .	15
<b>4. Software</b>	<b>18</b>
4.1. Diseño del <i>Software</i> . . . . .	18
4.1.1. Introducción . . . . .	18
4.1.2. Estructura de Experimento Tipo . . . . .	20
4.1.3. Módulo de Adquisición . . . . .	23
4.1.4. Módulo de Manejo de Datos . . . . .	25
4.1.5. Módulo de Procesamiento y Análisis . . . . .	27
<b>5. Implementación del <i>Software</i> AAPS</b>	<b>54</b>
5.1. Ambiente de Programación . . . . .	54

5.2. Panel Inicial . . . . .	55
5.3. Interfaz de Adquisición . . . . .	56
5.3.1. Calibración y Rango Dinámico . . . . .	57
5.3.2. Configuración del Experimento . . . . .	59
5.3.3. Descripción del Estímulo . . . . .	61
5.4. Interfaz de Análisis . . . . .	63
5.4.1. Panel de Control de Análisis. . . . .	63
5.4.2. Lista de Procesamiento . . . . .	65
5.4.3. Filtros Digitales . . . . .	66
5.4.4. Búsqueda y Clasificación de Eventos . . . . .	68
5.4.5. Histogramas <i>Inter-Spike Interval</i> e <i>Inter-Burst Interval</i> . . . . .	73
5.4.6. Correlación Temporal . . . . .	73
5.4.7. Promedio Gatillado Por Evento ( <i>STA</i> ) . . . . .	77
5.4.8. Correlación Cruzada Espacial . . . . .	79
5.4.9. Análisis Visual de Comportamiento Espacial . . . . .	80
5.4.10. Análisis Espectral y de Tiempo-Frecuencia. . . . .	86
5.4.11. Cálculo de Densidad de Corriente . . . . .	89
<b>6. Uso del Sistema AAPS</b>	<b>92</b>
<b>7. Conclusiones</b>	<b>104</b>
<b>Referencias</b>	<b>105</b>

# Lista de Tablas

3.1. Rango dinámico según ganancia programada. . . . .	17
4.1. Descriptores del Estímulo. . . . .	25
4.2. Descriptores del Run. . . . .	26

# Lista de Figuras

2.1. Esquema General del <i>Hardware</i> de Adquisición. . . . .	5
2.2. Panel Principal AAPS. . . . .	6
3.1. Estructura de un electrodo múltiple uni-dimensional . . . . .	11
3.2. Diagrama de un canal del prototipo de pre-amplificador de 16 canales. . . . .	13
3.3. Foto de un canal prototipo del pre-amplificador de 16 canales. . . . .	13
3.4. Diagrama de un canal del prototipo del amplificador de 16 canales. . . . .	14
3.5. Diagrama de entrada analógica de la tarjeta de adquisición de datos. . . . .	15
4.1. Módulos principales del sistema. . . . .	18
4.2. Esquema de un experimento de neurofisiología de la visión. . . . .	20
4.3. Tipos y características del estímulo. . . . .	22
4.4. Etapas del proceso de adquisición. . . . .	23
4.5. Estructura de directorios y archivos de un experimento. . . . .	25
4.6. Un evento <i>Burst</i> . . . . .	27
4.7. Respuesta en frecuencia característica para filtros pasa alta, pasa baja, y ranura. . . . .	29
4.8. Modelo de un filtro en el dominio de la frecuencia. . . . .	30
4.9. Señal de datos “crudos” junto a sus componentes rápidas obtenidas con el filtro pasa alta de figura 4.8. . . . .	31

4.10. Filtro pasa banda implementado con la Transformada de Wavelet Discreta. . . . .	32
4.11. Secuencia de generación de la envolvente de los eventos tipo <i>burst</i> . . .	35
4.12. Wavelets madres utilizadas en la detección del evento <i>Burst</i> . . . . .	36
4.13. Construcción de un autocorrelograma de tren de eventos. . . . .	40
4.14. Autocorrelograma de un tren de eventos. . . . .	41
4.15. Correlación entre una señal discreta y un tren de eventos, ventanas promediadas. . . . .	42
4.16. Esquema de filtrado pasa-banda usando la Transformada de Wavelet Discreta. . . . .	45
4.17. Disposición de los sitios de registro de un arreglo bi-dimensional de micro-electrodos en el Tectum Óptico de Paloma. . . . .	47
4.18. Secuencias temporales observadas en los 16 canales de un electrodo múltiple uni-dimensional. . . . .	49
4.19. Matriz <i>CSD</i> en escala de colores. . . . .	50
4.20. Esquema de los 16 sitios de registro del electrodo bi-dimensional. . . .	51
4.21. Análisis Visual de Comportamiento Espacial. Vista de un grupo de datos. . . . .	52
4.22. Análisis Visual de Comportamiento Espacial. Selección rápida de una fila y de una columna. . . . .	52
5.1. Panel Inicial del Sistema AAPS. . . . .	55
5.2. Panel Central de Adquisición. . . . .	56
5.3. Panel de Calibración y Rango Dinámico. . . . .	57
5.4. Panel de Configuración del Experimento. . . . .	59

5.5. Panel de Descripción del Estímulo. . . . .	61
5.6. Panel de Control de Análisis. . . . .	63
5.7. Secuencia de ventanas durante la selección de Run de Datos. . . . .	64
5.8. Panel de Edición de Lista de Procesamiento. . . . .	65
5.9. Panel de Configuración del Filtro Gaussiano. . . . .	67
5.10. Panel de Detección de Espigas. . . . .	68
5.11. Gráfico de visualización de niveles de detección de espigas. . . . .	69
5.12. Espigas detectadas en datos reales. . . . .	69
5.13. Histograma de Intervalos de Tiempo entre Espigas. . . . .	70
5.14. Visualización de los eventos <i>Burst</i> detectados. . . . .	71
5.15. Histograma de Intervalos de Tiempo entre <i>Bursts</i> . . . . .	71
5.16. Edición de los eventos detectados. . . . .	72
5.17. Panel de Correlación Entre Trenes de Eventos. . . . .	74
5.18. Panel de Correlación de Señales Discretas. . . . .	75
5.19. Correlación cruzada entre señales reales. . . . .	76
5.20. Autocorrelación de señal real. . . . .	76
5.21. Panel de Promedio Gatillado Por Evento. . . . .	77
5.22. Panel Central de Análisis de Experimentos Tipo Matriz $4 \times 4$ . . . . .	80
5.23. Gráficos de 16 canales de datos reales, generados por las rutinas de visualización para Datos “Crudos” y Ondas Lentas. . . . .	81
5.24. Panel Transporte. . . . .	82
5.25. Menú contextual de acceso al panel de visualización MovieGraf. . . . .	83
5.26. Panel MovieGraf, para visualización de evolución temporal de los da- tos, en intensidad de colores. . . . .	84
5.27. Opciones de control de velocidad de despliegue de datos en MovieGraf. . . . .	85

5.28. Panel de Análisis Tiempo-Frecuencia. . . . .	86
5.29. Panel de Cálculo de Densidad de Corriente. . . . .	89
5.30. Matriz de datos <i>CSD</i> , en escala de colores. . . . .	91
6.1. Esquema de la disposición espacial del electrodo bi-dimensional en el tectum óptico de paloma. . . . .	92
6.2. Datos “crudos”. . . . .	93
6.3. Datos filtrados. . . . .	94
6.4. Filtrado Gaussiano. . . . .	95
6.5. Eventos tipo <i>burst</i> detectados en datos de canal 16. . . . .	96
6.6. Análisis Visual de Comportamiento Espacial aplicado a componentes rápidas. . . . .	97
6.7. Análisis Visual de Comportamiento Espacial aplicado a componentes lentas. . . . .	98
6.8. Ventana temporal seleccionada para visualización de <i>Movie</i> . . . . .	99
6.9. <i>Movie</i> . . . . .	100
6.10. Correlación espacial. . . . .	101
6.11. Matriz Tiempo-Frecuencia de datos reales. . . . .	102
6.12. Filtrado DWT de datos reales. . . . .	103

## RESUMEN

Se presenta un sistema completo, denominado AAPS, que incluye aspectos de *hardware* y *software* cuyo conjunto permite la adquisición y el análisis de datos obtenidos en experimentos de neurofisiología. El sistema ha sido diseñado y construido íntegramente en esta tesis y entre sus múltiples funciones destacan: filtrado de señales, detección de eventos, análisis de trenes de potenciales de acción, estudios de correlación, estudios de densidad de corriente (*CSD*), promedio gatillado por evento (*STA*), y la visualización dinámica mediante matrices de colores.

El sistema hace posible la adquisición de las señales y el control de los experimentos, pero por sobre todo tiene un gran desarrollo en el área de análisis de señales, generando un cúmulo de datos acerca del comportamiento de las mismas. Lo anterior, hace que AAPS sea una herramienta única de gran funcionalidad que resuelve gran parte de los requerimientos en neurofisiología.

Además, AAPS es un sistema flexible, ya que permite usar electrodos que incluyen desde 1 hasta 16 sitios de registro, en distintas configuraciones espaciales. Es un primer paso para generar sistemas con mayor densidad de canales.

En el estado actual, AAPS tiene las mismas funcionalidades que los sistemas comerciales, fácil de usar, de gran robustez en el diseño, así como en las interfaces gráficas, pero sólo a una fracción del costo final y con la enorme ventaja de permitir modificaciones de acuerdo a las necesidades experimentales.

## ABSTRACT

The AAPS is a complete system of software and hardware working together to implement data acquisition and analysis in neurophysiology experiments. The system has been completely designed and implemented by this thesis, and its multiple functions allow, amongst others: signal filtering, event detection, spike train analysis, correlation, current source density (CSD), spike triggered average (STA), and the visualization of the signal's dynamics through color matrixes.

The AAPS not only makes it possible to acquire data and control experiments. Most importantly, a vast amount of development efforts was spent in the area of signal processing, generating a wealth of information about the behavior of any given signal. It represents, therefore, a unique tool of great functionality that solves most of the requirements in neurophysiology.

The AAPS is also a flexible system, allowing the use of electrodes with up to 16 recording sites in various spatial configurations. That constitutes a first step towards systems with a very large channel density.

In its actual state, the AAPS exhibits the overall functionality of commercial systems at a small fraction of their costs. It is easy to use and carefully designed, with the enormous advantage of allowing users to modify it to fit their special experimental needs.

# Capítulo 1

## Introducción

La neurofisiología es la ciencia que correlaciona datos generados por neuronas, tales como trenes de espigas y potenciales de campo, con el comportamiento. Estos datos se obtienen registrando la actividad celular mediante el uso de electrodos (Hubel, 1957), que miden la diferencia de voltaje que se genera durante los potenciales de acción.

En las investigaciones llevadas a cabo durante gran parte del siglo *XX*, sólo se han utilizado no más de uno o dos electrodos a la vez <sup>1</sup>. Sólo desde hace 10 años es posible experimentar usando 10 – 20 o hasta 120 micro-electrodos puestos en una misma zona del Sistema Nervioso. En estos experimentos, denominados de multicanal, se registra la actividad simultánea de muchas neuronas. Los experimentos de multicanal son difíciles de hacer y de analizar, ya que se generan verdaderos torrentes de datos. Además, se requieren sistemas de adquisición y análisis especialmente diseñados para este tipo de experimentos.

---

<sup>1</sup>El caso del EEG es distinto, y no se discute en esta tesis, ya que usa macro-electrodos y las técnicas del EEG están ya establecidas.

Existen sistemas comerciales, tanto de *hardware* como de *software*, que permiten implementar la adquisición y el procesamiento multicanal. Los sistemas comerciales disponibles tienen las siguientes características:

- . son poderosos,
- . son cerrados, es decir, es difícil o imposible agregarle nuevas características,
- . son caros, un sistema comercial de 16 canales puede llegar a costar US\$ 40.000 (*www.tdt.com*).

El problema fundamental de los sistemas comerciales es su poca plasticidad o capacidad de incorporar nuevos elementos o características. Debemos considerar que constantemente están surgiendo nuevos descubrimientos y métodos de procesamiento. Esto revela la necesidad de un sistema abierto a cambios. Un sistema comercial en muchos casos significa una considerable inversión económica sin la certeza de que el sistema sea lo suficientemente flexible como para permitir adaptarlo a las necesidades específicas de cada modalidad de experimentos realizados en un laboratorio. Por ejemplo, una adaptación importante consiste en poder hacer experimentos con animales despiertos, lo cual implica que el sistema de adquisición de datos pueda controlar el subsistema de control conductual durante la adquisición de datos.

## **Objetivos**

Un aspecto esencial de esta tesis es generar herramientas electrónicas y computacionales para poder analizar datos provenientes de muchos electrodos en forma concurrente. Los objetivos que se plantean son:

- Objetivo General : Diseño y Construcción de un Sistema Multicanal (16 electrodos) para experimentos de Neurofisiología.
- Objetivos Parciales:
  - A) Diseño y construcción de la electrónica de un sistema de 16 canales.
  - B) Diseño y construcción de un ambiente dúctil y abierto para adquisición de datos.
  - C) Diseño y construcción de un ambiente dúctil y abierto para análisis de datos neurofisiológicos.

Esta tesis es un paso en la dirección de generar un sistema multicanal. En esencia esta tesis trata de construir un sistema computacional de análisis de datos de neurofisiología donde:

1. Se introduce la mayoría de las operaciones requeridas por los neurofisiólogos (filtrado, correlaciones, *Spike Triggered Average*, *CSD*, etc ... ),
2. Se generan interfaces gráficas que hacen que los análisis sean intuitivos,
3. Se introduce un sistema inteligente de manejo de los datos para evitarle al investigador ser sobrepasado por los datos generados. Un sistema de 16 canales puede fácilmente generar 1 Gigabyte de datos por experimento.

Hay que mencionar que la habilidad de registrar muchas neuronas en forma simultánea ha generado un nuevo campo, el estudio de la Dinámica de Poblaciones Neuronales. Esta tesis permite comenzar una línea de investigación en este campo. Además, se pretende generar un sistema con características definidas de documentación y calidad, con el fin de que se puedan hacer a futuro nuevas versiones.

Finalmente, este proyecto se inserta en la tentativa actual de construir interfaces cerebro-máquina. Esto consiste en poder usar directamente señales de neuronas para controlar prótesis o sistemas externos (Lebedev y otros, 2005; Patil y otros, 2004). Mi Tesis trata entonces de cómo registrar muchas neuronas en forma simultánea, y este paso (el registro masivo de neuronas) es el paso inicial de las interfaces cerebro-máquina.

# Capítulo 2

## Sistema AAPS

El sistema de registro multicanal y procesamiento de señales neuronales extracelulares, AAPS, fue diseñado para adquirir datos de micro-electrodos y hacer análisis *off-line* de ellos. Este sistema incluye elementos de *hardware* y *software* que señalamos a continuación:

El *Hardware* consta de:

- . arreglos de micro-electrodos,
- . unidad pre-amplificadora (*Head Stage*)<sup>1</sup>,
- . amplificador de 16 canales y
- . tarjeta de adquisición AT-MIO-16F-5, *National Instruments*.

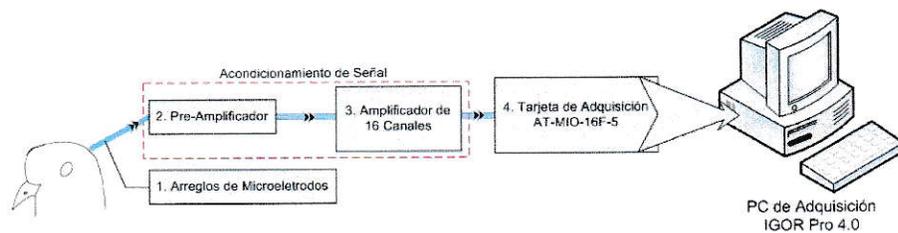


Figura 2.1: Esquema General del *Hardware* de Adquisición.

<sup>1</sup>Con alta impedancia de entrada (20 MΩ)

La figura 2.1 muestra el esquema general del *hardware* de adquisición, donde las señales captadas por los micro-electrodos viajan hasta la unidad pre-amplificadora y son retransmitidas al amplificador de 16 canales, llegando finalmente a la tarjeta de adquisición de datos, desde la cual son recuperadas por el *software*.

El *Software* cuenta con una interfaz gráfica de usuario (*GUI: graphic user interface*) desarrollada en el ambiente de programación IGOR Pro que controla y sincroniza todo el proceso experimental. Como se muestra en la figura 2.2, el *software* posee un panel principal desde el cual se puede acceder a dos módulos: Adquisición y Análisis.

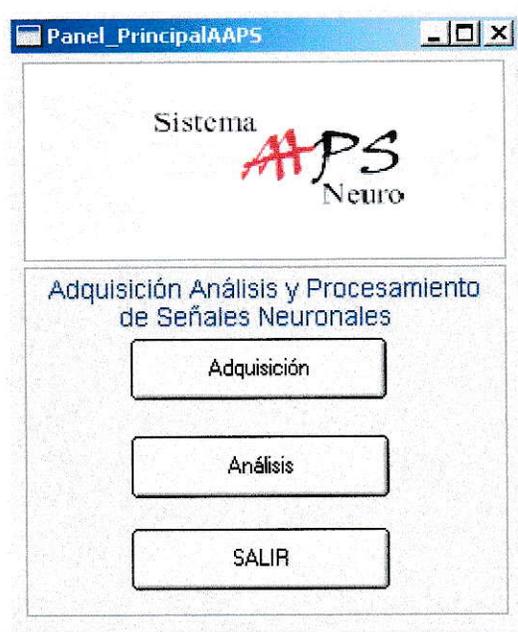


Figura 2.2: Panel Principal AAPS.

El **módulo de adquisición** está conformado por cuatro submódulos:

- . *Configuración del Experimento*,
- . *Ajuste de Rango Dinámico*,
- . *Descripción del Estímulo*,
- . *Control de Adquisición*.

En *Configuración del Experimento* se selecciona el tipo de experimento y el tipo de electrodo. Para este último es posible, además, ingresar información de penetración y profundidad. El submódulo *Ajuste de Rango Dinámico* permite modificar la ganancia de cada canal de la tarjeta de adquisición, reemplazando el valor por defecto (igual a 1) por una ganancia calculada según voltaje máximo observado en cada canal. En *Descripción del Estímulo* se caracteriza el estímulo, definiendo una serie de parámetros. En *Control de Adquisición* se definen el número de repeticiones y el intervalo entre las mismas. Además, se da inicio a la adquisición, lo cual activa el almacenamiento automático de datos.

El **módulo de análisis** representa el módulo más importante del *software* y el corazón de esta tesis, a través del cual se recuperan las señales almacenadas y se accede a las siguientes herramientas de análisis:

#### **Herramientas de uso General en Neurofisiología:**

- a) Filtros Digitales,
- b) Análisis de Trenes de Espigas (Schmidt, 1984a; Lewicki, 1998),
- c) *Spike Triggered Average*
- d) Histograma ISI (*Inter-Spike-Interval*)
- e) Autocorrelación (Proakis y Manolakis, 1998)
- f) Correlación cruzada temporal
- g) Análisis Espectral (*Fast Fourier Transform*) (Thomson, 1982; Mitra y Pesaran, 1999),

- h) Análisis de Densidad de Corriente (*CSD*, *Current Source Density*) (Mitzdorf, 1985).

### Herramientas Especiales:

- h) Correlación cruzada espacial,
- i) Análisis visual de comportamiento espacial,
- j) Análisis tiempo-frecuencia usando la Transformada de Wavelet Discreta (*DWT*)
- k) Detección de eventos tipo *Burst*
- l) Histograma de intervalos de tiempo entre *bursts*

A través de estas herramientas, el usuario puede caracterizar los siguientes aspectos de las señales:

- . Perfiles temporales en cada sitio de registro
- . Comportamiento ondulatorio (frecuencia de oscilación y/o la forma de la envolvente)
- . Distribución en las distintas capas de una estructura anatómica laminar
- . Análisis espectral
- . Correlación entre señales

Para mayor comprensión del funcionamiento del sistema AAPS, a continuación se detallan sus componentes: *hardware* y *software*.

# Capítulo 3

## *Hardware*

Los componentes de *hardware* se discutirán en el orden presentado en la figura 2.1.

### **3.1. Arreglos de Micro-electrodos:**

Los electrodos únicos, por si solos, permiten estudiar los perfiles temporales de los potenciales neuronales, e incluso clasificar trenes de espigas multi-unitarios (Schmidt, 1984a; Schmidt, 1984b). La ventaja comparativa de usar electrodos con varios sitios de registro (tétrodos y arreglos multi-electrodo) está dada principalmente por permitir estudiar las interacciones de neuronas aisladas o pequeños grupos neuronales, a distancias fijas y conocidas. De esta forma se agrega al análisis, además de la dimensión temporal, una dimensión espacial.

Los arreglos de micro-electrodos vienen en tres configuraciones principales: arreglos horizontales, arreglos en profundidad, o una combinación de ambas.

Los arreglos horizontales registran la propagación espacial horizontal de la señal de una unidad neuronal más allá de sus vecinos inmediatos. Ello permite estudiar las interacciones a igual profundidad dentro del tejido. En el caso de estructuras laminares eso significa estudiar una sola capa a la vez.

La configuración de electrodos en profundidad registra la propagación espacial de la señal de una unidad a través de las capas de una estructura. Permite estudiar las interacciones entre diferentes profundidades dentro del tejido. En el caso de estructuras laminares, eso significa estudiar simultáneamente distintas capas o diferentes profundidades dentro de una misma capa.

Dado que en la actualidad nos interesa estudiar las señales de alta frecuencia en sus siguientes aspectos: distribución laminar y coherencia espacial horizontal en grandes extensiones de tejido, nuestro sistema fue diseñado para utilizar dos tipos de arreglos de micro-electrodos:

- . arreglo uni-dimensional, en profundidad, con 16 sitios de registro, espaciados a 50 ó 100  $\mu\text{m}$  (*Michigan Probe*<sup>1</sup>, ver esquema básico en figura 3.1).
- . arreglo bi-dimensional, horizontal, con hasta 16 sitios de registro, espaciados a 200  $\mu\text{m}$  (*Frederick Haer*<sup>2</sup>).

Si bien el diseño no incluye otros arreglos de micro-electrodos, el sistema demostró ser funcional con diversas configuraciones de 1 a 16 electrodos de tungsteno, actualmente en uso en nuestro laboratorio.

---

<sup>1</sup>[www.engin.umich.edu/facility/cnct](http://www.engin.umich.edu/facility/cnct)

<sup>2</sup><http://www.fh-co.com>

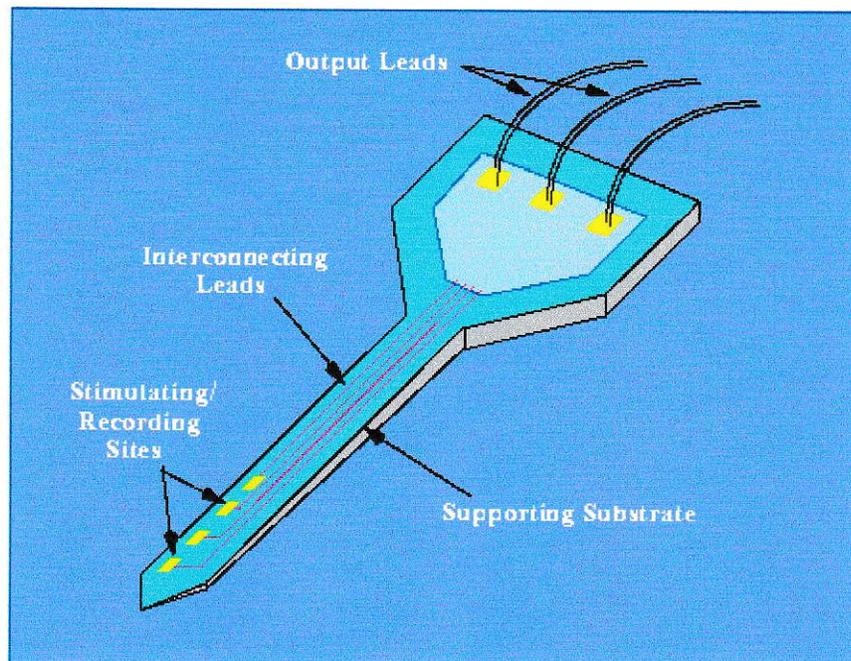


Figura 3.1: Estructura básica de un electrodo múltiple uni-dimensional *Michigan Probe* con 4 sitios de registro. Un sustrato de silicio soporta un arreglo de delgadas películas de conductores, aislados por depósitos de dieléctricos (dióxido de silicio y nitrito de silicio) dispuestos por sobre y debajo del conductor. Las aperturas en el aislante definen los sitios de registro, los cuales están incrustados con oro u óxido de iridio para generar una interfase conductora con el tejido. En el tectum óptico de paloma, estos electrodos se disponen perpendicularmente (eje  $z$ ) a las láminas, permitiendo el registro de actividad simultánea en profundidad.

## 3.2. Pre-Amplificador:

Las características de las señales extracelulares neuronales varían según se trate de registros unitarios<sup>3</sup> o de potenciales de campo local (*LFP*, *local field potential*) que reflejan la actividad sináptica. Las señales unitarias generan corrientes de aproximadamente 1-10 pA, con una amplitud 50-500  $\mu\text{V}$  y un rango de frecuencias de 300-5.000 Hz. Los *LFP*, en cambio, generan corrientes diez veces mayores, 10-100 pA, con amplitudes entre 50 y 3.000 mV y frecuencias entre 1 y 200 Hz.

En nuestro caso estamos interesados en oscilaciones de muy alta frecuencia (*VFO*) que tienen 500  $\mu\text{V}_{p-p}$  de amplitud y un espectro de 7-5.000 Hz<sup>4</sup>.

Estas pequeñas corrientes generadas pueden fácilmente contaminarse con elementos de ruido<sup>5</sup> electrónico, o bien, por ausencia de blindaje de los cables conectados a los electrodos, podrían contaminarse con las señales procedentes de los demás electrodos (*crosstalk*). Para evitar la contaminación, se construyó la unidad “Pre-Amplificador”, para 16 canales de señal. Esta unidad es de muy pequeñas dimensiones, lo que permite colocarla muy cerca de la fuente de señal biológica. El pre-amplificador (figuras 3.2 y 3.3) cumple las siguientes tareas:

- . eliminación de ruido de baja frecuencia (*offset*) con el objetivo de evitar la saturación en los posteriores pasos de amplificación. En nuestro caso basta con un filtro RC pasa alta con frecuencia de corte de 8 Hz.
- . aislamiento eléctrico de la fuente biológica de la señal (corrientes muy pequeñas) del sistema electrónico de adquisición. Esto se logra incluyendo un seguidor de voltaje (*voltage follower*), el cual es un componente electrónico de

---

<sup>3</sup>potencial generado por una única célula

<sup>4</sup>al comienzo de esta tesis no se sabía el origen de las *VFO*, pero ya se ha aclarado que corresponde a la activación de axones con estructuras muy peculiares, *paintbrushes*

<sup>5</sup>corriente DC (muy bajas frecuencias), ruido eléctrico del equipo, ruido eléctrico ambiental

muy alta impedancia de entrada.

- amplificación  $20\times$  del voltaje con el fin de que la señal sea menos susceptible a contaminación con ruido en el camino desde la fuente biológica hasta el amplificador principal.

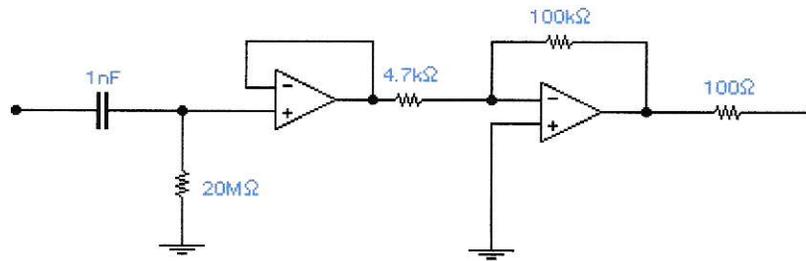


Figura 3.2: Diagrama de un canal del prototipo de pre-amplificador, mostrado en figura 3.3, un filtro pasa alta seguido de un seguidor de voltaje y un amplificador inversor ( $f_c \sim 8$  Hz; Amplificación  $\sim 20\times$ ).

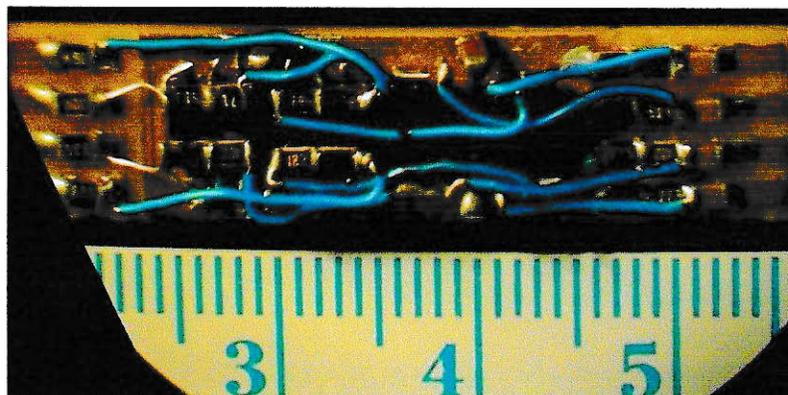


Figura 3.3: Foto de un canal prototipo del pre-amplificador. El pre-amplificador consiste de 16 de estos canales montados en una superficie de cobre (técnica *surface mount*).

### 3.3. Amplificador de 16 canales:

Las salidas del pre-amplificador se conectan al amplificador de 16 canales (figura 3.4) diseñado y construido con las siguientes especificaciones :

- . Respuesta en frecuencia: 8 a 11.000 Hz.
- . Bajo *Input Bias Current*: 10 pA.
- . Bajo nivel de *Crosstalk*: > 60 dB
- . Ruido intrínseco del amplificador: <  $30\mu\text{V}$ .
- . Ganancia, común para todos los canales:  $117\times$

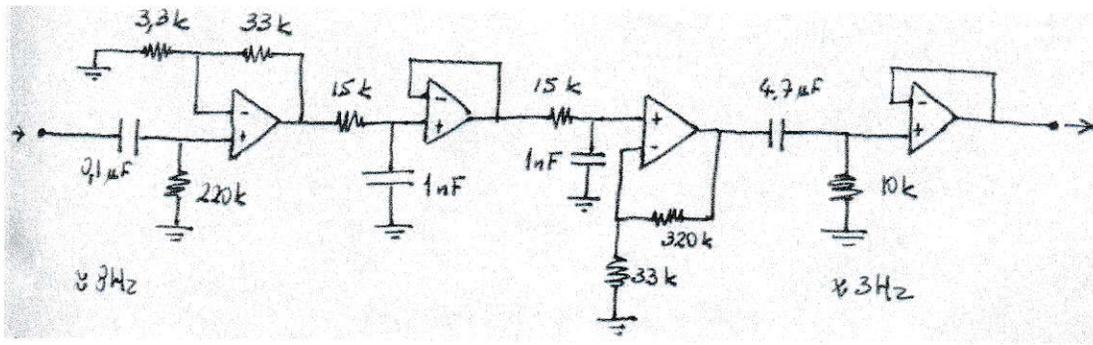


Figura 3.4: Diagrama de un canal del prototipo del amplificador de 16 canales. Se alternan filtros RC y etapas de amplificación, algunas de ellas con ganancia 1 (circuito seguidor). El resultado es un filtro pasa-banda (rango de frecuencias es 8 Hz a 11 kHz) y una amplificación final de  $117\times$ .

### 3.4. Tarjeta de Adquisición:

La tarjeta de adquisición AT-MIO-16F-5, *National Instruments*, maneja 16 canales de entrada analógica. Como muestra la figura 3.5, la tarjeta cuenta con un amplificador de instrumentación cuya ganancia es programable por *software*, además de un conversor analógico-digital de resolución 12-bit y dos posibles rangos para el voltaje de entrada (rango de conversión): 0 V a +10 V y -5 V a +5 V. Una resolución de 12 bit permite al conversor resolver su rango de entrada en 4.096 ( $2^{12}$ ) niveles posibles. Hace hasta 200.000 conversiones por segundo.

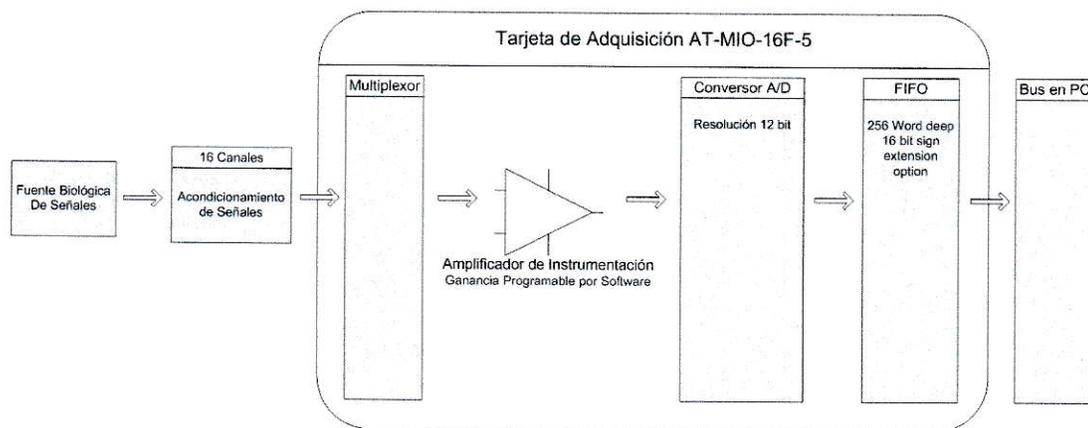


Figura 3.5: Diagrama de entrada analógica de la tarjeta de adquisición de datos consistente de un multiplexor, un amplificador de instrumentación de ganancia programable por *software*, un conversor analógico-digital (*ADC*) de resolución 12 bit y un buffer FIFO para el almacenamiento temporal de 256 valores de conversiones A/D.

El amplificador aplica ganancias a la señal entrante previo al muestreo y a la conversión analógico-digital. El control de la ganancia permite ajustar la amplitud de la señal entrante al rango de entrada del conversor, es decir, a los niveles mínimos y máximos de voltaje de entrada que el conversor puede cuantificar, esto produce una digitalización con el máximo de resolución posible.

En nuestro sistema el cambio de esta ganancia es efectuado por el módulo Ajuste de Rango Dinámico mencionado previamente, el cual realiza una breve adquisición y, con los valores obtenidos, calcula la ganancia para cada canal. Respecto del ajuste del rango dinámico, hay que considerar, además, que las señales biológicas presentan cambios abruptos de intensidad por lo cual, siguiendo el ejemplo de una señal de rango  $[-0.1 \text{ V a } +0.1 \text{ V}]$ , debemos aumentar al rango teórico a, por ejemplo,  $[-0.5 \text{ V a } +0.5 \text{ V}]$ , dando un margen que evitará saturación.

Para nuestra señal de ejemplo, el cálculo de la ganancia se efectuaría con la siguiente formula:

$$RS \times GA \times GT = (-5, +5) \quad (3.1)$$

**RS** : Rango de la señal

**GA** : Ganancia amplificadores de preamplificación y amplificador de 16 canales, aproximadamente  $2500 \times$ .

**GT** : Ganancia de tarjeta de adquisición programada por *software*

Los valores resultantes son ajustados según las siguientes ganancias permitidas por la tarjeta: 0.5, 1, 2, 5, 10, 20, 50 y 100. La tabla 3.1 muestra los niveles de rango de entrada y la precisión según la ganancia programada, para un *input* bipolar:

Ganancia	Rango de Entrada			Precisión	
0.5	-10.00	a	+10.00	V	4.88 mV
1	-5.00	a	+5.00	V	2.44 mV
2	-2.50	a	+2.50	V	1.22 mV
5	-1.00	a	+1.00	V	488 mV
10	-0.50	a	+0.50	V	244 mV
20	-0.25	a	+0.25	V	122 mV
50	-100	a	+100	mV	48.80 mV
100	-50	a	+50	mV	24.40 mV

Tabla 3.1: Rango dinámico según ganancia programada.

El *ADC* (*analog to digital converter*) presente en la tarjeta convierte a una velocidad de 200.000 muestras por segundo (200 ksamples/s), permitiendo una frecuencia de muestreo desde 200.000 hasta 12.500 muestras/s para cada canal<sup>6</sup>. Para iniciar la conversión A/D se ejecuta una operación de escaneo de la entrada analógica. Una vez concluida la conversión A/D, el valor es guardado en un buffer para su posterior lectura desde IGOR y su transferencia a espacios de memoria previamente creados en este ambiente y denominados “ondas de datos”. Ciertos aspectos de la adquisición son controlados por las propiedades de estas ondas provistas para recibir los datos.

---

<sup>6</sup>dependiendo del número de canales utilizado

# Capítulo 4

## *Software*

### 4.1. Diseño del *Software*

#### 4.1.1. Introducción

El *software* constituye el elemento de desarrollo más importante del Sistema AAPS. Como muestra la figura 4.1, está separado en dos módulos principales funcionalmente independientes, *módulo de adquisición* y *módulo de análisis*, además de un tercer módulo denominado *módulo de manejo de datos*.



Figura 4.1: El *software* participa en el control de adquisición y almacenamiento de los datos, así como en el procesamiento de los datos almacenados.

El módulo de adquisición es el encargado de interactuar con los elementos de hardware, específicamente con la tarjeta de adquisición de datos. Por tal motivo, el "PC de Adquisición" dispone de los siguientes elementos:

- . Tarjeta de Adquisición de datos (*National Instruments* ),
- . NIDAQ Drivers para el manejo de la tarjeta de adquisición (*National Instruments* )
- . NIDAQ Tools (*Wavemetrics* )
- . IGOR Pro 4.0 (*Wavemetrics* )
- . Interfaz Gráfica del Sistema AAPS

El computador que corre el módulo de análisis es el “PC de Análisis”. Este módulo maneja únicamente las herramientas de procesamiento y análisis, por lo cual el “PC de Análisis” dispone de :

- . IGOR Pro 5.0
- . Interfaz Gráfica del Sistema AAPS.

El tercer módulo de *software* es el módulo de manejo de datos. Sus procesos acompañan tanto al módulo de adquisición como al módulo de análisis. Al término de cada adquisición es el encargado del almacenamiento automático de los datos al disco duro del “PC de Adquisición”. Al iniciar el proceso de análisis permite al usuario recuperar los datos desde el disco duro del “PC de Análisis”.

### 4.1.2. Estructura de Experimento Tipo

Para entender la arquitectura y el manejo de datos en AAPS hay que conocer algunos detalles de como se hacen experimentos en Neurofisiología de la Visión.

Para efectos del *software* AAPS, un experimento se define como un evento que ocupa un día completo y se realiza en una paloma. La estructura anatómica estudiada es el Tectum Óptico, al cual se accede mediante cirugía. El conocimiento previo de la organización (anatómica, celular, funcional) del tectum es necesario para definir las subestructuras a estudiar y, por lo tanto, el ordenamiento estratégico de los sitios de inserción del electrodo y el tipo de experimento a realizar. Una vez inserto el electrodo, para cada sitio de contacto con el tejido se realiza un mapeo del campo visual correspondiente en la pantalla de estimulación, identificando sus coordenadas  $x$  e  $y$ .

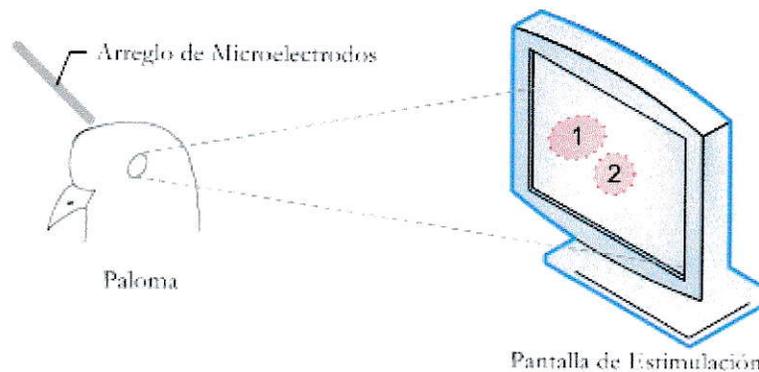


Figura 4.2: Esquema de un experimento de neurofisiología de la visión. La paloma anestesiada se fija en una plataforma metálica con su ojo izquierdo enfrentando la pantalla de estimulación, a pocos centímetros de ésta.

La figura 4.2 muestra el esquema experimental. Identificados los campos visuales correspondientes a cada sitio de registro, el experimentador puede dar inicio a los procesos simultáneos de adquisición y estimulación. Una secuencia de mediciones procedentes de un mismo sitio es denominada “registro”.

La estructura de datos está supeditada a la información que se necesita guardar de cada registro. En consecuencia, el árbol de directorios refleja: tipo de experimento, fecha, penetración y Run.

El **tipo de experimento** define el tipo de electrodo, el conjunto de protocolos de estimulación y el sitio en disco duro <sup>1</sup> en el cual se guardará el directorio principal del experimento (directorio de fecha).

La **fecha** define el nombre del directorio principal del experimento, donde se guardarán los registros de ese día. Generalmente, en cada jornada de experimentos se registra una sola paloma.

Una **penetración** define una inserción de un electrodo determinado en la estructura anatómica a registrar. Se pueden hacer una o más penetraciones con un mismo electrodo, o bien cambiar de electrodo si éste se dañó. Usualmente durante un experimento se llevan a cabo entre 2 y 7 penetraciones, estratégicamente situadas para registrar en todos los sitios de interés.

Un **Run** es un conjunto de registros simultáneos obtenidos durante la exposición de la paloma a un patrón de estímulos determinado. Usualmente se registran hasta 6 repeticiones de cada patrón, las cuales se guardan dentro del directorio de un mismo Run. Los archivos (registros) generados por las repeticiones tendrán nombres terminados en el número consecutivo de la repetición, ‘\_1’, ‘\_2’, ..., ‘\_6’. En el directorio del Run van, además de los datos, archivos de texto que describen el estímulo y el Run.

Los descriptores del estímulo incluyen forma y movimiento del objeto (ver figura 4.3), ubicación del objeto en pantalla, y parámetros temporales de la estimulación.

Los descriptores del Run abarcan condiciones de registro, descripción de la pene-

---

<sup>1</sup>directorio correspondiente al tipo de experimento (ej. CSD).

tración, estructura de archivos en disco, y repeticiones en cada Run.

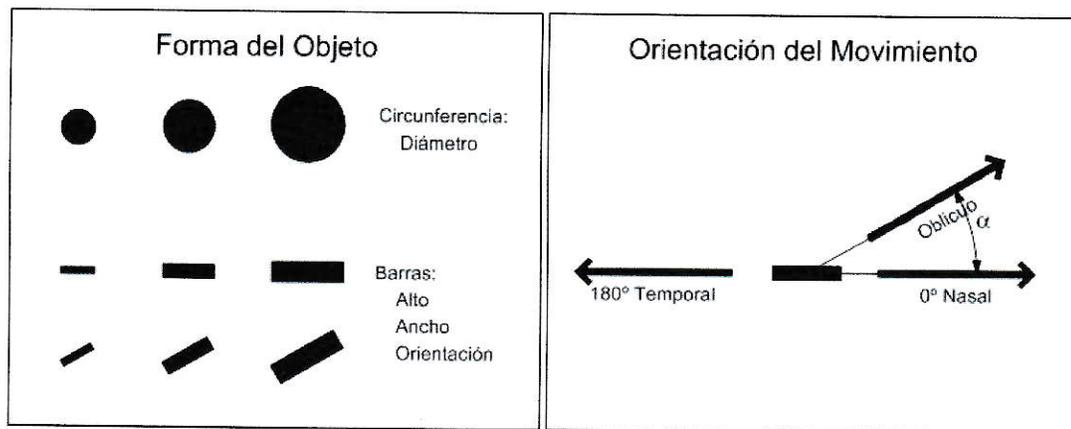


Figura 4.3: Algunos tipos y características del estímulo.

Los descriptores se discuten con mayor detalle en la sección 4.1.4 (Módulo de Manejo de Datos).

### 4.1.3. Módulo de Adquisición

La estructura de un experimento típico de neurofisiología de la visión define la necesidad de manejar tanto información de control como descriptiva del experimento. Esta información es esencial al momento de efectuar una adquisición y/o, posteriormente, al analizar e interpretar los resultados obtenidos.

La información se almacena temporalmente en variables globales, quedando disponible, para modificación y/o utilización, durante todo el experimento.

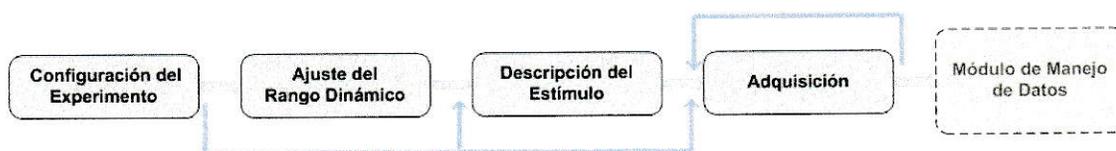


Figura 4.4: Etapas del proceso de adquisición.

El manejo de la información relacionada con la adquisición fue distribuido en los 4 submódulos, mostrados a la izquierda de la figura 4.4, que describimos a continuación.

#### Submódulo Configuración del Experimento.

El propósito de este módulo es controlar el número de canales de adquisición que se utilizarán, permitir la edición del nombre del directorio principal del experimento y controlar la actualización del número de la penetración. Adicionalmente, permite recopilar información tal como tipo de experimento <sup>2</sup>, tipo de electrodo <sup>3</sup>, profundidad del electrodo en el tejido y espaciamiento entre sitios de registro.

<sup>2</sup>Matriz  $4 \times 4$ , *CSD*, Otro

<sup>3</sup>Arreglo Bi-dimensional con 16 sitios de registro ( $4 \times 4$ ), Arreglo Uni-dimensional con 16 sitios de registro, Otro

**Submódulo Ajuste del Rango Dinámico.**

El propósito del módulo es ajustar el rango dinámico del conversor A/D al mayor posible. Eso se logra mediante una adquisición de datos sin almacenamiento a disco duro, al término de la cual se calcula la ganancia óptima para cada canal según lo descrito en la sección 3.4 (Tarjeta de Adquisición). Este procedimiento puede ser realizado al inicio del experimento y luego de cambiar penetración o profundidad en el tejido.

**Submódulo Descripción del Estímulo.**

Módulo cuyo propósito principal es recopilar la información relacionada con el estímulo, tal como tipo de estímulo y velocidad de movimiento, para su posterior recuperación durante el análisis de datos. La información, almacenada en un archivo de texto junto a los datos obtenidos, es descrita con mayor detalle en la sección 4.1.4 (Módulo de Manejo de Datos). Entre estos campos descriptores se encuentra el campo de duración de la adquisición, el único que efectúa control sobre la adquisición al definir la duración del registro .

**Submódulo Adquisición.**

Es el módulo encargado de dar inicio a la adquisición de datos, además, dado que existe una fuerte acomodación de respuestas neuronales, incluye dos campos de control que permiten definir el número de repeticiones y el intervalo entre repeticiones.

#### 4.1.4. Módulo de Manejo de Datos

Los datos obtenidos son almacenados en el árbol de directorios descrito en la sección 4.1.2 (Estructura de Experimento Tipo), respetando el ordenamiento habitual para este tipo de experimentos, lo que facilita su análisis posterior (ver figura 4.5).

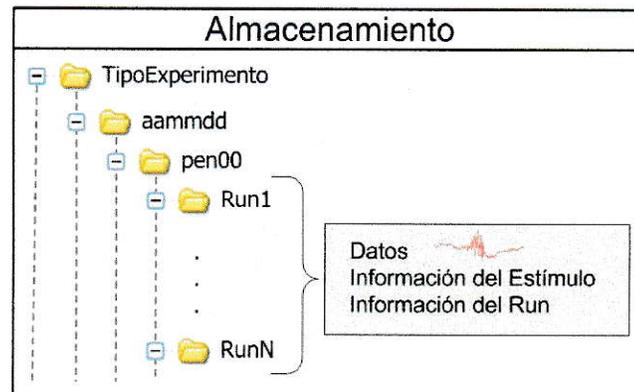


Figura 4.5: Estructura de directorios y archivos de un experimento. El almacenamiento refleja tipo de experimento, fecha, número de penetración y Run.

Al interior de cada subdirectorio "Run" se almacenan los datos adquiridos simultáneamente en todos los canales registrados, incluyendo sus repeticiones, además de dos archivos de texto que contienen los descriptores del estímulo y del "Run", detallados en la columna derecha de las Tablas 4.1 y 4.2, respectivamente.

	Tipo de estímulo
	Tipo de objeto (figura geométrica blanca sobre un fondo negro)
Forma del objeto	Diámetro, Alto, Ancho, Orientación
Movimiento del objeto	Velocidad, Orientación en grados, Sentido en términos anatómicos
Ubicación del objeto en la pantalla de estimulación	Locus (campo visual registrado), Coordenada $x$ , Coordenada $y$
Parámetros temporales	Retardo de aparición del objeto, Duración de la adquisición

Tabla 4.1: Descriptores del Estímulo.

	Fecha del Experimento
Condiciones de registro	Tipo de experimento, Tipo de electrodo o arreglo de micro-electrodos utilizado, Número de electrodos en el arreglo y/o Número de sitios de registro en el electrodo, Espaciado entre sitios de registro
Descripción de la Penetración	Número consecutivo, Profundidad en el tejido
Estructura de Archivos en Disco	Nombre del directorio principal (fecha + descriptor opcional), Nombre del Run, Lista de los nombres de archivos de datos en el Run
Repeticiones	Número de repeticiones dentro del Run, Intervalo entre repeticiones (tiempo entre el final de una repetición y el comienzo de la siguiente repetición)

Tabla 4.2: Descriptores del Run.

En el diseño de AAPS se consideró como factor importante la capacidad de recompilar los detalles del *setup* experimental en forma de descriptores precisos que habrían de quedar almacenados junto con los datos registrados. Si bien muchos de estos descriptores no son necesarios para el análisis numérico posterior, resultan esenciales para las conclusiones científicas derivadas de tal análisis.

#### 4.1.5. Módulo de Procesamiento y Análisis

El módulo de análisis es el módulo principal de esta tesis. Permite el acceso a los datos almacenados localmente, y a herramientas de procesamiento y visualización de señales. Las rutinas desarrolladas están centradas en caracterizar los eventos tipo *Burst* (figura 4.6), el cual consiste en una secuencia de descargas en alta frecuencia ( $\geq 100$  Hz), de corta duración, y que se encuentra montada en un potencial lento. Se sabe que los máximos de estas descargas presentan amplitud variable. No se conocen ni la cantidad de descargas presentes a lo largo de un *Burst* ni la amplitud esperada para cada una de ellas. Tales características han sido consideradas al momento de crear y adaptar herramientas de análisis apropiadas para su estudio.

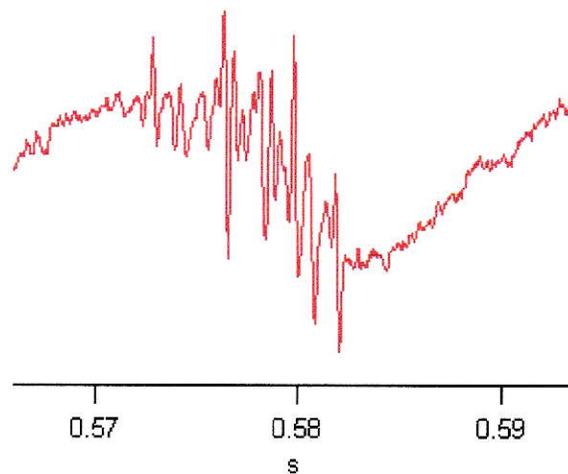


Figura 4.6: Un evento *Burst*.

## Filtros Digitales

Una herramienta crucial en análisis de señales son los filtros numéricos. Estos filtros pueden ser utilizados para:

- . eliminar componentes de ruido de frecuencia conocida, como los 50 Hz de la red AC.
- . eliminar los componentes de frecuencia fuera del rango de interés.
- . suavizar señales eliminando componentes de alta frecuencia.
- . realizar el análisis espectral de la señal.

Todas estas acciones se hacen con un sustrato matemático común, la implementación de filtros digitales. Los filtros numéricos pueden implementarse tanto en el dominio del tiempo como también en el dominio de la frecuencia. Para construir un filtro digital en el dominio del tiempo se requiere implementar algoritmos de convolución. Los filtros en el dominio de la frecuencia utilizan la Transformada de Fourier, y son los que se implementan en esta tesis.

### Filtros en el dominio de la frecuencia

Sea  $g(t)$  una señal en el dominio del tiempo, y  $\hat{G}(\omega)$  su transformada de Fourier (o sea, su representación en el dominio de la frecuencia). Entonces, el método para aplicar un filtro digital consiste en multiplicar  $\hat{G}(\omega)$  por la función de transferencia  $\hat{F}(\omega)$  de dicho filtro, y luego aplicar la Transformada de Fourier Inversa (*IFFT*).

$$g(t) \xrightarrow{FFT} \hat{G}(\omega) \xrightarrow{\times \hat{F}(\omega)} \hat{G}(\omega) \text{ Filtrada} \xrightarrow{IFFT} g(t) \text{ Filtrada}$$

$\hat{F}(\omega)$  =Función de transferencia del filtro en el dominio de la frecuencia

Esta multiplicación modifica de manera selectiva algunos componentes de frecuencia de la señal. La función de transferencia que se selecciona es esencial, ya que define las propiedades del filtro. La figura 4.7 muestra tres tipos de filtros muy utilizados, y cuyo nombre tiene relación con su comportamiento en frecuencia: *a-*) filtro pasa baja, *b-*) filtro pasa alta y *c-*) filtro ranura (*notch filter*).

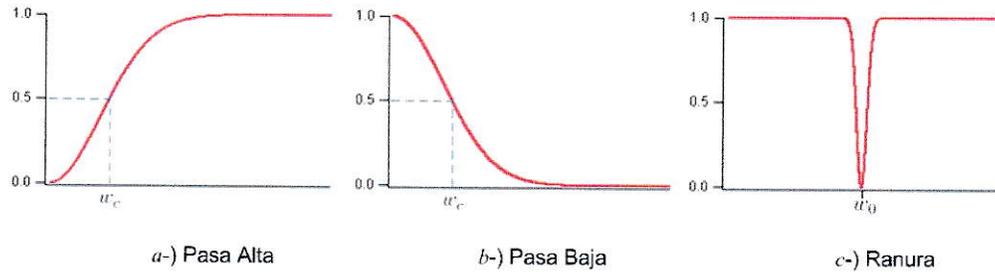


Figura 4.7: Respuesta en frecuencia característica de un filtro pasa alta (*a*) y un filtro pasa baja (*b*) con frecuencia de corte  $w_c$ , junto a un filtro ranura (*c*) con respuesta en frecuencia nula para  $w_0$ .

Los dos primeros dejan pasar frecuencias bajas y altas, respectivamente. Un filtro ranura, en cambio, permite el paso de todas las frecuencias menos el componente de frecuencia  $w_0$ .

La figura 4.8 muestra un esquema de un filtro en el dominio de la frecuencia. El filtro corresponde a un filtro pasa alta con frecuencia de corte 200 Hz, que usa como función de transferencia la función escalón.

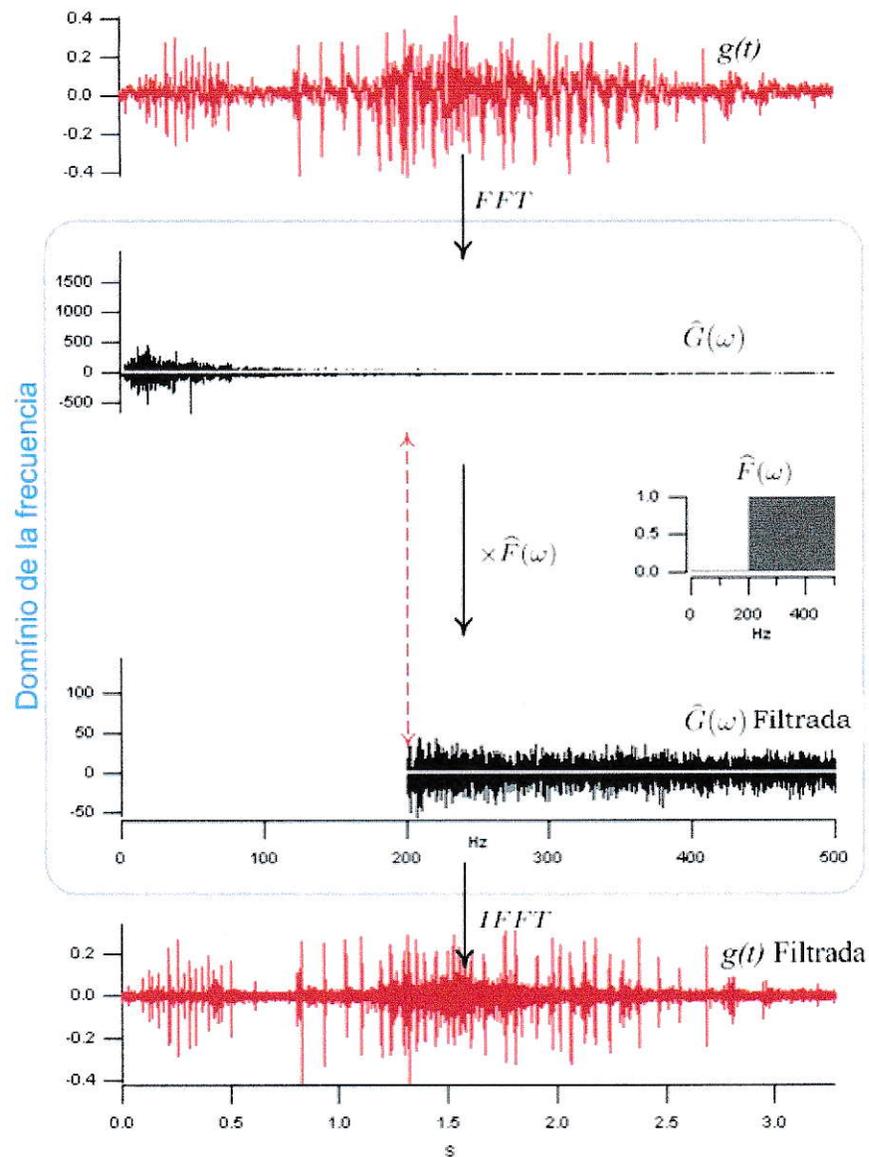


Figura 4.8: Modelo de un filtro en el dominio de la frecuencia. El espectro de la señal,  $\hat{G}(\omega)$ , es multiplicado por la función de transferencia del filtro,  $\hat{F}(\omega)$ , eliminando los componentes de frecuencia entre 0 y 200 Hz. En el dominio del tiempo aparece como una “eliminación de la línea base”

La figura 4.9 muestra la señal  $g(t)$  antes y después de filtrada con el filtro pasa alta de figura 4.8.

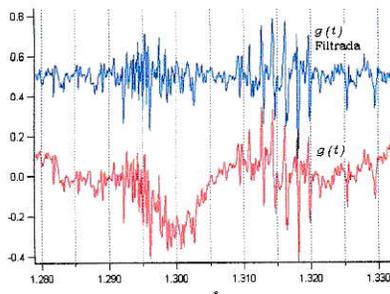


Figura 4.9: Señal de datos  $g(t)$  (inferior) junto a la señal de salida del filtro pasa alta (superior). Nótese la ausencia de la onda lenta envolvente y, por otro lado, que no hay cambio de fase.

### Método de Wavelets:

La Transformada de Wavelet Discreta (Letelier y Weber, 2000) es una operación lineal que descompone una señal en componentes que aparecen a diferentes escalas (o resoluciones). Para entender el significado de escala es importante entender el concepto “Familia Wavelet”. Una familia wavelet  $\psi_{j,k}$  es el conjunto de funciones elementales generadas por dilatación (estiramiento) y traslación de una única “Wavelet Madre”  $\Psi(t)$ . Una escala corresponde a un subconjunto de las funciones que comparten la misma dilatación. La transformada de wavelet de  $f(t)$ , con  $\Psi(t)$  como la wavelet madre, es definida como el producto interno de  $f(t)$  con  $\psi_{j,k}(t)$ :

$$\psi_{j,k}(t) = 2^{j/2} \Psi(2^j t - k) \quad (4.1)$$

donde

$j$  : es el parámetro de escala, y

$k$  : es el parámetro de traslación

La wavelet madre y sus versiones escaladas actúan como filtros pasa banda, localizados en el tiempo, sobre la señal. El resultado final de esta transformada es el espectro de la señal localizado en el tiempo (figura 4.10). Los componentes de baja frecuencia serán estimados por las funciones más dilatadas (de mayor duración tem-

poral), mientras que los componentes de frecuencia alta pueden ser más precisamente localizados en el tiempo por las funciones menos dilatadas (más cortas).

Para lograr un mejor análisis wavelet se debe seleccionar una wavelet madre que se asemeje a la forma de la señal a analizar. Por esto la wavelet utilizada en la mayor parte de nuestras rutinas es la wavelet *Daubechies*.

La aplicación de filtros por el método *DWT* tiene la ventaja de que se puede filtrar un nivel de frecuencias de la señal sin modificar los restantes, con el beneficio adicional de la localización temporal de los componentes de frecuencia. La figura 4.10 muestra un filtro “pasa banda” implementado con la Transformada de Wavelet Discreta.

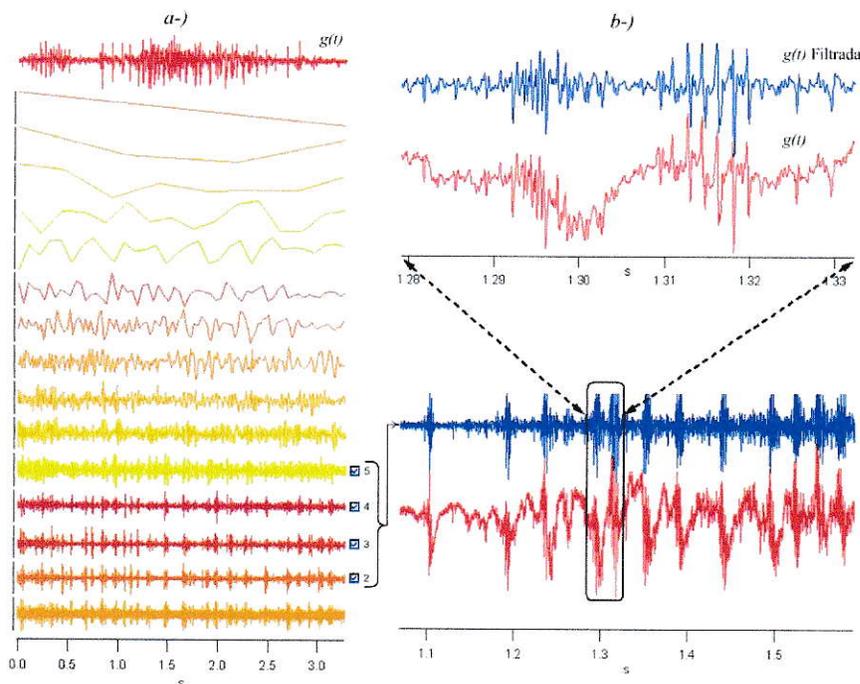


Figura 4.10: Transformada de Wavelet Discreta (*DWT*) de  $g(t)$ , señal con frecuencia de muestreo de 20 kHz, con *Daubechies 4* como wavelet madre. *a-*) descomposición en escalas de  $g(t)$ . *b-*) filtrado pasa banda ( 312.5 a 5000 Hz) recuperando los componentes de frecuencia de escalas 2 a 5.

En algunas aplicaciones o rutinas, como la rutina de detección de eventos *burst*, se decidió usar, en vez de los filtros basados en la Transformada de Fourier (presentados anteriormente), filtros basados en la Transformada de Wavelet Discreta (*DWT*).

## Búsqueda y Clasificación de Eventos

Se diseñó un sistema inteligente de búsqueda y detección de eventos. La rutina transforma la señal digitalizada en una secuencia de pulsos localizados en el tiempo, cada uno de los cuales representa un evento válido y significativo. Cada una de estas secuencias recibe el nombre de “*tren de eventos*”. Para la detección de eventos *Bursts* la rutina considera las siguientes características del evento:

- . corta duración, cercana a los 10 ms
- . predominancia de componentes de alta frecuencia
- . amplitud de máximos variable a lo largo del *Burst*

La detección de máximos es una técnica clásica para la detección de espigas. Debido a la forma de nuestra señal particular, que más bien parece una secuencia (seguidilla) de espigas muy cercanas, decidimos adaptar esta misma técnica, pero agregando un paso previo de generación de envolvente.

La adaptación consiste en generar una envolvente de los componentes de alta frecuencia, y en esta envolvente buscar el máximo que define cada *burst*. Esta adaptación permitiría individualizar todos los *bursts* contenidos en cada registro.

En la generación de envolvente (ver figura 4.11) se incluye una primera etapa de filtrado digital usando la Transformada de Wavelet Discreta (wavelet madre *Daubechies*, figura 4.12), mediante la cual se extraen los componentes de alta frecuencia desde los datos crudos. En una segunda etapa, para cada tiempo  $t$  se calcula el valor absoluto, y al resultado se le aplica un suavizado (*smoothing*) usando la *DWT* (wavelet madre *Battle-Lemarie*, figura 4.12).

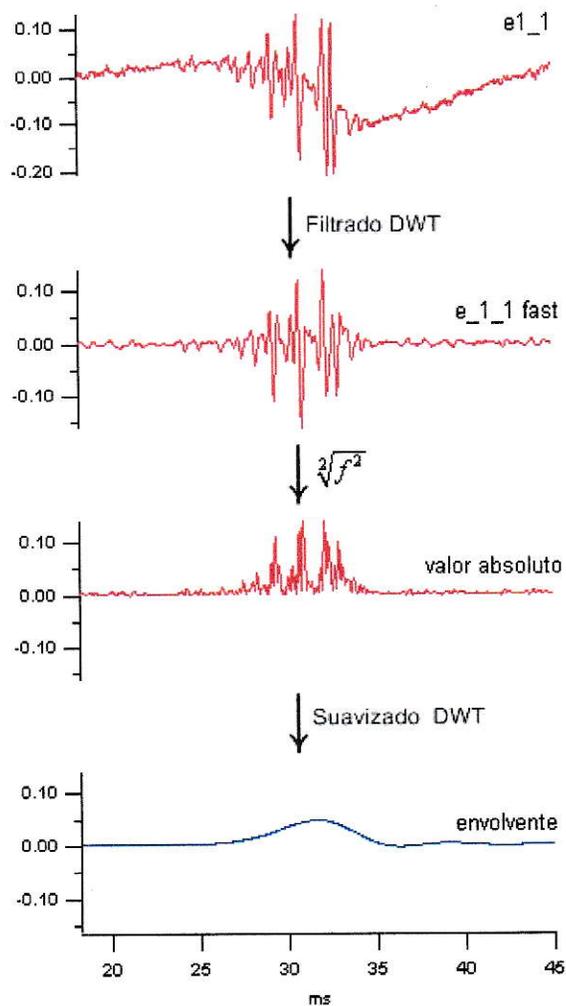


Figura 4.11: Secuencia de generación de la envolvente de los componentes rápidos, *Bursts*.

La envolvente resultante es sometida al algoritmo de detección de *bursts*. Un *burst* es detectado cuando:

1. se detecta un máximo local en la envolvente, y
2. el valor del máximo cae dentro de una ventana de amplitud determinada por dos umbrales, de amplitud mínima y amplitud máxima.

Para los eventos válidos se almacenan el valor de amplitud y la localización temporal (posición en el tiempo) del máximo de la envolvente. Además, para cada registro

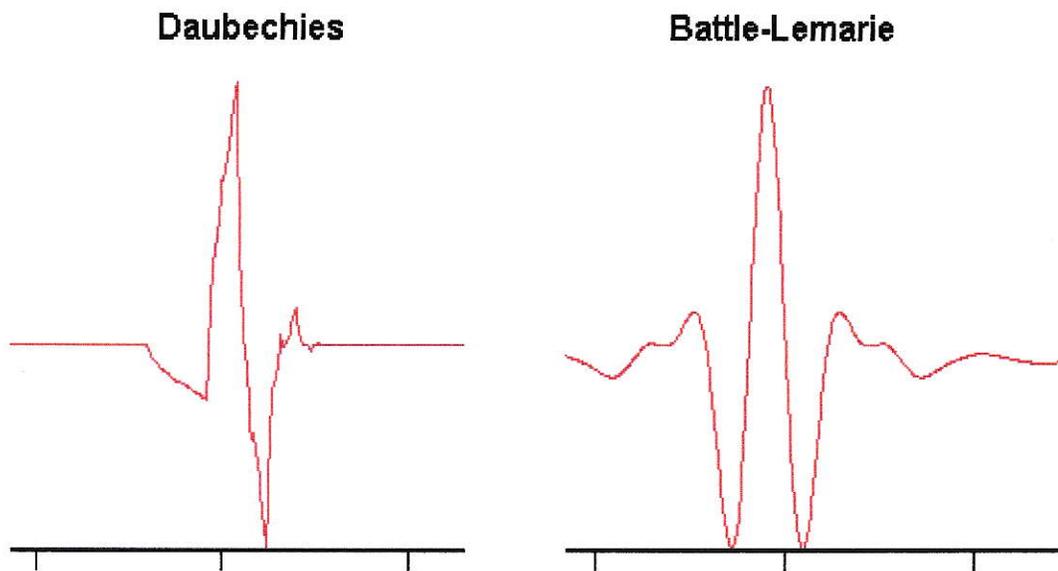


Figura 4.12: Wavelets madres utilizadas en la detección del evento *Burst*. Familia *Daubechies* para extracción de componentes de alta frecuencia. Familia *Battle-Lemarie* para el suavizado de la envolvente.

analizado se almacena el número de eventos detectados en ese registro.

La implementación hace uso de un algoritmo de transformada de wavelet discreta (*DWT*) que se describe en la subsección Filtros Digitales de la sección 4.1.5 (ver páginas 28 y 31).

## Histogramas *Inter-Spike Interval* e *Inter-Burst Interval*

*Inter-Spike Interval Histogram* (Histograma de Intervalos de Tiempo entre Espigas): método usado para chequear la calidad del aislamiento de espigas en un largo periodo de tiempo. Supone un paso previo de detección y aislamiento de eventos. Si todas las espigas aisladas provienen de la misma célula (*single unit*), el intervalo entre espigas no debe ser menor que el periodo refractario, el cual para muchas células no es menor que 1 ms.

*Inter-Burst Interval Histogram* (Histograma de Intervalos de Tiempo entre *Bursts*): adaptación del método utilizado para espigas. En el presente trabajo tiene como único objetivo el caracterizar los tiempos entre *Bursts* observados bajo distintas condiciones de estímulo. Al igual que el Histograma de Intervalos de Tiempo entre Espigas, supone la previa detección y aislamiento de eventos *Burst*.

## Correlación Temporal

### a-) Correlación entre señales analógicas discretas <sup>4</sup>

La correlación es una operación matemática que se realiza para medir el grado de similitud de dos señales (Stein, 2000). En el caso continuo, si las señales son  $g(t)$  y  $h(t)$ , su correlación cruzada  $C_{gh}(\tau)$  viene dada por la siguiente integral:

$$C_{gh}(\tau) = \int_{-\infty}^{+\infty} g(t) \cdot h(t + \tau) dt \quad (4.2)$$

En el caso de señales discretas ( $g[n]$  y  $h[n]$ ) la correlación cruzada es la secuencia  $C_{gh}[l]$  definida por

$$C_{gh}[l] = \sum_{n=-\infty}^{+\infty} g[n] \cdot h[n - l] \quad l = 0, \pm 1, \pm 2, \pm 3, \dots \quad (4.3)$$

o, equivalentemente, como

$$C_{gh}[l] = \sum_{n=-\infty}^{+\infty} g[n + l] \cdot h[n] \quad l = 0, \pm 1, \pm 2, \pm 3, \dots \quad (4.4)$$

El índice  $l$  es el parámetro de desplazamiento en el tiempo (equivalente al parámetro continuo  $\tau$ ) y los subíndices  $gh$  de la secuencia de correlación  $C_{gh}[l]$  indican las señales sobre las cuales se realiza la correlación, además de indicar cuál de ellas es la señal de referencia (en este caso:  $g[n]$ ).

Una aplicación particular de la correlación es la autocorrelación, que es la correlación de una señal consigo misma. Para el caso continuo tenemos que:

$$C_{gg}(\tau) = \int_{-\infty}^{+\infty} g(t) \cdot g(t + \tau) dt \quad (4.5)$$

y para el caso discreto tenemos:

---

<sup>4</sup><http://matchworld.wolfram.com/Cross-CorrelationTheorem.html>

$$C_{gg}[l] = \sum_{n=-\infty}^{+\infty} g[n] \cdot g[n-l] \quad l = 0, \pm 1, \pm 2, \pm 3, \dots \quad (4.6)$$

Si  $g[n]$  y  $h[n]$  son secuencias de longitud  $N$ , la autocorrelación y la correlación cruzada, respectivamente, pueden expresarse como:

$$C_{gg}[l] = \sum_{n=1}^N g[n] \cdot g[n-l] \quad (4.7)$$

y

$$C_{gh}[l] = \sum_{n=1}^N g[n] \cdot h[n-l] \quad (4.8)$$

En la práctica es conveniente normalizar las secuencias de autocorrelación y correlación cruzada. Esta normalización, en el caso de la autocorrelación de  $g[n]$ , corresponde a dividir  $C_{gg}[l]$  por la energía de  $g[n]$ ,  $C_{gg}[0]$ . En el caso de la correlación cruzada  $C_{gh}[l]$  es dividida por  $\sqrt{C_{gg}[0] \cdot C_{hh}[0]}$ .

### b-) Correlación de trenes de eventos

En neurofisiología es frecuente que además se busque definir la correlación cruzada y autocorrelación de señales que son representadas como trenes de deltas de Dirac (Rieke y otros 1997). Estas señales se denominan *trenes de eventos*<sup>5</sup>.

En estos casos, las definiciones anteriores, ecuaciones (4.2) y (4.3), no se utilizan ya que dependen de la amplitud de la señal, y lo relevante en los trenes de espigas es el tiempo entre eventos.

---

<sup>5</sup>un tren de espigas es definido como la suma de deltas a sus tiempos de disparo  $t_i$ , con  $i = 1, \dots, n$   
 $\rho(t) = \sum_i \delta(t - t_i)$   
 y frecuencia de descarga (*Firing rate*):  $r = \frac{n}{T} = \frac{1}{T} \int_0^T \rho(\tau) d\tau$

Para entender la generación de los autocorrelogramas y correlogramas cruzados para trenes de eventos es importante considerar que el concepto de autocorrelación para un tren de eventos,  $C_{gg}[l]$ , corresponde a la probabilidad de que exista un evento a un tiempo  $l$  luego de la ocurrencia de un evento. En consecuencia  $C_{gg}[l]$ , ecuación (4.7), es una densidad de probabilidad que se calcula (o se aproxima) mediante la construcción del histograma de todos los tiempos entre eventos. La figura 4.13 muestra que, dado un tren de eventos  $e$ , para obtener el autocorrelograma se necesita calcular el intervalo de tiempo  $\Delta t_{ij}$  para todos los pares de eventos  $(i, j)$  y luego realizar el histograma del conjunto de los  $\Delta t_{ij}$  (figura 4.14).

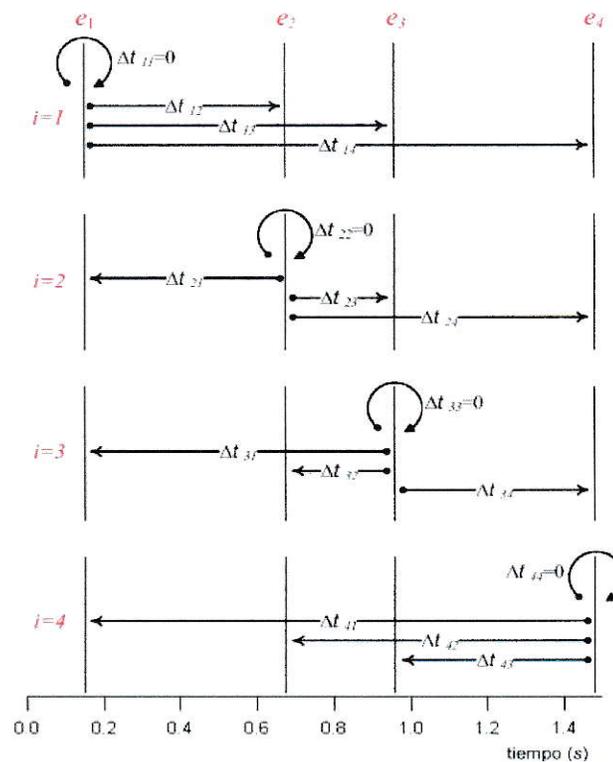


Figura 4.13: Construcción de un autocorrelograma. Sea un tren de eventos  $(e_i)_{i=1}^N$ . Se calcula el conjunto de todos los tiempos  $\Delta t_{ij} = t_i - t_j$  ( $i, j = 1, 2, \dots, N$ ). Nótese que  $\Delta t_{ii} = 0 \forall i$ ,  $\Delta t_{ij} = -\Delta t_{ji}$ , y que si el tren tiene  $N$  eventos existen  $N^2$  intervalos  $\Delta t_{ij}$ . Se calcula el histograma de los  $\Delta t_{ij}$  como aproximación de la función  $C_{gg}[l]$ .

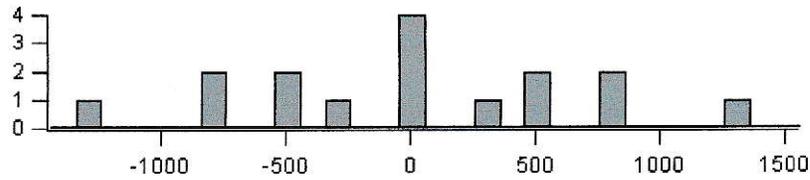


Figura 4.14: Autocorrelograma de tren  $e$ . En eje  $x$  se disponen los tiempos entre eventos (ms) y en eje  $y$  se muestra el número de eventos.

Para el caso de la correlación cruzada se generaliza la construcción anterior según:

$$\Delta t_{ij} = \text{tiempo del evento } i - \text{tiempo del evento } j.$$

$i$ =evento del tren 1  
 $j$ =evento del tren 2

### c-) Correlación entre señal discreta y tren de eventos

Otra modificación importante de la noción de correlación cruzada, es cuando las señales  $g(t)$  e  $h[n]$  son una señal discreta y un tren de eventos, respectivamente, e interesa efectuar la correlación cruzada de ambas señales. La correlación cruzada de una señal discreta y un tren de eventos es equivalente a calcular el promedio de la señal que rodea un evento (Rieke y otros, 1997; Koch, 1999).

Esta función de correlación cruzada es denominada *Spike-Triggered Average (STA)*, y es utilizada desde hace años en neurofisiología. En este contexto el *STA* (es decir, la correlación entre una señal discreta y un tren de eventos) se interpreta como el estímulo (o respuesta) promedio gatillado por una espiga.

Sean  $g(t)$  y  $h[n]$  correspondientes a una señal discreta y un tren de eventos. El *STA* entre estas dos señales se puede definir como:

$$STA(t) = g(t - t_1) + g(t - t_2) + g(t - t_3) + \dots + g(t - t_N) \quad (4.9)$$

donde los  $t_i$  corresponden al tiempo de ocurrencia del evento  $i$ -ésimo ( $h_i = h(t_i)$ ).

En la práctica la ecuación (4.9) se calcula de la siguiente manera.

- a-) para el evento  $h_1$  busque el tiempo  $t_1$
- b-) extraiga de  $g(t)$  el intervalo  $[g(t_1 - \varepsilon), g(t_1 + \varepsilon)]$
- c-) defina ese intervalo de señal como  $s_1$
- d-) para el evento  $h_2$  busque el tiempo  $t_2$
- e-) extraiga de  $g(t)$  el intervalo  $[g(t_2 - \varepsilon), g(t_2 + \varepsilon)]$
- f-) defina ese intervalo de señal como  $s_2$
- repita para cada uno de los eventos de  $h[n]$
- :
- g-) calcule el promedio  $STA = \frac{1}{N} [s_1 + s_2 + s_3 + \dots + s_N]$

La figura 4.15 muestra el proceso previamente descrito.

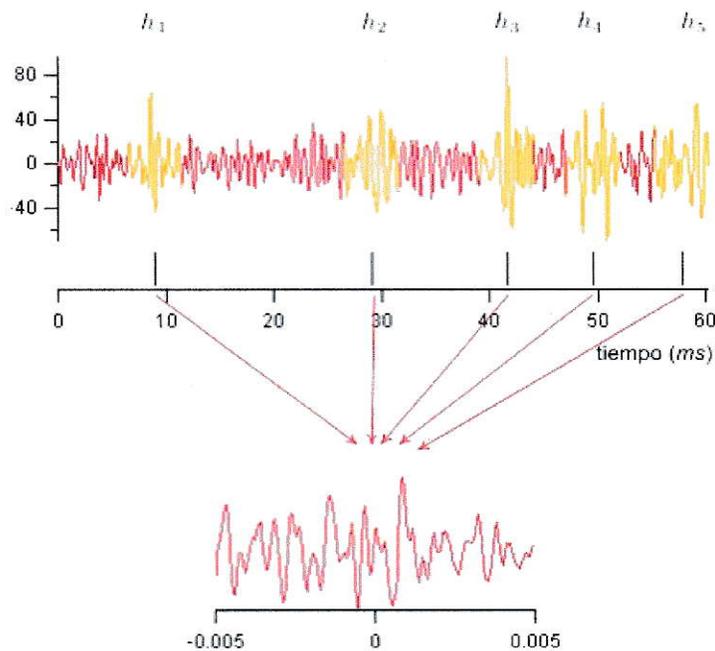


Figura 4.15: Selección de intervalos en señal continua. En la parte superior se muestran los intervalos seleccionados centrados en cada evento del tren de espigas.

Todas las rutinas de correlación se implementaron en IGOR en los siguientes módulos:

Correlación entre señales discretas	Correlacion
Correlación entre trenes de eventos	CorrelacionTrenesEventos

Nuestros cálculos de correlación cruzada y autocorrelación, para señales discretas, se implementaron usando *Correlate*, función nativa de IGOR. Para la correlación entre trenes de eventos y entre una señal discreta y un tren de eventos se implementaron funciones de correlación especialmente adaptadas.

### **Correlación Cruzada Espacial**

Este procedimiento corresponde a una correlación cruzada de señales discretas (descrita en página 38), en la cual se usan datos de experimentos tipo Matriz  $4 \times 4$ .

## Análisis Espectral y de Tiempo-Frecuencia.

El análisis espectral, o de frecuencia, de una señal consiste en describir como está distribuida su energía a través de sus componentes de frecuencia. En cambio, el análisis Tiempo-Frecuencia corresponde a un análisis espectral que entrega, además, información precisa de la evolución temporal de las diferentes componentes de frecuencia de la señal (Stein, 2000).

La importancia de disponer de herramientas de análisis tiempo-frecuencia para señales de origen biológico yace en que la mayoría de estas señales son no-estacionarias, lo que significa que su espectro cambia en el tiempo, siendo estos cambios considerados importantes en la comprensión de los fenómenos fisiológicos asociados.

La representación Tiempo-Frecuencia de una señal puede obtenerse mediante una adaptación de la transformada de Fourier conocida como “*Short Time Fourier Transform*” (*STFT*). Esta última consiste en dividir una señal  $x(t)$  en pequeños segmentos a través del tiempo (mediante una función ventana), y luego, suponiendo que cada segmento es una señal estacionaria, se calcula la Transformada de Fourier clásica para cada trozo de señal. El ancho de la función ventana define la resolución temporal del método y, además, define la resolución en frecuencia. Por tanto, si nuestra ventana es angosta tendremos una buena resolución temporal pero una mala resolución en frecuencia y, al revés, si la ventana es ancha la resolución en frecuencia mejora en desmedro de la resolución temporal. De lo anterior, se entiende que este método necesitaría que su función ventana cambiara su soporte en forma automática dependiendo del contenido espectral del trozo de señal para poder entregar información más completa.

Existe un segundo método matemático denominado Transformada de Wavelet

Discreta (*DWT*), descrito en la sección 4.1.5 (página 31), que analiza la señal con distintas resoluciones para las diferentes frecuencias, entregando la representación Tiempo-Frecuencia de la señal con una mejor resolución en frecuencia y tiempo. Esta Transformada lleva a cabo un análisis de multiresolución ya que la energía de los datos está distribuida en una jerarquía de escalas.

Aquí, no pretendemos hacer una revisión extensiva de esta técnica, nos limitaremos a mostrar un solo uso, el filtrado de datos usando *DWT*. Hemos escogido esta aplicación ya que de ella se pueden deducir casi todas las aplicaciones Tiempo-Frecuencia. La figura 4.16 muestra el esquema conceptual usado para implementar un filtrado tipo pasa-banda.

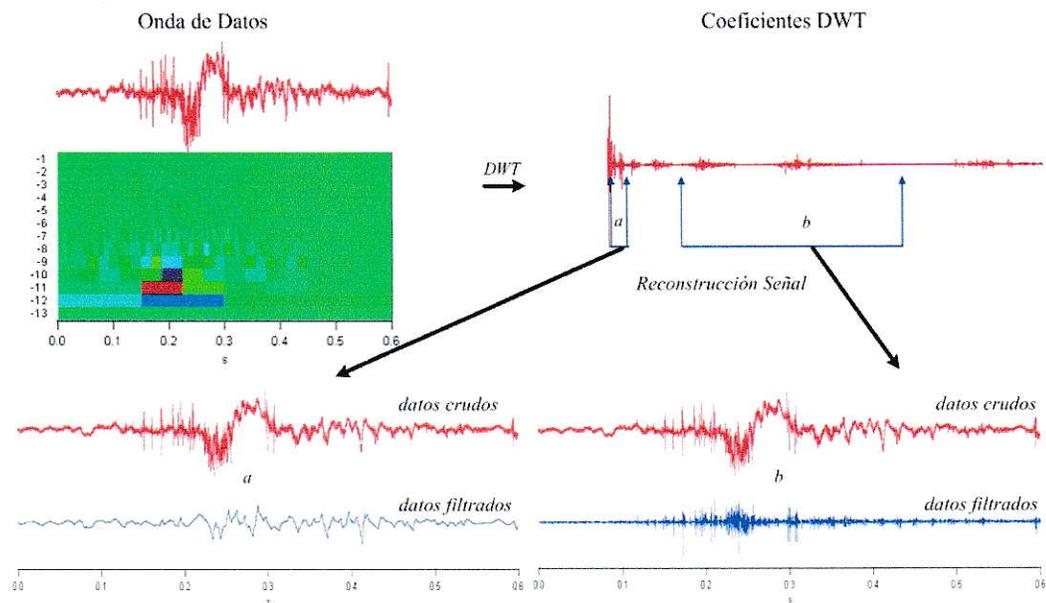


Figura 4.16: Esquema de filtrado pasa-banda usando la Transformada de Wavelet Discreta. La transformada de wavelet entrega los coeficientes agrupados en sus correspondientes escalas, en este dominio se extraen los coeficientes que se encuentran en las ventanas permitidas  $a$  y  $b$  y con ellos se reconstruyen sus respectivas señales filtradas.

En este filtrado se eliminan, de una onda de datos, los frecuencias muy lentas y/o las muy rápidas y luego se reconstruye la señal.

Los procesos de análisis de multiresolución de la *DWT* nos permiten conocer en qué momento se presentan los cambios de frecuencias en la señal analizada, de este modo podemos detectar algún punto en el que la señal tenga un cambio, que puede ser un punto de ruptura o una discontinuidad.

## Cálculo de Densidad de Corriente

Un uso esencial de los sistemas multicanal es detectar poblaciones de sinapsis coactivas. Esta detección usa una técnica que en inglés se llama *Current Source Density (CSD)* y que aquí llamaremos Cálculo de Densidad de Corriente. Para aplicar esta técnica se requiere:

- a-) que el tejido a analizar sea laminar
- b-) poder usar varios electrodos separados por distancias iguales o menores que  $100 \mu\text{m}$

Con *a* y *b* es posible armar el esquema que se muestra en la figura 4.17.

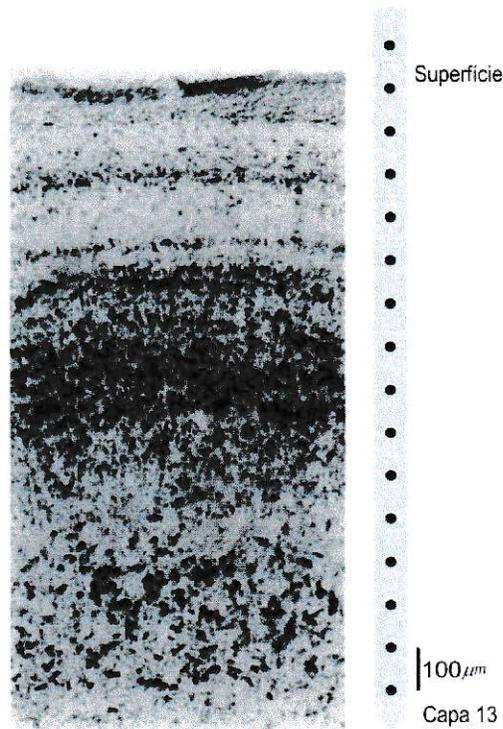


Figura 4.17: Esquema de un electrodo múltiple uni-dimensional, *Michigan Probe*, dispuesto a través de las capas del Tectum Óptico de Paloma, con sus 16 puntos de registro dispuestos a cada  $100 \mu\text{m}$  en el eje *z*.

En el sistema AAPS la densidad de corriente se puede calcular sólo cuando existen 16 electrodos en una configuración en línea ( $16 \times 1$ ). Esta configuración es la que espontáneamente se obtiene con los electrodos del *Center for Neural Communication Technology, CNTC*, de la Universidad de Michigan. Estos electrodos son fabricados con la tecnología de los circuitos integrados, y por lo tanto logran tener 16 puntos de registro simultáneo separados por 50 o 100  $\mu\text{m}$  en una hoja de silicio de 20  $\mu\text{m}$  de ancho por 1.5 mm de largo.

#### *Implementación Computacional*

Sea  $v_i(t)$  la señal de voltaje obtenida por el electrodo  $i$ . Para calcular la densidad de corriente es necesario considerar, para cada tiempo  $t$ , el conjunto de valores  $v_1(t) \dots v_{16}(t)$ .

Con este conjunto de números es posible calcular la densidad de corriente como la segunda derivada espacial (es decir, en el eje  $z$ ) según:

$$CSD = \frac{\partial^2 v}{\partial z^2}(t) \quad (4.10)$$

Consideremos la figura 4.18. Para cada tiempo  $t$  se extrae el conjunto de puntos  $v_1(t) \dots v_{16}(t)$ .

A este conjunto se le adjuntan 4 valores para tener el siguiente conjunto:

$$v_1(t) \ v_1(t) \ v_1(t) \ v_2(t) \ v_3(t) \ \dots \ v_{15}(t) \ v_{16}(t) \ v_{16}(t) \ v_{16}(t)$$

que al ser re-enumerado

$$v'_1(t) \ v'_2(t) \ v'_3(t) \ v'_4(t) \ v'_5(t) \ \dots \ v'_{17}(t) \ v'_{18}(t) \ v'_{19}(t) \ v'_{20}(t)$$

Esta adjunción es un mecanismo numérico para disminuir los efectos de borde en el cálculo de la segunda derivada espacial que requiere el *CSD* (Vaknin y otros, 1988).

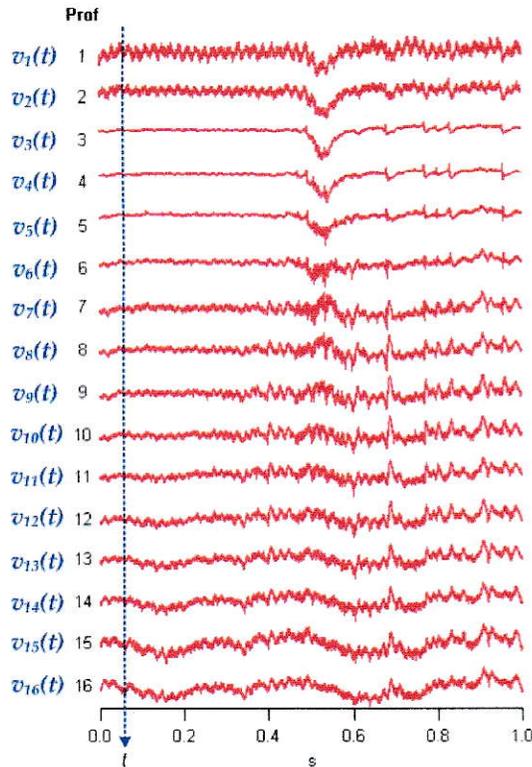


Figura 4.18: Secuencias temporales observadas en los 16 canales de un electrodo múltiple uni-dimensional.

Sobre este conjunto de 20 números se calcula la segunda derivada espacial usando la siguiente aproximación (Nicholson y Freeman, 1975; Mitzdorf, 1985):

$$CSD[j] \approx \frac{v'[j+2] - 2v'[j] + v'[j-2]}{2^2} \quad j = 3, 4, 5, \dots, 18 \quad (4.11)$$

Hacemos notar que  $v'[3]$  corresponde a  $v[1]$  y que  $v'[18]$  corresponde a  $v[16]$ .

Dado que el cálculo de  $CSD$  implica hacer derivadas numéricas se introduce lo que se denomina ruido numérico, haciendo necesario suavizar la señal de  $CSD$  mediante una operación de filtraje numérico para disminuir este tipo de ruido. El resultado se observa en la Figura 4.19.

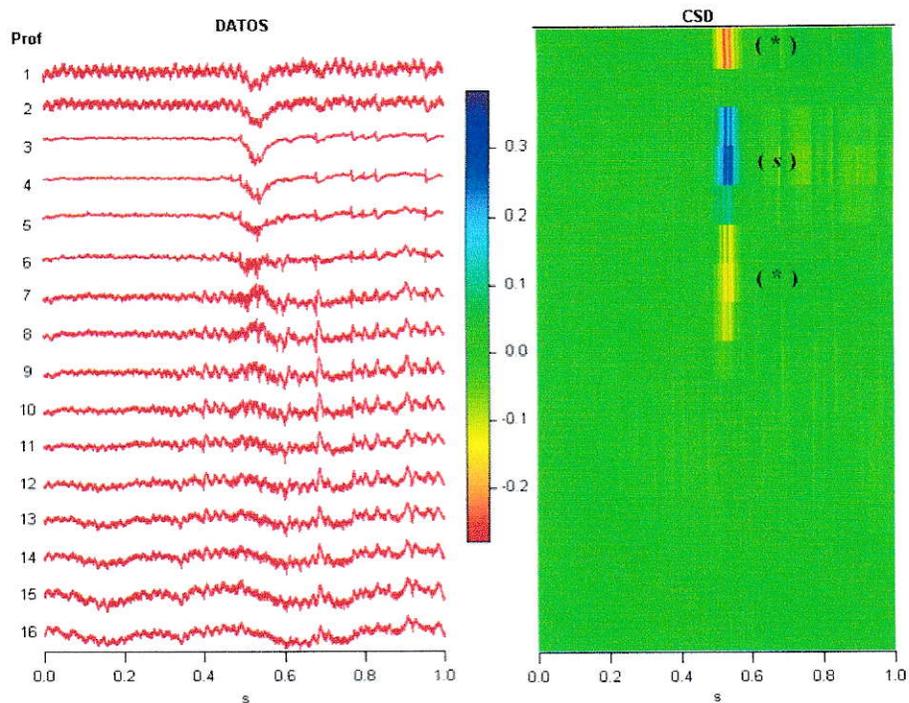


Figura 4.19: Matriz *CSD* en escala de colores. En el análisis *CSD* lo más importante es detectar los sumideros (*sinks*) de corrientes que indican poblaciones de sinapsis excitatorias. En el gráfico de la derecha se observa un sumidero (*s*) flanqueado de 2 fuentes (\*). Esta configuración (sumidero-fuente-sumidero) es el patrón más común que se detecta en los tejidos laminares.

## Herramientas de Visualización

La inspección visual puede revelar simetrías en los datos o puede guiarnos hacia una mejor representación e interpretación de éstos. Con el fin de favorecer el análisis de datos, hemos implementado distintas rutinas de visualización de datos. La mayoría ha sido desarrollada como un complemento a alguno de los métodos de procesamiento y análisis.

Para la casi totalidad de los gráficos, el usuario puede modificar tanto la escala temporal como la escala de amplitud visible, permitiendo estudiar con mayor detalle ciertos eventos.

### Análisis Visual de Comportamiento Espacial

Entre las rutinas de visualización destacan aquellas diseñadas para estudiar el comportamiento espacial en los datos obtenidos con los electrodos bi-dimensionales *Frederick Haer* de 16 canales. Se diseñó un sistema maestro que permite hacer varias “vistas” de los datos obtenidos con este tipo de electrodos. Para esto se ha recreado un esquema (figura 4.20) del electrodo, que muestra los puntos de registro enumerados (del 1 al 16) y ordenados en 4 filas y 4 columnas, obedeciendo a lo observado en los electrodos bi-dimensionales.

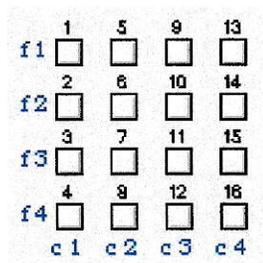


Figura 4.20: Esquema de los 16 sitios de registro del electrodo bi-dimensional.

En este esquema el usuario puede seleccionar 4 sitios de registro de interés incluyendo en un mismo gráfico (figura 4.21) los datos procedentes de cada uno de ellos.

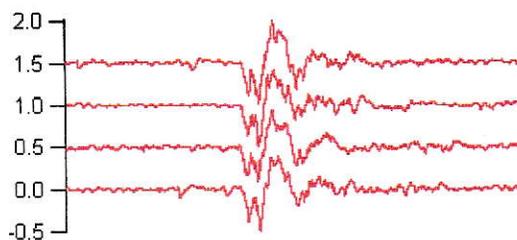


Figura 4.21: Vista de un grupo de datos procedentes de 4 sitios de registro.

El ordenamiento en filas y columnas del esquema diseñado permite una selección rápida de un grupo de 4 sitios de registro pertenecientes a una fila (figura 4.22a) o a una columna (figura 4.22b).

	<i>a</i>				<i>b</i>			
f1	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
f2	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
f3	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
f4	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	c1	c2	c3	c4	c1	c2	c3	c4

Figura 4.22: Selección rápida de 4 sitios de registro pertenecientes a una fila (a) y a una columna (b).

El gráfico generado permite evaluar el comportamiento simultáneo en los 4 canales seleccionados. Si, durante dicha evaluación, el usuario encuentra una ventana temporal con alguna tendencia, puede seleccionar la ventana de interés y desde allí acceder al menú contextual que permite llamar una rutina de generación de *Movie*. La *Movie* generada (figura 5.26) muestra, en intensidad de colores y para cada sitio de registro,

la evolución de la señal en el tiempo, durante la ventana temporal seleccionada. Se incluyen además distintos controles de velocidad de visualización.

# Capítulo 5

## Implementación del *Software* AAPS

En este capítulo se muestra cómo procesar señales reales usando AAPS. Se explican algunas pantallas de usuarios, los flujos de datos y la manera de usar el sistema en su conjunto. El propósito es mostrar el uso del sistema para que usuarios que desconozcan el trasfondo de programación puedan usarlo. Hacemos notar que este capítulo no es el manual del sistema AAPS, por lo tanto, aunque se presenta de manera profunda, existen varias ventanas de usuarios y rutinas de análisis que no están cubiertas. Eventualmente se escribirá un manual para uso interno del Laboratorio de Neurobiología.

### 5.1. Ambiente de Programación

Ambiente de programación IGOR Pro, versiones 4.0 para adquisición y 5.0 para el procesamiento y análisis. IGOR es un programa integrado para visualización, análisis, edición y presentación de datos. Es un programa de desarrollo de aplicaciones, que utiliza un lenguaje de programación sencillo e incluye:

- . Herramientas para manipulación de grandes series de datos
- . Herramientas de procesamiento tales como Transformada de Fourier, Transformada de Wavelet Discreta, Suavizado, Histogramas.

- . Herramientas para visualización y procesamiento de imágenes.
- . La posibilidad de generar y almacenar rutinas de procesamiento del usuario en un ambiente propio de programación
- . *Software* adicional, *NIDAQTools*, para adquisición de datos usando tarjetas *National Instruments*.

El sistema AAPS comprende aproximadamente 8.600 líneas de código, distribuidas en los diversos paquetes de funciones.

## 5.2. Panel Inicial

La pantalla inicial (figura 5.1) contiene los siguientes elementos: en la parte superior del panel se encuentra el logo del sistema, en la parte inferior se encuentran los botones de acceso a la Interfaz de Adquisición y a la Interfaz de Análisis.

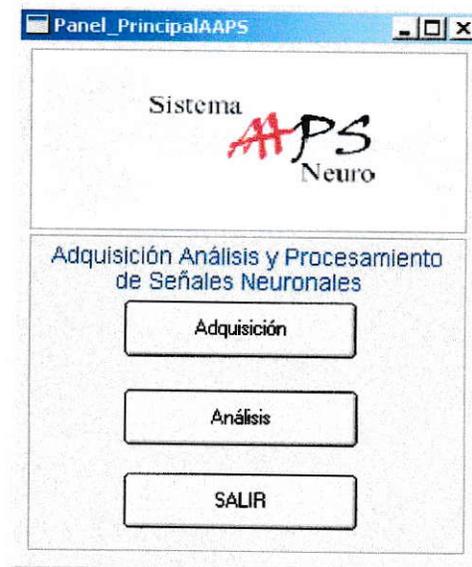


Figura 5.1: Panel Inicial del Sistema AAPS.

### 5.3. Interfaz de Adquisición

La figura 5.2 muestra el Panel Central de Adquisición, en el cual se encuentran los controles de configuración de los distintos aspectos del proceso de adquisición de datos.



Figura 5.2: Panel Central de Adquisición de AAPS.

Desde este panel el usuario podrá efectuar todas las operaciones requeridas para efectuar una adquisición:

1. acceder a los paneles complementarios:
  - . calibración y rango dinámico
  - . configuración del experimento
  - . descripción del estímulo
2. definir el número de repeticiones,
3. definir el intervalo entre repeticiones,
4. visualizar el run de datos actual,
5. iniciar la adquisición.

Para el paso “1.”, haga clic en el combo dispuesto en la parte superior del panel y seleccione desde la lista el panel complementario requerido. Cada panel complementario da acceso a diferentes opciones de configuración, muchas de ellas esenciales para un adecuado funcionamiento del sistema. A continuación, detallamos el uso de cada panel complementario y el orden de ejecución recomendado.

### 5.3.1. Calibración y Rango Dinámico

Como muestra la figura 5.3, este panel presenta dos secciones, la sección **Calibración** (izquierda) y la sección **Rango Dinámico** (derecha), además del visor de los 16 canales de datos (8 a cada lado) dispuesto al centro.

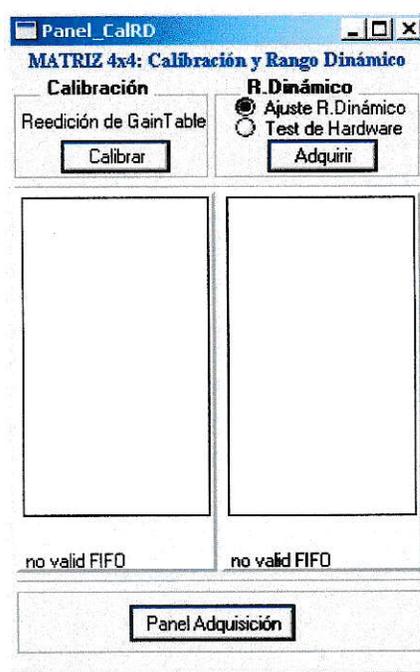


Figura 5.3: Panel de Calibración y Rango Dinámico.

Resulta esencial que el usuario sepa la importancia de cada una de las rutinas asociadas y la ocasión en que deben ser usadas. Por ello, a continuación junto con

señalar la forma de utilizarlas hacemos una breve descripción de cada una. Esta descripción es complementaria a lo descrito en la sección 3.4.

El procedimiento de calibración permite evaluar la ganancia por *hardware* propia de cada canal. Por ello debe realizarse la primera vez que se utiliza el sistema multicanal o luego de realizar algún cambio en el mismo. El resultado es una tabla de ganancias que será utilizada para ajustar el voltaje observado en cada canal entregando el voltaje real correspondiente. Para realizar este procedimiento basta con hacer clic en el botón **Calibrar** y, una vez finalizada la calibración, actualizar manualmente la tabla de calibración del sistema.

El procedimiento de Rango Dinámico incluye dos opciones excluyentes: **Testeo de Hardware** y **Rango Dinámico**. Para su ejecución basta con seleccionar la que se desea realizar y hacer clic en el botón adquirir.

El **Testeo de Hardware**, como su nombre lo indica, tiene por finalidad visualizar las señales entrantes permitiendo confirmar el adecuado funcionamiento del *hardware* y del *software*, siendo recomendable su realización previo a la primera adquisición de datos de un experimento.

La opción **Rango Dinámico** le permitirá adaptar el rango dinámico de la tarjeta de adquisición de datos, optimizando la resolución a la más adecuada para cada canal de datos según la amplitud máxima de la señal observada en cada uno. Por tal razón se recomienda realizar este procedimiento previo al inicio de la primera adquisición y luego de realizar cambios de profundidad o de sitio de penetración en el tejido, así como cuando el experimentador observe cambios importantes en la amplitud de la señal observada.

Para regresar al panel central de adquisición haga clic en el botón “Panel Adquisición”. Seleccione entonces el siguiente panel complementario.

### 5.3.2. Configuración del Experimento

En panel de Configuración del Experimento (figura 5.4) seleccione el tipo de experimento (Matriz\_4 × 4, CSD, ...). Esto definirá la secuencia de carpetas de almacenamiento de datos, empezando por la carpeta del tipo de experimento y luego la carpeta correspondiente a la fecha del experimento actual. En este último caso el nombre de la carpeta es construido basado en la fecha actual, obedeciendo al ordenamiento habitual de un experimento típico de neurofisiología de la visión (descrito en sección 4.1.2). En algunas ocasiones el experimentador requiere el incluir una identificación adicional al nombre del directorio principal del experimento, razón por la cuál el campo **Prupal** está abierto a modificaciones.



Figura 5.4: Panel de Configuración del Experimento.

En la parte inferior del panel seleccione el tipo de electrodo (Unico, Tetrodo, Bi-dimensional 4 × 4, Uni-dimensional(16), Otros). Verifique que la cantidad de Sitios de Registro y el Espaciamiento entre ellos correspondan a lo esperado para el electrodo seleccionado, si no es así ingrese el valor correcto. Este paso es importante dado que

define el número de canales de la tarjeta de adquisición que serán utilizados.

Por último, ingrese el número correlativo de la penetración y su profundidad. Estos valores deberán ser actualizadas en la medida que se realicen cambios de penetración y/o profundidad del electrodo durante el experimento.

Para cerrar este panel, haga clic en el botón “Aceptar”. El siguiente paso es describir el estímulo en el panel complementario correspondiente.

### 5.3.3. Descripción del Estímulo

Entramos a un panel casi netamente descriptivo (figura 5.5), esto porque la única especificación que afecta la adquisición la constituye el campo “Duración” que define la duración del proceso de adquisición.

The image shows a software window titled "NuevoPanel\_EstimLeo" with a standard Windows title bar. The window contains a form for configuring a stimulus named "Estímulo Leonardo". The form is organized into several sections:

- Estímulo Leonardo**:
  - Tipo: Flash (dropdown)
  - Objeto: Barra (dropdown)
  - Orientación Objeto: 0 (text input)
  - Orientación Anatómica del Objeto: T -> N (dropdown)
- Dimensiones del Objeto**:
  - Diámetro: 30 (text input) pixeles
  - Alto: 0 (text input) pixeles
  - Ancho: 0 (text input) pixeles
- Estímulos de Velocidad**:
  - Velocidad del Objeto: 0.5 (text input) s
  - Orientación Movimiento del Objeto: 0 (text input) °
- Locus del Objeto**:
  - Locus: 1-->2-->4-->3 (text input) (electrodo)
  - X= 0 (text input) Y= 0 (text input)
- Delay**: 0.000 (text input) s
- Duración**: 1 (text input) s
- Nota**: (empty text input field)

At the bottom of the form, there are two buttons: "Limpiar Campos" (Clear Fields) and "Aceptar" (Accept).

Figura 5.5: Panel de Descripción del Estímulo.

Para iniciar una nueva descripción haga clic en el botón “Limpiar Campos”. Luego

incluya las especificaciones que correspondan al tipo de estímulo usado. A continuación se muestra cada descriptor, su significado y, para los campos de selección, las opciones disponibles.

<b>Control</b>	<b>Descriptor</b>
Tipo	Tipo de estímulo luminoso <i>Opciones:</i> Flash, Moving, Flashes
Objeto	Forma geométrica del estímulo <i>Opciones:</i> Barra, Circunferencia, Otros (ver figura 4.3)
Orientación del Objeto	El ángulo expresado en grados (ver figura 4.3)
Orientación Anatómica	Sentido del movimiento en términos anatómicos <i>Opciones:</i> T → N (Temporal a Nasal), N → T (Nasal a Temporal), Otra
Dimensiones del Objeto	Diámetro, Alto, Ancho Establecer cuando corresponda, si la forma no incluye alguno de ellos debe ser especificado como igual a cero.
Velocidad del Objeto	Tiempo en el cual el estímulo cruza la pantalla de estimulación <i>Opciones:</i> 0.5, 1, 2, 4, 8 segundos
Orientación del Movimiento del Objeto	El ángulo del movimiento, expresado en grados.
Locus	Campo visual registrado, sigue la numeración del electrodo que registra ese campo, si el estímulo es con movimiento debe señalar la secuencia de campos visuales alcanzados
X=	Ubicación del objeto en pantalla de estimulación, coordenada $x$
Y=	Ubicación del objeto en pantalla de estimulación, coordenada $y$
Delay	Retardo en la aparición del objeto, en segundos
Duración	Duración de la adquisición, en segundos, debe ser igual o mayor a la duración del estímulo

Para salir de este panel, haga clic en el botón "Aceptar".

## 5.4. Interfaz de Análisis

### 5.4.1. Panel de Control de Análisis.

El acceso a las herramientas de análisis es controlado por el Panel de Control de Análisis mostrado en la figura 5.6. Desde aquí es posible llamar cada una de estas herramientas.

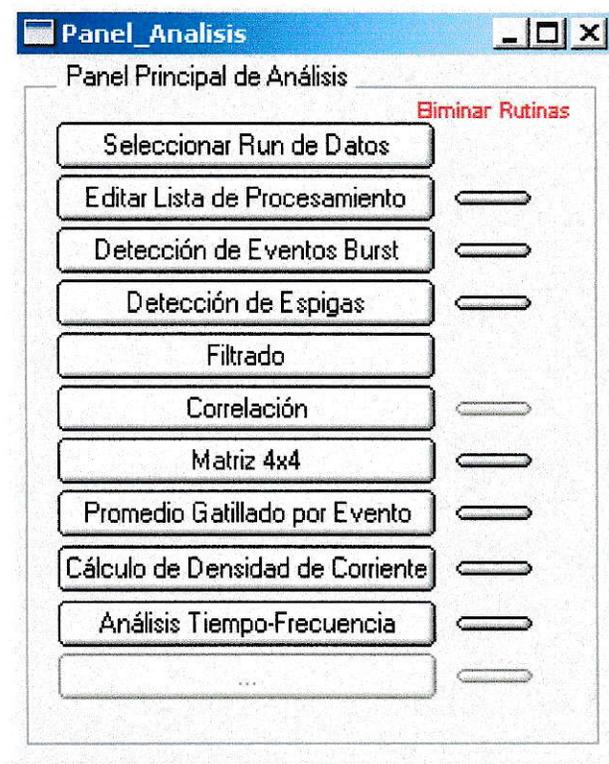


Figura 5.6: Panel de Control de Análisis.

Como descrito en la sección 4.1.4, los datos adquiridos simultáneamente dentro de un experimento son almacenados en un mismo directorio "Run". Este concepto se aplica tanto a los datos almacenados en disco duro como también al ordenamiento de los datos dentro de un experimento. El primer paso de un análisis es establecer cuál es el set de datos a procesar, esto lo hacemos seleccionando el Run a analizar.

Para la selección de Run de Datos se ha desarrollado un panel de selección que facilita y flexibiliza esta selección. Las rutinas de Detección de Espigas y Matriz\_4×4, fueron desarrolladas previo al panel de selección de Run de Datos, tales rutinas incluyen su propio selector, menos flexible pero igualmente funcional.

Para aquellas rutinas sin selector de Run, haga clic en el primer botón del panel de control de análisis, esto le dará acceso a la siguiente secuencia de ventanas.

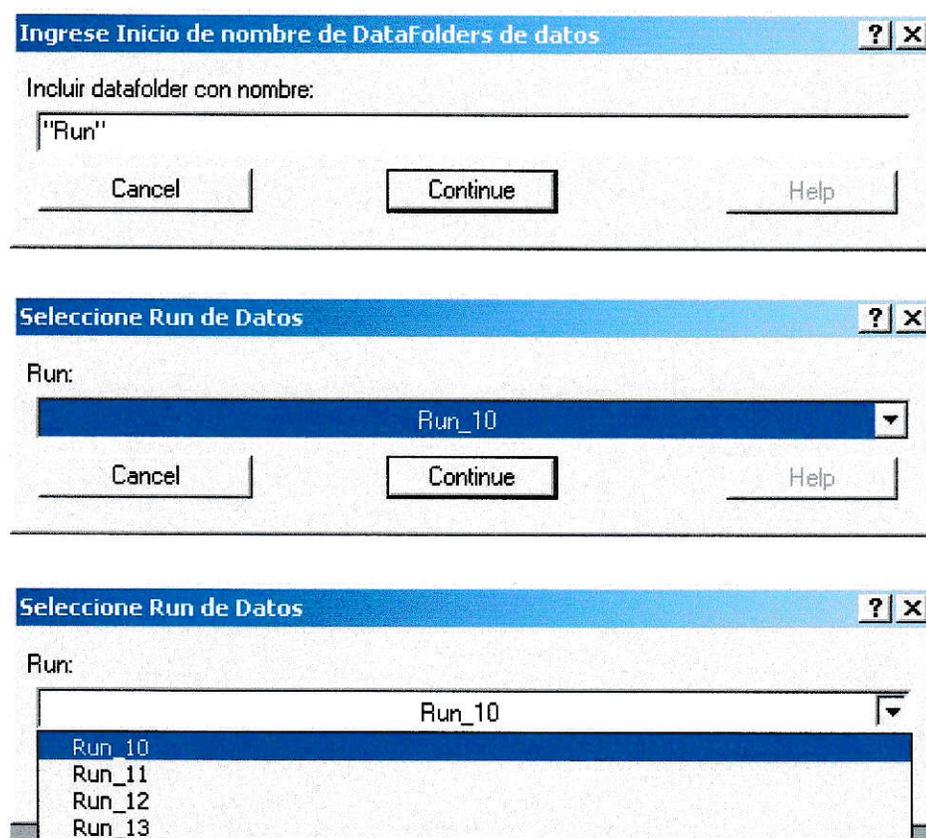


Figura 5.7: Secuencia de ventanas de selección de Run de Datos. a) ingresar las primeras letras de los nombres de directorios de datos a incluir en lista de selección, ‘‘Run’’ si corresponde a un experimento estándar, haga **ENTER** para confirmar; b) seleccionar el Run de la lista generada; c) **CONTINUE** para confirmar, **CANCEL** para cancelar la selección.

Una vez seleccionado el Directorio Run el paso que sigue es decidir el tipo de análisis que se desea realizar.

## 5.4.2. Lista de Procesamiento

Se ha implementado una rutina especial denominada GENERADOR DE LISTA DE PROCESAMIENTO, su función consiste en generar una lista de procesamiento, la cual podría ser utilizada por algunas de las rutinas numéricas para repetir un mismo procesamiento en todos los elementos de la lista. Esta habilidad es una de las características centrales de AAPS.

Para editar la lista de procesamiento haga clic en el segundo botón, Editar Lista de Procesamiento, del Panel de Control de Análisis. Esto le dará acceso al panel de edición de lista mostrado en la figura 5.8.

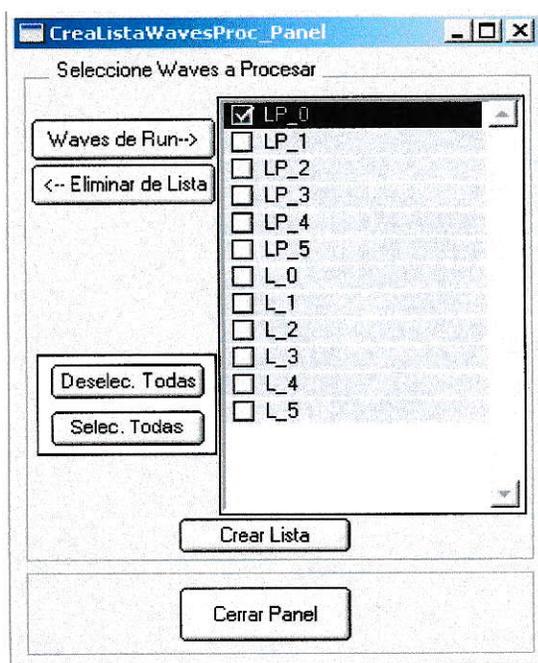


Figura 5.8: Panel de Edición de Lista de Procesamiento.

Actualice las ondas de datos (*waves*) del Directorio de Datos seleccionado haciendo clic en el botón “Waves de Run”. Seleccione la(s) onda(s) a procesar mediante un clic en la casilla de verificación correspondiente. Para crear esta nueva lista haga

clic en el botón “Crear Lista” y cierre el panel con el botón “Cerrar Panel”.

A continuación, mostramos el procesamiento de datos reales usando cada una de las herramientas de análisis incluidas en el sistema.

### 5.4.3. Filtros Digitales

Como descrito en la sección 4.1.5, hemos desarrollado dos filtros digitales, un Filtro Gaussiano y un Filtro *DWT*. Ambos filtros fueron implementados dentro del contexto de otras rutinas de procesamiento, con frecuencia de corte no configurable por el usuario. El filtro gaussiano, utilizado por la rutina de estudio Matriz\_4 × 4, presenta dos opciones de filtro, pasa alta y pasa baja, ambos con frecuencia de corte fija en 400 Hz. El filtro *DWT*, utilizado para obtener la envolvente en la rutina de detección de eventos *Burst*, selecciona las escalas que contienen los siguientes rangos de frecuencias:

- Pasa Baja : 0.6 – 156 Hz
- Pasa Alta : 625 – 2500 Hz

Por las características propias de la *DWT* la frecuencia de muestreo modifica estos rangos, lo importante es que con las frecuencias de muestreo usadas en el laboratorio (12.500 Hz y 20.000 Hz) las frecuencias señaladas son incluidas.

Además, para el caso del Filtro Gaussiano, se implementó un panel adicional que permite configurar la frecuencia de corte y la amplitud de corte de este filtro. La figura 5.9 muestra este panel de filtro gaussiano.

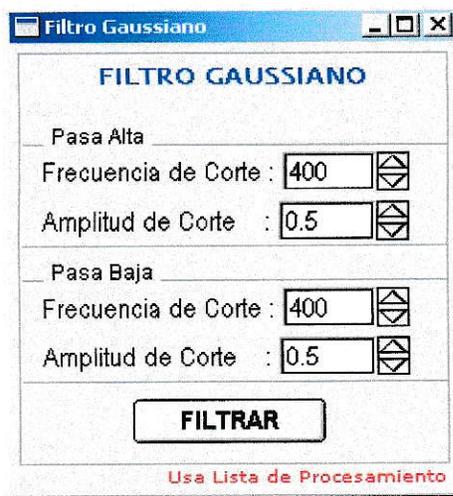


Figura 5.9: Panel de Configuración del Filtro Gaussiano.

Esta rutina utiliza lista de procesamiento. Una vez definida la lista de procesamiento, especifique la frecuencia y amplitud de corte para ambos filtros, pasa baja y pasa alta. Para efectuar el filtrado haga clic en el botón "FILTRAR". Esta rutina crea ondas adicionales que contienen el resultado del filtrado, los nombres por defecto son el mismo nombre de la onda original más la terminación "*slow*", para ondas lentas, y "*fast*" para ondas rápidas. Esta terminación podría resultar importante para utilizar estas mismas ondas filtradas en otras rutinas de procesamiento.

### 5.4.4. Búsqueda y Clasificación de Eventos

#### Eventos Espiga

Haga clic en el botón “Detección de Espigas”. El panel de control de detección de espigas (figura 5.10) incluye un control independiente de selección del Run de datos. Para seleccionar el Run primero debe Actualizar Directorios Locales con el botón correspondiente, luego seleccionar el Run en la lista del combo *Raw Data*.

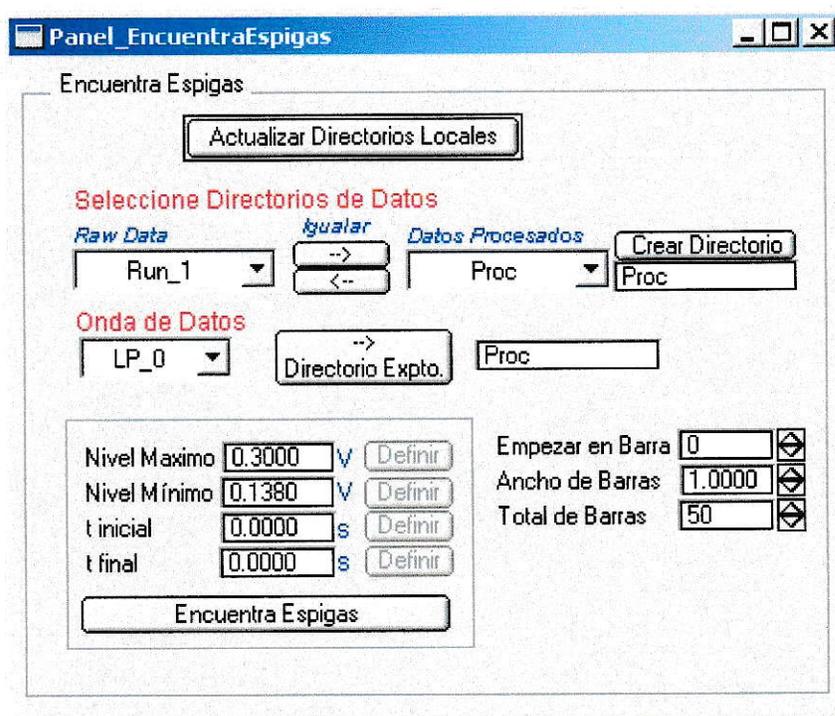


Figura 5.10: Panel de Detección de Espigas.

Seleccione la onda de datos, esto activará el gráfico de niveles (figura 5.11). Este gráfico contiene la señal seleccionada junto a los niveles máximo y mínimo de detección (líneas azules). Entre estos niveles de detección inicialmente dispuestos en los extremos superior e inferior del gráfico, se buscarán las espigas.

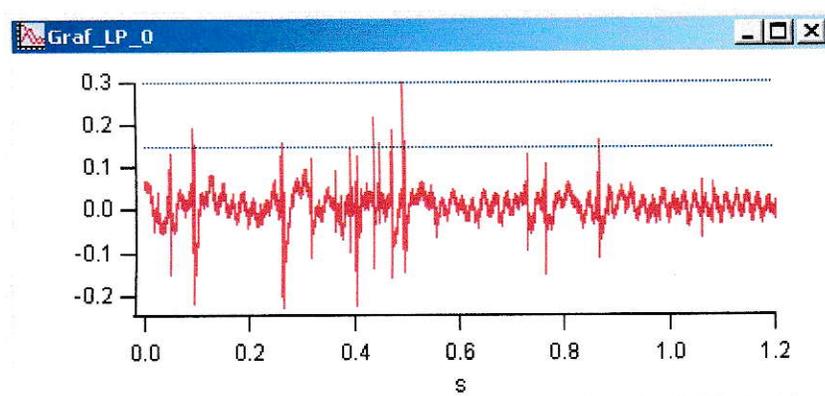


Figura 5.11: Gráfico de visualización de niveles de detección de espigas.

Edite los niveles máximo y mínimo, verifique el cambio en la ubicación de las líneas azules del gráfico de niveles. Puede realizar una búsqueda en una ventana temporal acotada, para eso ingrese los tiempos inicial y final de su ventana de búsqueda. Si desea buscar en toda la señal, defina ambos tiempos como iguales a cero.

Para iniciar la detección de espigas haga clic en el botón “Encuentra Espigas”. Una vez finalizada la búsqueda se entregan dos gráficos. El primero, figura 5.12, incluye la señal en color rojo junto a las espigas detectadas señaladas con puntos negros.

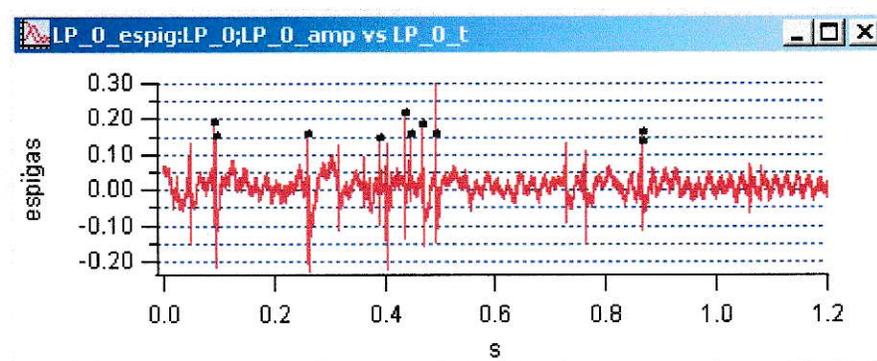


Figura 5.12: Espigas detectadas.

El segundo gráfico corresponde al Histograma de Intervalos de Tiempo entre

Espigas mostrado en figura 5.13

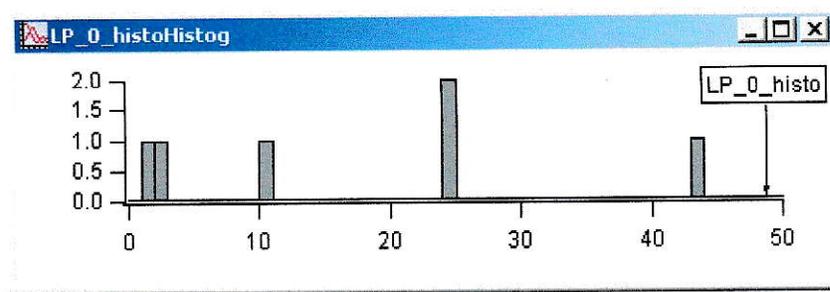


Figura 5.13: Histograma de Intervalos de Tiempo entre Espigas.

### Eventos Tipo Burst

La rutina de detección automática de *Bursts* usando *DWT* incluye dos pasos principales: generación de envolvente y detección de máximos, ambos descritos en la sección 4.1.5.

Esta rutina usa “Lista de Procesamiento”, lo que significa que únicamente se buscarán eventos en los datos señalados en la lista. Edite la lista de procesamiento y luego haga clic en el botón “Detección de Eventos Burst” del Panel de Control de Análisis.

Una vez finalizada, la rutina devuelve cinco series de datos resultantes del procesamiento, el nombre de cada serie comienza con el nombre de la señal original más una terminación que identifica su contenido:

- . componentes rápidos de la señal original, terminación: “\*\_DWTfast\_t”
- . envolvente, terminación: “\*\_env”
- . serie de amplitudes de cada evento detectado, terminación: “\*\_env\_amp”
- . serie de tiempos de ocurrencia de cada evento detectado, terminación: “\*\_env\_t”,
- . serie con los Intervalos de Tiempo entre *Bursts*, terminación: “\*\_env\_histo”

Además, para cada onda de datos procesada, se generan dos gráficos. El primero, ver figura 5.14, muestra los componentes rápidos de la señal original en color rojo, la envolvente en azul y los eventos detectados (“\*\_env\_amp” versus “\*\_env\_t”) en negro.

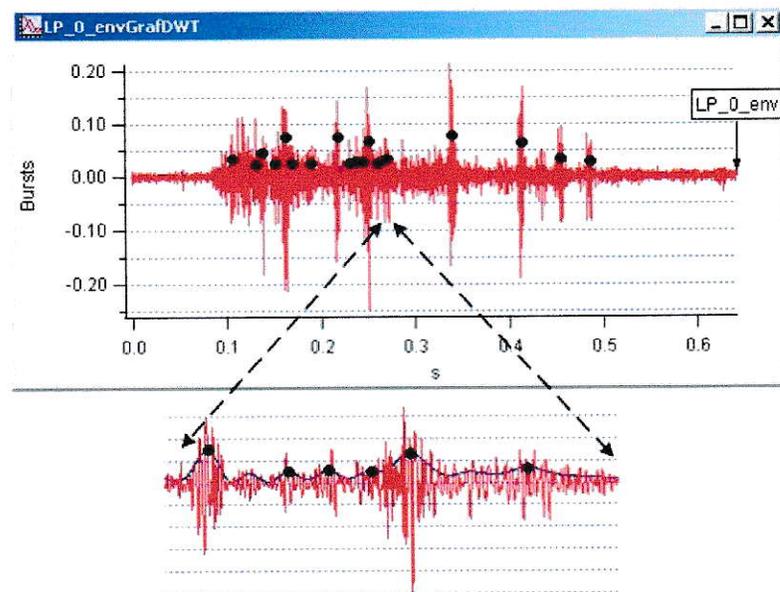


Figura 5.14: Visualización de los eventos *Burst* detectados. El gráfico muestra los componentes rápidos, la envolvente calculada y los *bursts* detectados, graficados como un marcador estilo punto.

El segundo gráfico corresponde al Histograma de Intervalos de Tiempo entre *Bursts* (*Inter-Burst Interval*), figura 5.15.

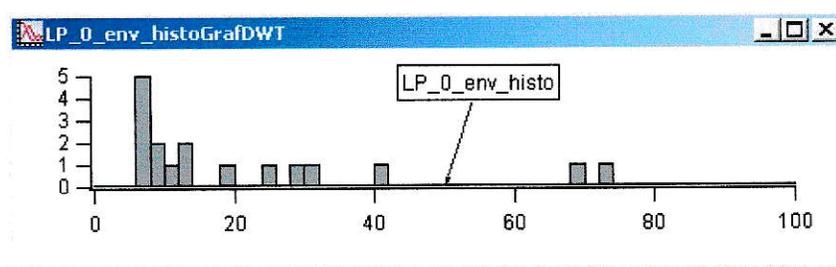


Figura 5.15: Histograma de Intervalos de Tiempo entre *Bursts*.

## Edición de eventos detectados

Esta rutina incluye además la posibilidad de insertar o eliminar eventos usando funciones de la interfaz gráfica (figura 5.16).

### 1- Eliminar eventos detectados

La figura 5.16 muestra el acceso a la función de eliminación de evento detectado, *DWT\_EliminarMaxEnvolvente*. La función elimina el máximo (marcador negro, estilo punto) que ha sido previamente seleccionado con el cursor A ( $\oplus$ ).

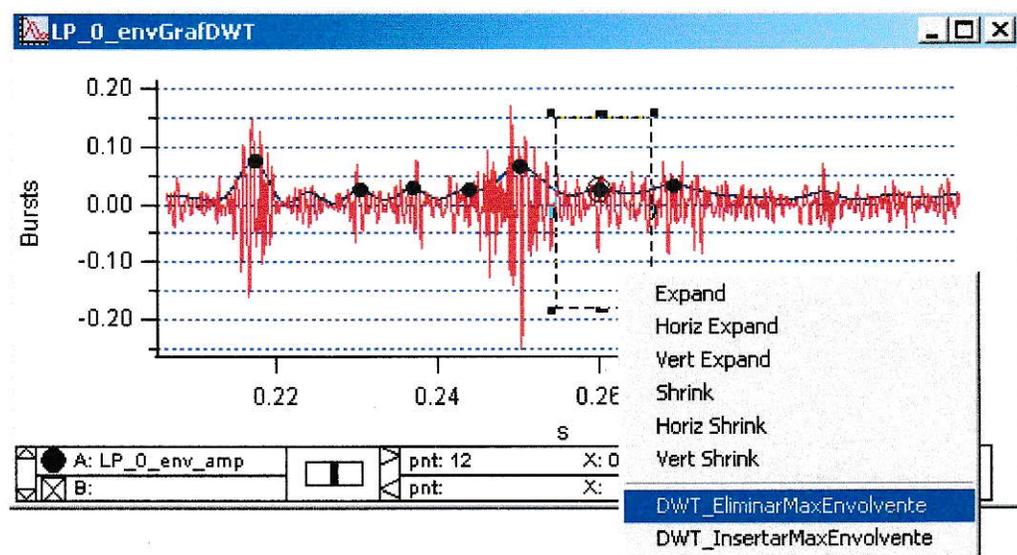


Figura 5.16: Edición de los eventos detectados. Se muestra el acceso al menú contextual que contiene la función que elimina el evento seleccionado por el cursor A ( $\oplus$ ).

### 2- Incluir eventos no detectados.

La rutina encargada de incluir eventos es la *DWT\_InsertarMaxEnvolvente*, accedida en el mismo menú contextual mostrado en la figura 5.16. Para insertar un evento lo primero es seleccionar el *Burst* de interés usando el puntero del ratón. Luego se llama la rutina para buscar el máximo de la envolvente en la ventana de tiempo seleccionada.

Ambas rutinas, *DWT\_EliminaMaxEnvolvente* y *DWT\_InsertarMaxEnvolvente*, actualizan automáticamente el Histograma de Intervalos de Tiempo entre *Bursts*.

#### 5.4.5. Histogramas *Inter-Spike Interval* e *Inter-Burst Interval*

Ambos histogramas son generados durante procesos de detección de eventos, Espigas (figura 5.13) y *Bursts* (figura 5.15).

#### 5.4.6. Correlación Temporal

Haga clic en el botón “Correlación” del Panel Central de Análisis. Esto genera una ventana temporal que permite seleccionar el tipo de señales entre las cuales se hará la correlación: **Trenes de Eventos, Señales Discretas.**

##### Correlación entre Trenes de Eventos

Los trenes de eventos son las ondas resultantes de las rutinas de detección de eventos, espigas o *bursts*, previamente descritas.

El panel principal de esta operación, mostrado en figura 5.17, presenta tres secciones:

- . sección de configuración de Histograma y de Nombre de Datos permitidos (a la izquierda),
- . sección de selección y visualización de Trenes de Datos a correlacionar (al centro)
- . sección de visualización del Histograma resultante (a la derecha)

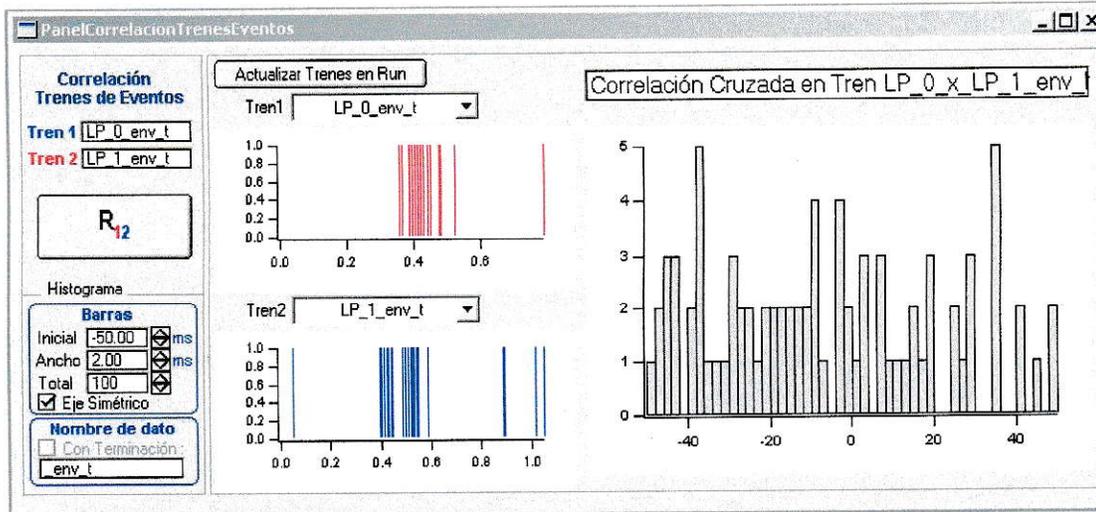


Figura 5.17: Panel de Correlación Entre Trenes de Eventos.

En la sección de Configuración de Histograma se define el ancho de cada barra, el total de barras, la ubicación de la barra inicial y la simetría (o no simetría) con respecto al cero. En la configuración de Nombre de Dato es posible ingresar la terminación del nombre de trenes de eventos permitidos (por defecto “\_env\_t”).

Luego de configurar el histograma y rellenar Nombre de Dato, haga clic en botón “Actualizar Trenes en Run”, esto actualizará la lista de ambos combos, **Tren 1** y **Tren 2**, con los trenes de eventos encontrados en el Run de Datos. Usando los combos de selección defina **Tren 1** y luego **Tren 2**. Haga clic en botón  $R_{12}$ . El histograma resultante se mostrará en el gráfico dispuesto a la izquierda del panel. Adicionalmente se genera un gráfico que contiene una copia del histograma resultante.

## Correlación entre señales analógicas discretas

Si el tipo de señal seleccionada corresponde a **Señales Discretas**, se genera el Panel de Correlación de Señales Discretas, mostrado en figura 5.18.

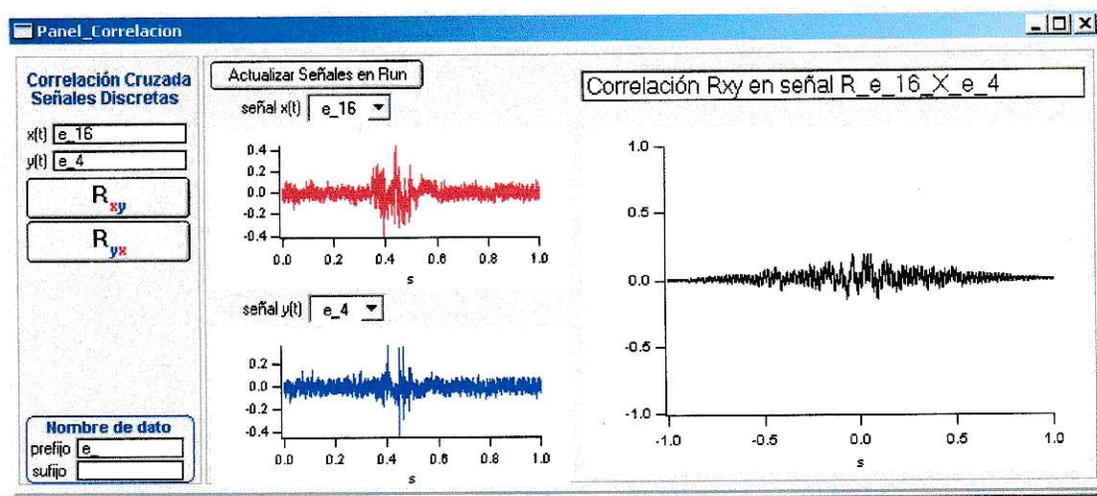


Figura 5.18: Panel de Correlación de Señales Discretas.

En este panel se encuentran todos los elementos necesarios para realizar una correlación cruzada de este tipo de señales. A la izquierda del panel se encuentran los campos  $x(t)$  e  $y(t)$ , los botones de correlación cruzada  $R_{xy}$  e  $R_{yx}$ , y los campos de ingreso de inicio y término de los nombres de ondas permitidas. Al centro se encuentra el botón de actualización de las ondas del Run de Datos y las listas de selección de las señales  $x(t)$  e  $y(t)$  junto a sus respectivos gráficos. A la derecha se dispone el gráfico de la correlación cruzada resultante.

Para realizar la correlación cruzada entre dos señales discretas:

- . Seleccione el Run de Datos usando el control disponible en el panel central de análisis,
- . Ingrese inicio y término de las ondas de datos permitidas,

- . Actualice las listas de ondas de datos disponibles en Run,
- . Seleccione señales  $x(t)$  e  $y(t)$ ,
- . Haga clic en el botón  $\mathbf{R}_{x y}$  para calcular la correlación cruzada entre  $x(t)$  e  $y(t)$ , considerando  $x(t)$  como señal de referencia.

Al finalizar el cálculo se actualiza el gráfico de correlación presente en el panel, además se genera un gráfico de correlación individual como el mostrado en las figuras 5.19 y 5.20, el cual incluye la señal de correlación (en color negro) junto a las señales correlacionadas.

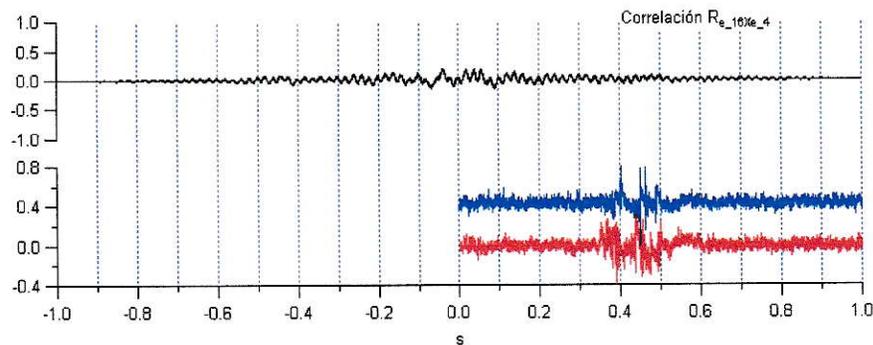


Figura 5.19: Correlación cruzada entre señales  $e_{16}$  y  $e_4$ , con  $e_{16}$  como señal de referencia.

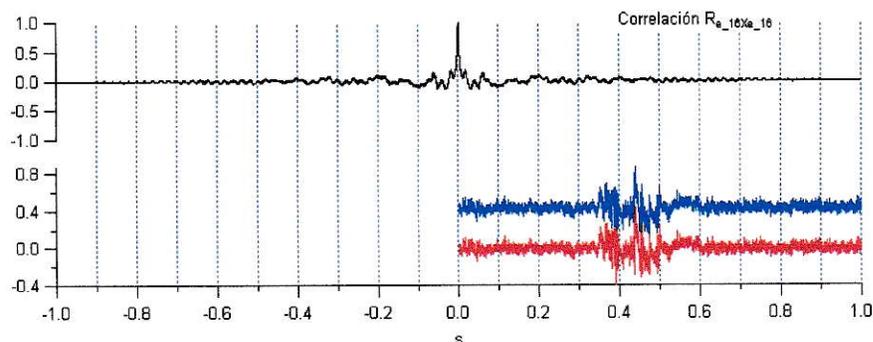


Figura 5.20: Autocorrelación de señal  $e_{16}$ .

### 5.4.7. Promedio Gatillado Por Evento (STA)

El Promedio Gatillado por Evento corresponde a una correlación entre una señal discreta y tren de eventos (ver página 41). Por su particular algoritmo lo presentamos como una sección independiente. El panel de esta rutina se muestra en la figura 5.21.

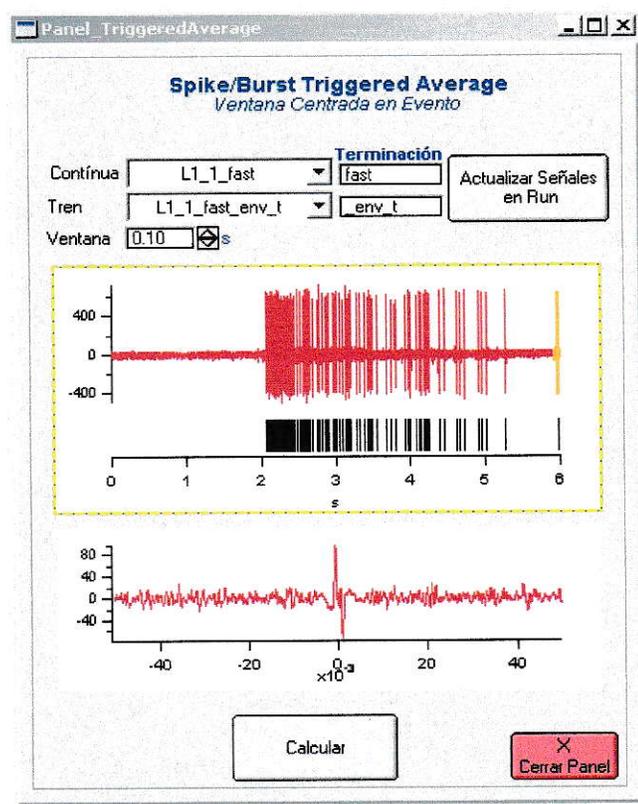


Figura 5.21: Panel de Promedio Gatillado Por Evento. Presenta dos gráficos, el primero (arriba) muestra las señales a correlacionar, el segundo incluye la señal promedio resultante.

En la parte superior se disponen:

- . los controles para configuración de la terminación de nombres permitidos,
- . los combos de selección de la onda discreta y el tren de eventos,
- . el botón de actualización de listado de señales presentes en el Run de Datos,
- . el control de configuración del ancho de ventana de promediación.

Al centro encontramos el gráfico de datos, correspondiente a la señal discreta seleccionada (arriba, color rojo) y el tren de eventos seleccionado (abajo, color negro). El gráfico ubicado en la porción inferior del panel corresponde al gráfico de promedio calculado.

Para construir el *Spike Triggered Average* de una señal de espigas con una señal lenta (*LFP*), debe seleccionar la señal lenta en el combo de selección “Continua”, y la señal de espigas en el combo de selección “Tren”. Luego definir el ancho de ventana de promediación, y hacer clic en el botón “Calcular”. El gráfico de promedios es actualizado una vez finalizada la rutina.

#### 5.4.8. Correlación Cruzada Espacial

Hay varias maneras de definir correlaciones espaciales. La definición más obvia se aplica para sistemas bi-dimensionales de electrodos (Matrices de Electrodos). En esos sistemas la correlación espacial consiste en poder estudiar las correlaciones entre cualquier par de electrodos. En esta tesis ese estudio es perfectamente posible ya que podemos analizar estas situaciones espaciales (ver figura 4.22).

Otra técnica implementada es la de construir *Movies* o películas que reflejan la actividad en función del espacio, y no del tiempo. La implementación de esta opción se muestra en la figura 5.26.

### 5.4.9. Análisis Visual de Comportamiento Espacial

En esta sección se presenta un hito importante en esta tesis. Aquí se dan las herramientas primarias para analizar experimentos de multicanales en dos dimensiones (matriz de 16 canales).

La figura 5.22 muestra el panel central de análisis para experimentos del tipo Matriz\_4 × 4.

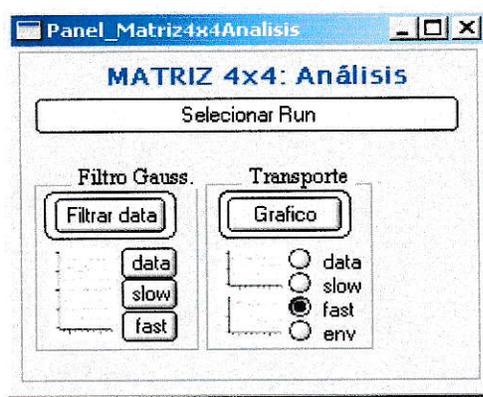


Figura 5.22: Panel central de análisis de experimentos tipo Matriz\_4 × 4.

El panel incluye un control independiente de selección de Run de Datos, un control de aplicación de filtros digitales y varios controles de visualización de datos.

El control de Selección de Run es el botón “**Seleccionar Run**”. Éste da acceso a una lista de los directorios Run presentes en la raíz del experimento (directorio root:).

El control de filtros digitales está dado por el botón “**Filtrar data**”. Efectúa un filtrado digital de los datos usando dos filtros gaussianos, un pasa baja y un pasa alta. Se incluyen 3 controles de visualización, botones “**data**”, “**slow**” y “**fast**”, cada uno

de los cuales genera un gráfico que incluye los 16 canales de datos “crudos”, ondas lentas y ondas rápidas, respectivamente. La figura 5.23 muestra dos de los gráficos generados, datos “crudos” y ondas lentas.

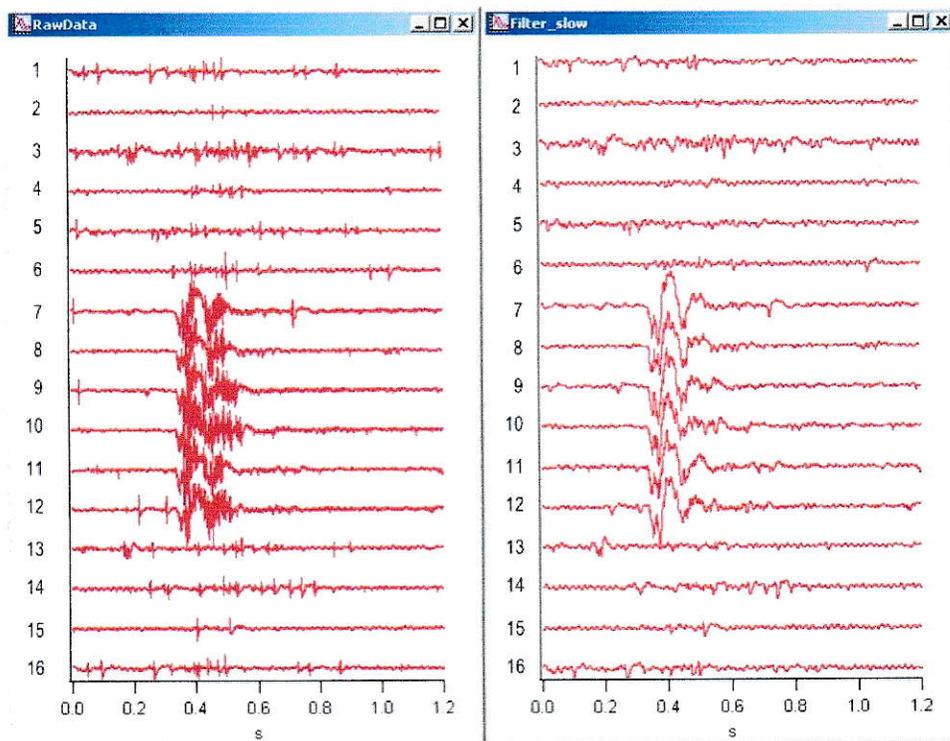


Figura 5.23: Gráficos de 16 canales de datos, generados por las rutinas de visualización para Datos “Crudos” (*RawData*) y Ondas Lentas (*Filter\_Slow*).

Además de los controles de visualización ya mencionados, tenemos el botón “Grafico”, usado para activar el Panel Transporte (figura 5.24), junto a los 4 controles de selección, *data*, *slow*, *fast* y *env*, que definen el tipo de datos que se visualizan en el Panel Transporte.

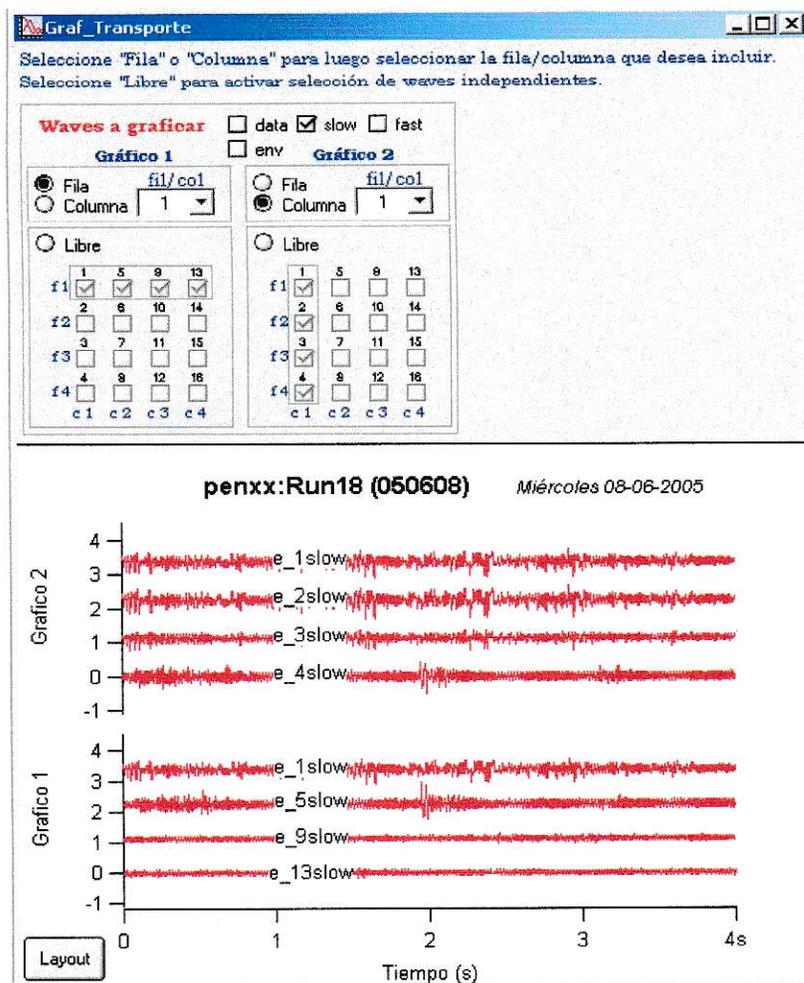


Figura 5.24: Panel Transporte.

El Panel Transporte incluye dos esquemas de electrodos bi-dimensional, dos gráficos y varios controles de selecci3n. Cada esquema controla los datos mostrados en sus respectivos gráficos (Gráfico 1 y Gráfico 2). Ambos esquemas incluyen tres modalidades de selecci3n, las dos primeras son las selecciones rápidas de fila o de columna, y la tercera modalidad es la de libre selecci3n. En este último caso es posible seleccionar, por ejemplo, los 4 sitios de registro dispuestos en la diagonal de la matriz.

Finalmente, cabe mencionar que el Panel Transporte incluye además los mismos controles de selección de tipo de datos a estudiar (*data*, *slow*, *fast* y *env*) presentes en el panel central de análisis de experimentos tipo Matriz\_4 × 4 (figura 5.22).

### Generación de *Movie*

En los gráficos 1 y 2 del Panel Transporte se incluyó la rutina de generación de *Movie* como parte del menú contextual. El menú contextual es accedido luego de realizar una selección en la ventana de cualquiera de los gráficos. La figura 5.25 muestra el acceso a la rutina de generación de *Movie*.

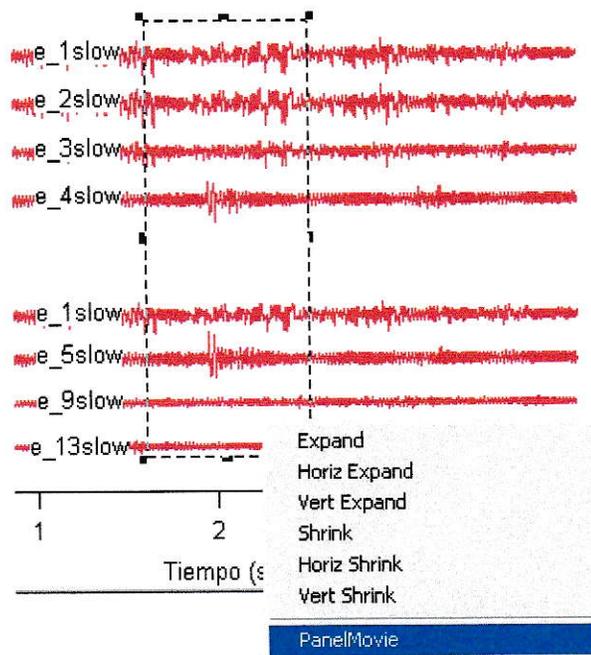


Figura 5.25: Menú contextual que da acceso al panel de visualización *MovieGraf*, *PanelMovie*.

El menú *PanelMovie* genera el panel de visualización mostrado en la figura 5.26. Esta rutina de visualización recupera la siguiente información relacionada con los datos desplegados:

- . tiempos inicial y final del intervalo seleccionado
- . frecuencia de muestreo
- . voltajes mínimo y máximo observados en el intervalo seleccionado

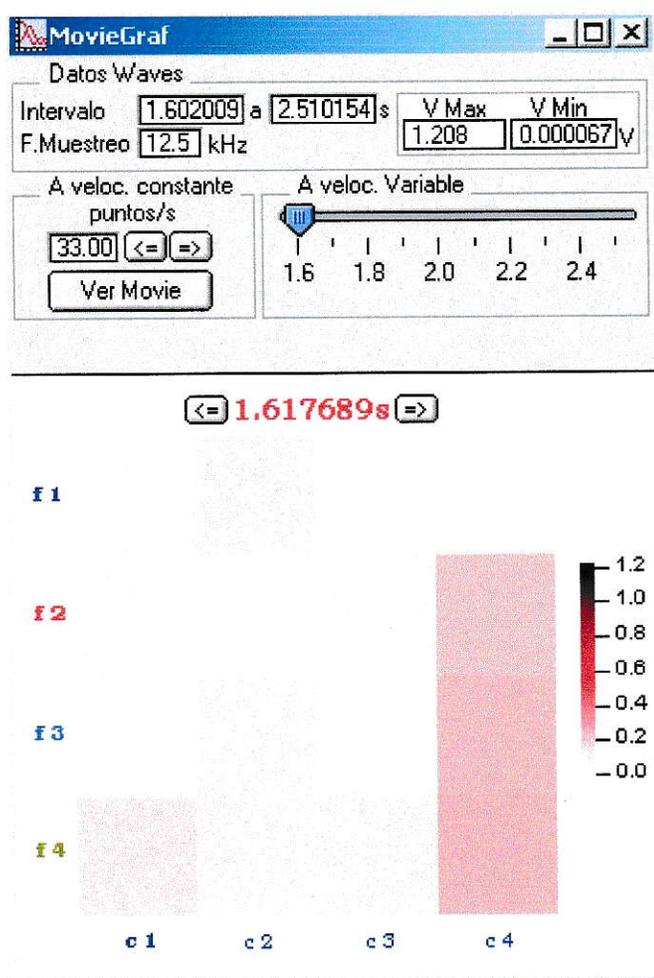


Figura 5.26: Panel MovieGraf, para visualización de evolución temporal de los datos, en intensidad de colores.

El panel MovieGraf muestra la información relacionada con los datos seleccionados, además incluye 3 opciones de control de la velocidad de visualización mostradas en la figura 5.27:

- a) velocidad constante
- b) velocidad variable
- c) punto a punto

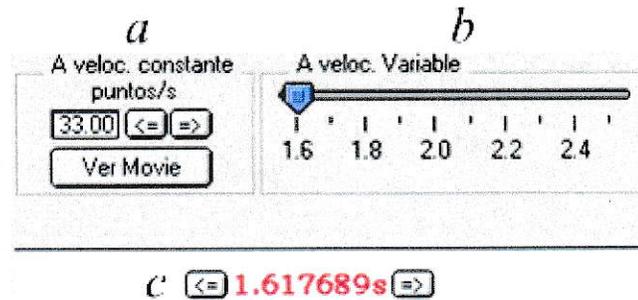


Figura 5.27: Opciones de control de velocidad de despliegue de datos en MovieGraf.

El primero, figura 5.27a, permite definir una velocidad constante de despliegue de datos en puntos por segundo, y controlar el inicio y término de la visualización con el botón “Ver Movie”.

Los otros dos controles de velocidad son controles de avance manual. La opción de velocidad variable, figura 5.27b, permite visualizar los datos según la velocidad del desplazamiento (arrastre).

La opción punto a punto, figura 5.27c, incluye un botón de avance y uno de retroceso, mediante los cuales el usuario puede ver la intensidad de la señal en los 16 puntos de registro simultáneamente, avanzando de un punto al siguiente (o anterior).

### 5.4.10. Análisis Espectral y de Tiempo-Frecuencia.

Las funciones Tiempo-Frecuencia implementadas son sólo la “punta del iceberg” de una nueva manera de ver las señales reales, que usualmente no son estacionarias. Para ello hemos usado como punto de partida la idea de filtrar una señal mediante la Transformada de Wavelet Discreta, procedimiento descrito en la sección 4.1.5 (página 31). Por ello es que las rutinas, lo que hacen, es sacar de una señal una escala, un subconjunto de ella o varias escalas, de wavelets. Consideramos que esta aplicación da la tendencia acerca de cómo funcionan las técnicas Tiempo-Frecuencia.

La figura 5.28 muestra el Panel de Análisis Tiempo-Frecuencia.

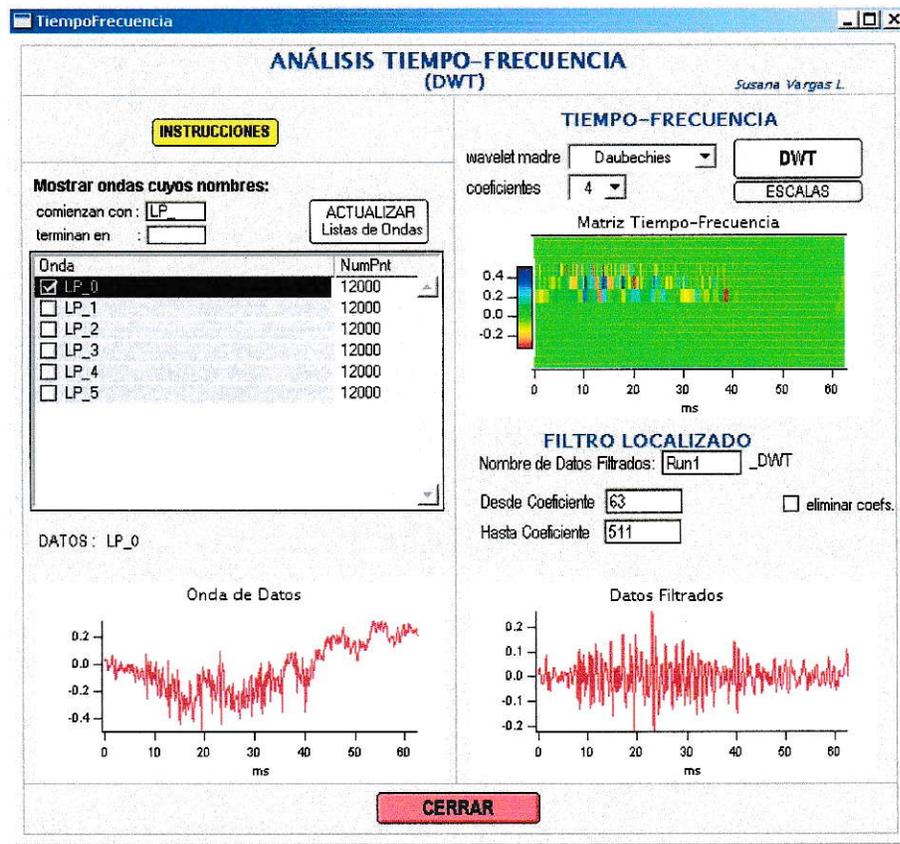


Figura 5.28: Panel de Análisis Tiempo-Frecuencia.

Arriba y a la izquierda del panel, se muestran las ondas a las cuales es posible hacer un análisis tiempo-frecuencia. Abajo se muestra el perfil temporal de la onda seleccionada.

A la derecha del panel se muestran los controles que participan en la configuración y ejecución del análisis, junto a la matriz Tiempo-Frecuencia y el perfil temporal de los Datos Filtrados.

Los controles de configuración del análisis incluyen:

- . control `wavelet madre`, para configuración de wavelet madre. Este control incluye las opciones Daubechies, Haar, Battle-Lemarie, Burt-Adelson, Coifman, Pseudo-Coifman y Splines.
- . control `coeficientes`, para definir el número de coeficientes. La presencia de este control y sus opciones incluidas dependen de la wavelet madre seleccionada.
- . campo de ingreso `Nombre de Datos Filtrados`, para el ingreso del nombre base de la onda que almacenará los datos "filtrados".
- . campos `Desde Coeficiente` y `Hasta Coeficiente`, configuran el rango de coeficientes "Inicial - Final".
- . la casilla de verificación `eliminar coefs.`, define si la señal filtrada estará dada por el rango de coeficientes, o si corresponderá a la señal original menos el rango de coeficientes señalado.

El control que da inicio al cálculo es el botón "**DWT**".

En el gráfico del perfil temporal de los Datos Filtrados tenemos la señal original reconstituida. Como ya se mencionó, el contenido de esta señal depende de la selección de la casilla de verificación “**eliminar coefs.**”. Si la casilla está seleccionada la señal de datos filtrados contendrá el rango de coeficientes señalado. En el caso contrario lo que se devuelve es la señal original reconstituida, pero sin el rango de coeficientes de wavelets.

### 5.4.11. Cálculo de Densidad de Corriente

Para entender la implementación de las rutinas de *CSD*, es necesario tener presente el análisis matemático mostrado en la sección 4.1.5 (página 47). La figura 5.29 muestra el Panel de Cálculo de Densidad de Corriente.

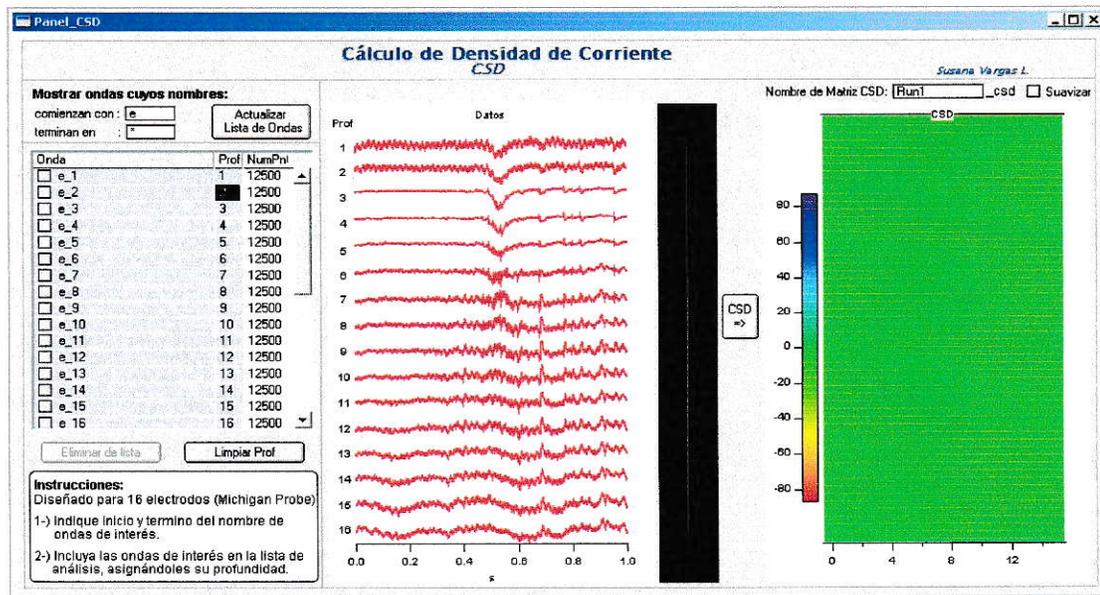


Figura 5.29: Panel de Cálculo de Densidad de Corriente. A la izquierda se incluyen controles de configuración de datos, y a la derecha se disponen las ventanas de visualización de datos a procesar (*Datos*), junto a la matriz (*CSD*) que incluye los resultados del análisis en forma de matriz de colores.

A la izquierda del panel encontrará los controles de selección de datos, que incluyen los campos de ingreso del inicio y de la terminación de nombres de ondas de datos permitidas, y el botón de actualización de lista (arriba). Se incluye, además, una tabla que muestra la lista de los nombres y número de puntos de las ondas de datos del Run actual. Esta tabla sirve para definir las ondas a las cuales se les calculará el *CSD*.

A la derecha se encuentran los gráficos Datos y CSD. El gráfico Datos permite visualizar cada onda de datos incluida en el cálculo. El gráfico CSD permitirá visualizar el resultado del cálculo. Sobre el gráfico CSD encontrará la casilla de verificación **Suavizar**, la que ha sido diseñada para eliminar el ruido numérico introducido.

El usuario debe seleccionar el Run de datos. Luego llamar el panel “Cálculo de Densidad de Corriente” desde el Panel Central de Análisis.

Ingrese el inicio y el término de los nombres de ondas de datos permitidas. Actualice la lista de ondas del panel haciendo clic en el botón “Actualizar Lista de Ondas”. Esta actualización rescata además el número de puntos de cada onda de datos, lo que permitirá al usuario seleccionar únicamente ondas con igual número de puntos.

Para incluir cada una de las 16 ondas de datos, haga clic en la casilla correspondiente de la columna **Prof** e ingrese su profundidad (desde 1 a 16). Esto actualizará la señal del gráfico **Datos** en la profundidad especificada. Si desea que se realice un suavizado en los datos resultantes seleccione la casilla de verificación **Suavizar**.

El cálculo de la densidad de corriente se inicia haciendo clic en el botón “CSD”. Los resultados *CSD* se visualizan con una matriz de colores (figura 5.30), cuyo mapa de colores puede ser modificado por el usuario. Una vez finalizado el cálculo, la matriz es actualizada.

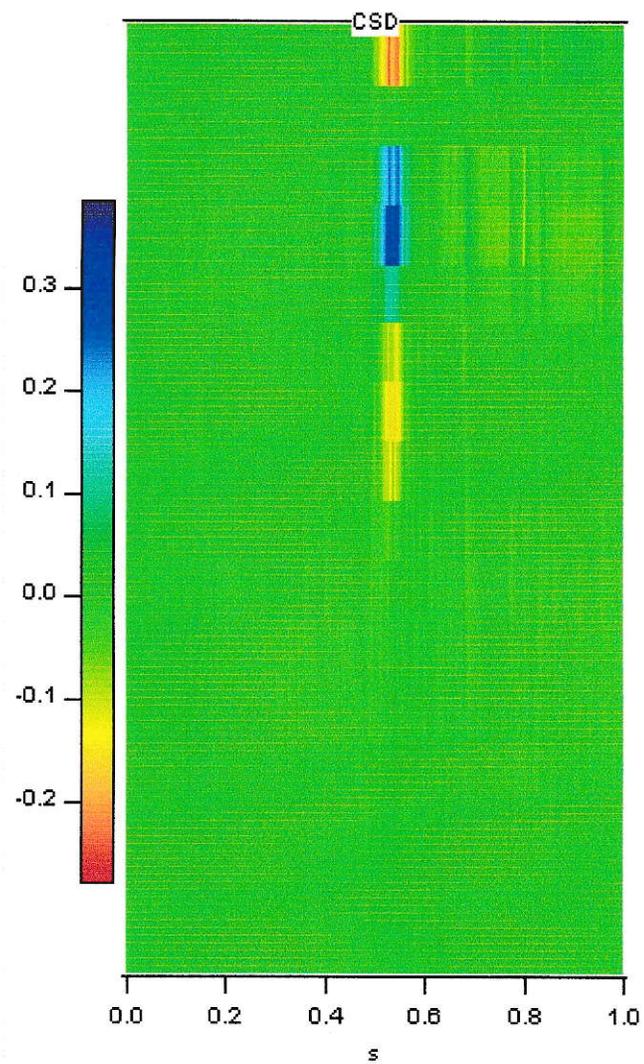


Figura 5.30: Matriz de datos *CSD*, en escala de colores.

# Capítulo 6

## Uso del Sistema AAPS

En este capítulo se muestra el procesamiento de señales reales usando *AAPS*. Para ello se ha seleccionado un experimento realizado con el electrodo bi-dimensional en el Tectum Óptico de Paloma.

En este experimento la matriz de electrodos (electrodo bi-dimensional) se encuentra espacialmente dispuesta en el tectum como muestra la figura 6.1, y a una profundidad de  $700 \mu\text{m}$ .

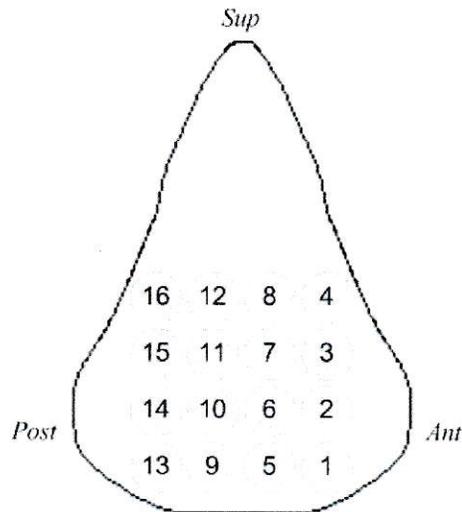


Figura 6.1: Esquema de la disposición espacial del electrodo bi-dimensional en el tectum óptico de paloma.

El estímulo visual es un *flash* de 20 ms de duración, disparado 300 milisegundos después del inicio del muestreo, y que pasa por el *locus* visual correspondiente al canal 16. Los apuntes del investigador señalan que hubo respuesta intensa en los canales 4, 8, 12, y 16, además, señala que la respuesta resultó débil en los canales 11 – 15.

Para mostrar las capacidades de AAPS mostraremos paso a paso los distintos análisis que se pueden hacer con estos datos dentro del Sistema AAPS.

La figura 6.2 muestra los datos “crudos” de la matriz de electrodos.

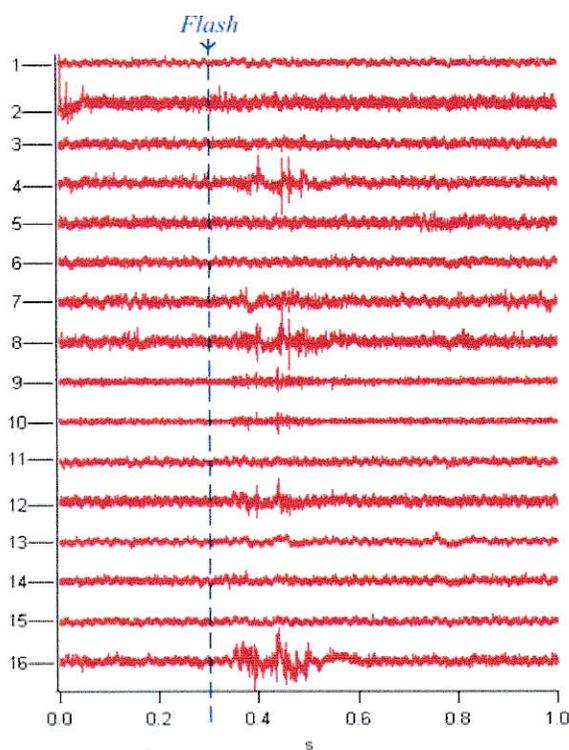


Figura 6.2: Datos “crudos”.

Obsérvese que algunos canales parecen no tener señal (ej. canal 11). Esto se debe a dos factores:

- a-) algunos sitios de registro de la matriz se desconectan,
- b-) la matriz, al penetrar en el tejido, lo deforma haciendo que los sitios de registro centrales no entren en contacto con el tejido.

El próximo paso es el filtrado de las señales, para separar los componentes de alta y baja frecuencia. Esto lo hacemos usando la herramienta de filtrado gaussiano disponible en el panel central de análisis Matriz\_4 × 4 (ver figura 5.22). La figura 6.3 muestra las señales filtradas obtenidas para cada canal de datos.

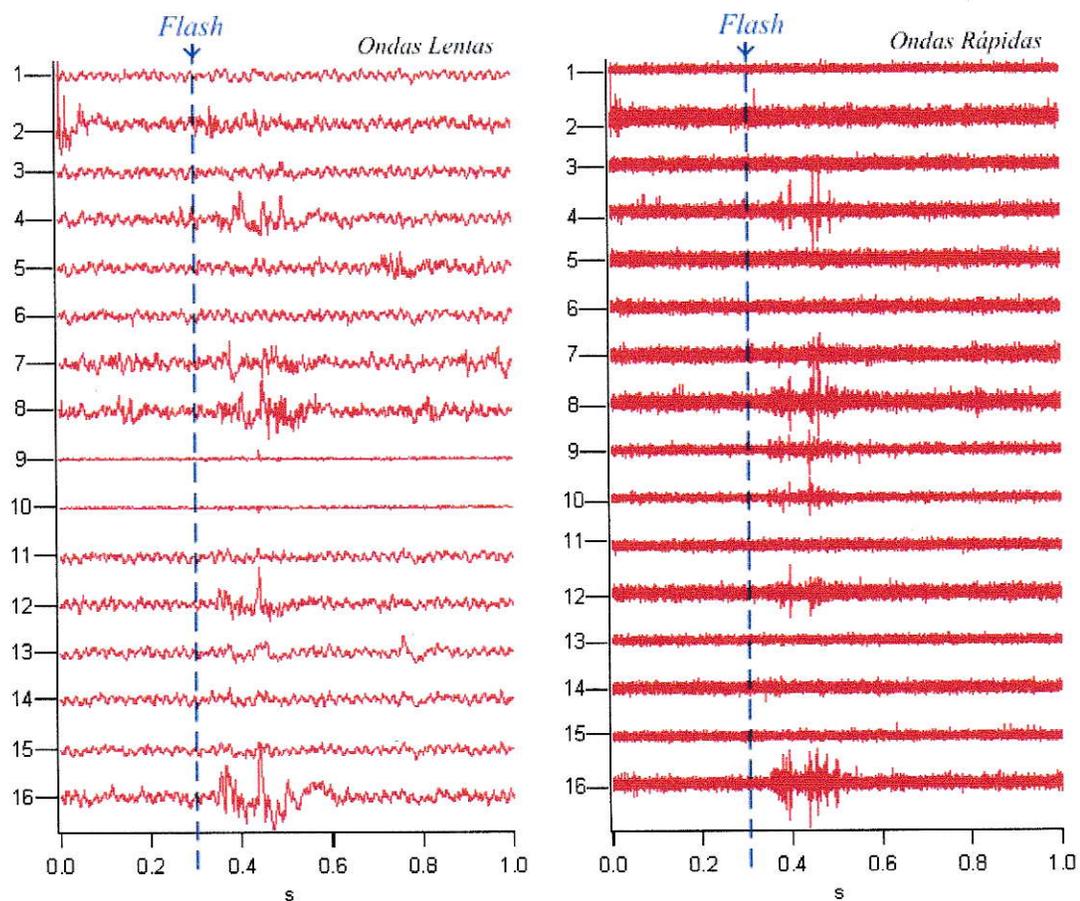


Figura 6.3: Datos filtrados.

La figura 6.4 corresponde a los datos “crudos” (datos) del canal 16 y sus respectivas componentes lentas y componentes rápidas, obtenidas por el filtrado gaussiano.

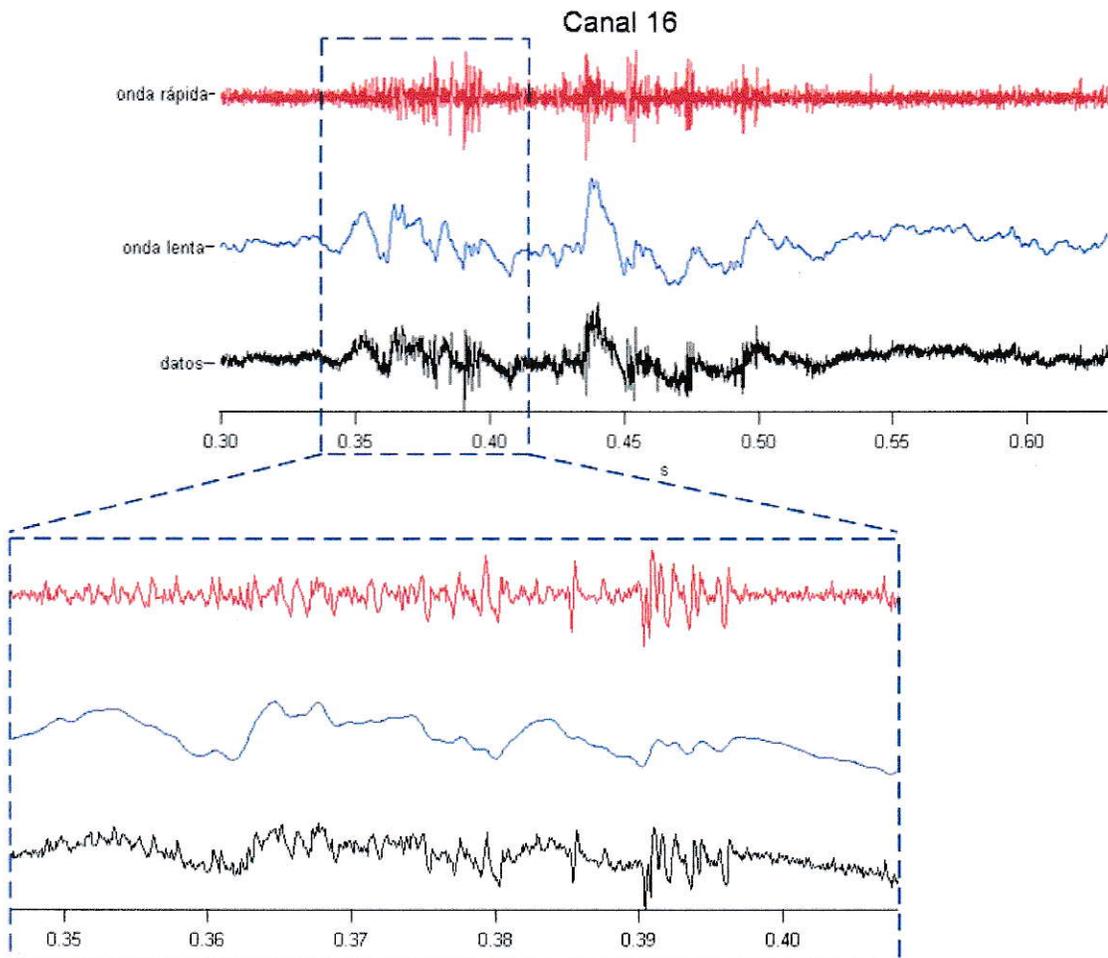


Figura 6.4: Datos “crudos” presentes en canal 16, junto a sus componentes lentas y rápidas.

Como se puede apreciar, la separación entre componentes rápidos y lentos es óptima.

Luego se detectan *bursts* (*VFO*) usando la herramienta *Detección de Eventos Burst* presente en el panel de control de análisis. Las figuras 6.5a y 6.5b muestran los eventos *burst* detectados y el histograma de intervalos de tiempo entre *bursts*,

respectivamente, obtenidos para los datos del canal 16.

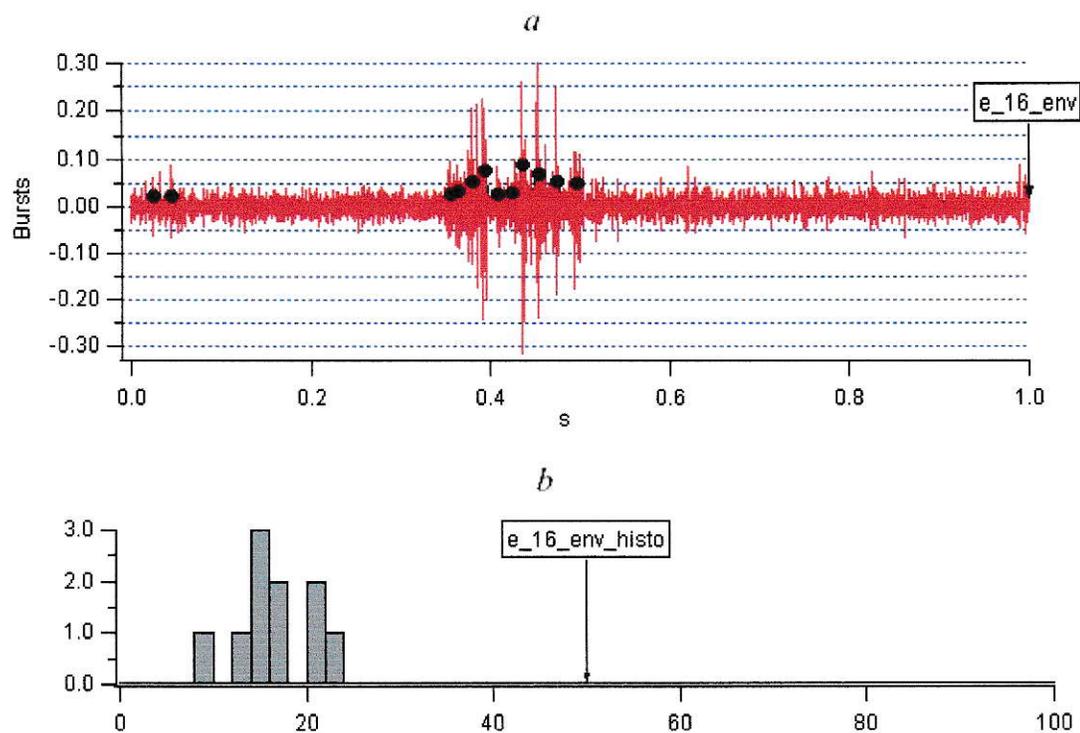


Figura 6.5: Eventos tipo *burst* detectados en datos de canal 16.

El próximo paso, dado que los *bursts* se propagan como onda, es ver su transporte. Para ello es necesario graficar las señales según un orden espacial que refleje su posición en el *tectum*, y no un simple orden numérico. Las herramientas de análisis visual de comportamiento espacial han sido especialmente diseñadas para este tipo de visualización.

La figura 6.6 muestra las ondas rápidas, de una fila y de una columna del esquema de la Matriz  $4 \times 4$  mostrado en figura 6.1.

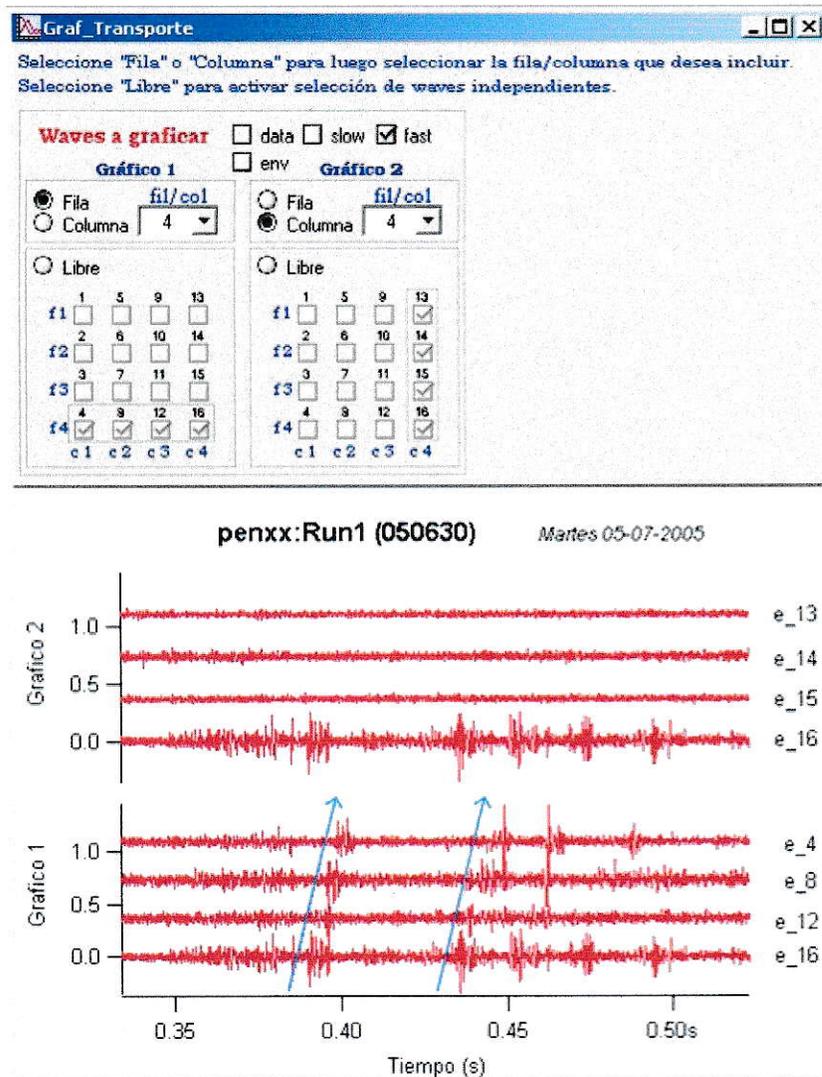


Figura 6.6:

Obsérvese cómo viajan las *VFO* ( $\nearrow$ ). Esto permite evaluar la velocidad de transporte:  $70 \mu\text{m}/\text{ms}$  ( $600 \mu\text{m}$  en  $9 \text{ms}$ ).

También es interesante notar como viajan los componentes lentos (figura 6.7).

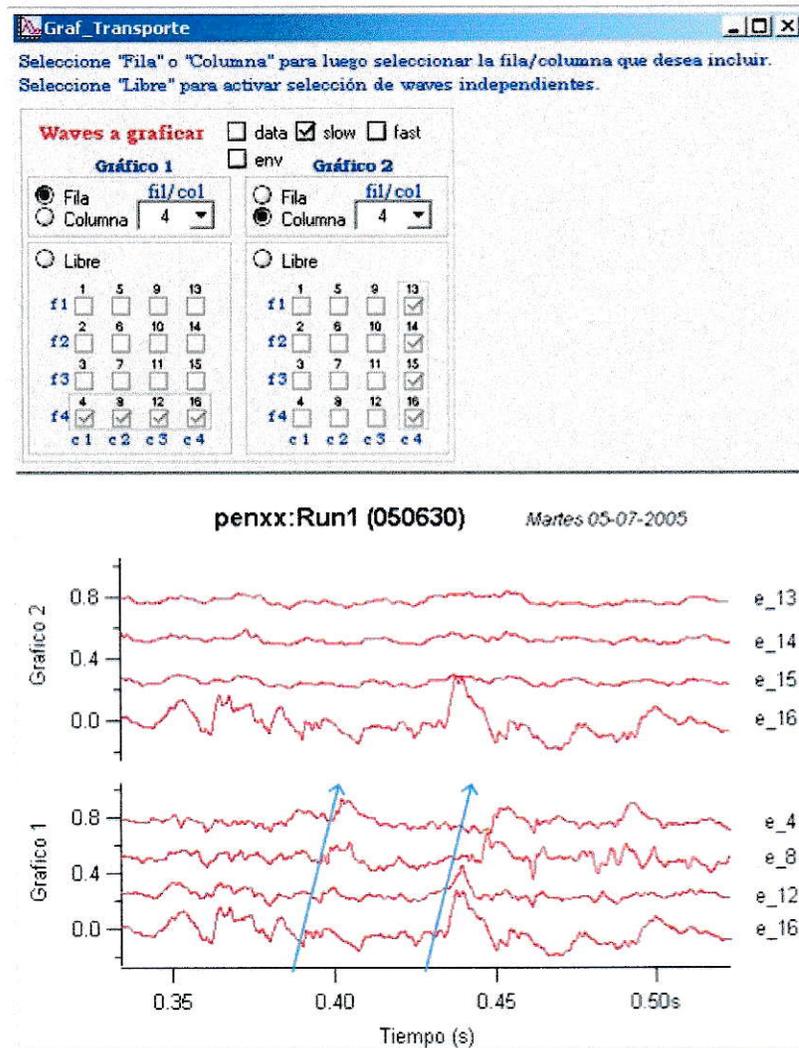


Figura 6.7:

Dentro de las herramientas de análisis visual incluimos además la generación de una *movie* a partir de una ventana de tiempo seleccionada por el usuario. La figura 6.8 muestra la selección de una ventana temporal (0.39 s a 0.45 s, aproximadamente) a partir de la cual se genera una *movie*. La idea de esta herramienta es poder visualizar los cambios de potenciales mediante mapas de colores.

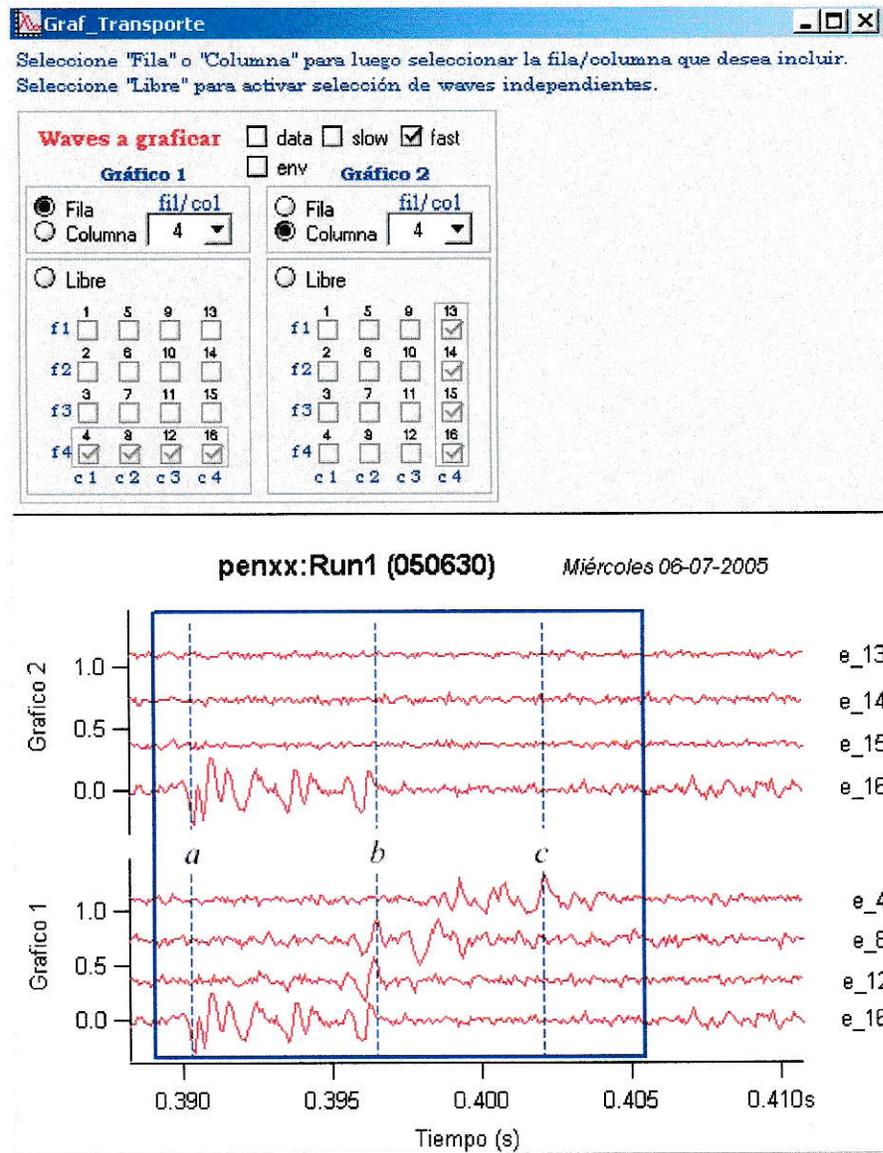


Figura 6.8: Ventana temporal seleccionada para visualización de *Movie* (rectángulo azul oscuro).

La figura 6.9 muestra 3 cuadros (*frames*) donde se observa como se “mueve” el *locus* más activado. Observe cómo la actividad cambia de posición.

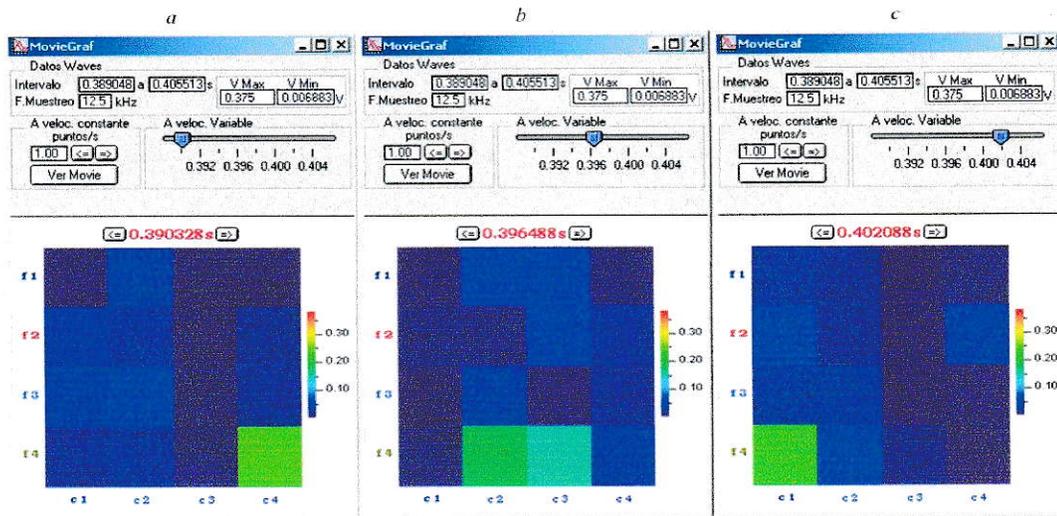


Figura 6.9: Cuadros de *movie* en los puntos *a*, *b* y *c* de figura 6.8.

A continuación, se puede analizar la correlación entre las señales de distintos sitios de registro. La figura 6.10, muestra la correlación entre 3 pares de sitios de registro, e\_16 con e\_12, e\_16 con e\_8 y e\_16 con e\_4.

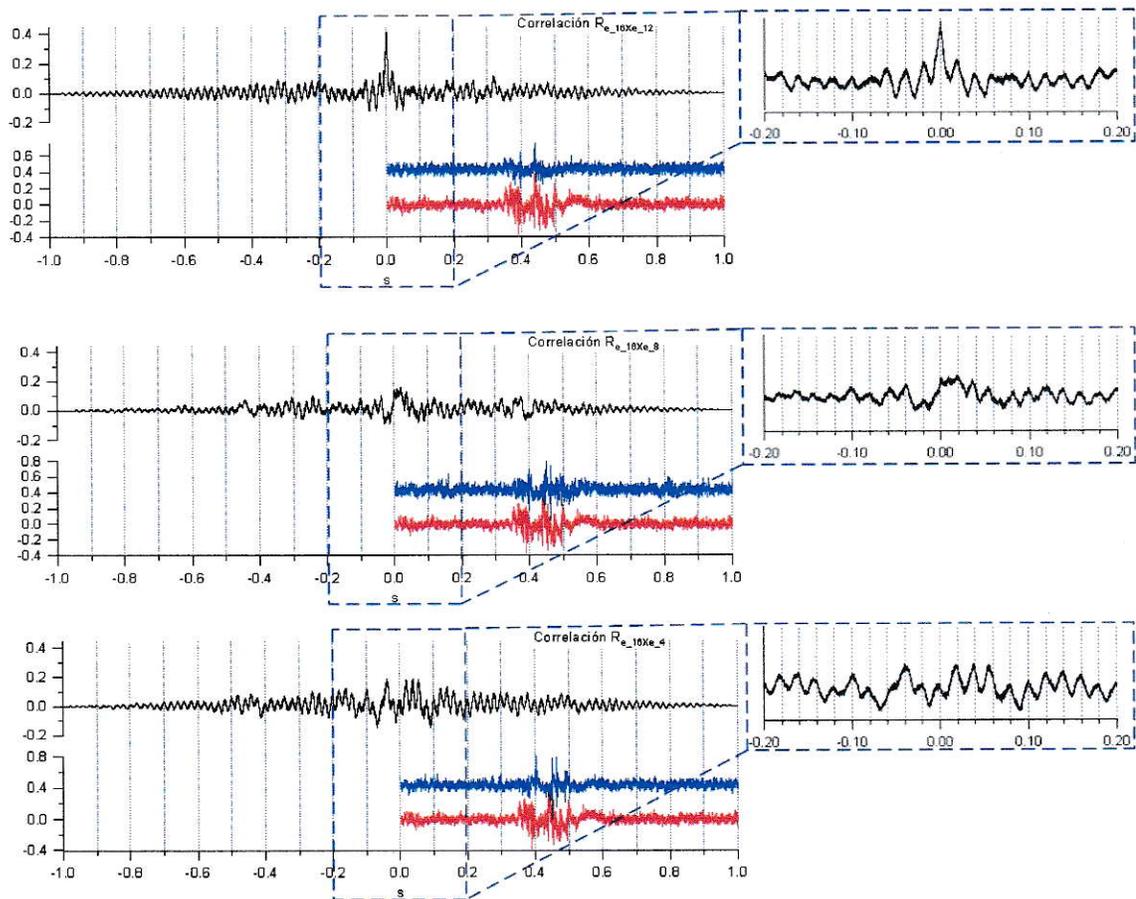


Figura 6.10: Correlación espacial.

Obsérvese cómo el *peak* central de la correlación (a tiempo cero) disminuye con la distancia. Este análisis se hace con la herramienta de correlación entre señales discretas descrita en la sección 5.4.9, en página 80. Esta herramienta además permite ver la oscilación de 50 Hz, que refleja el ruido eléctrico.

Con la herramienta de análisis Tiempo-Frecuencia se obtiene el espectro del sitio de registro 16, ver figura 6.11.

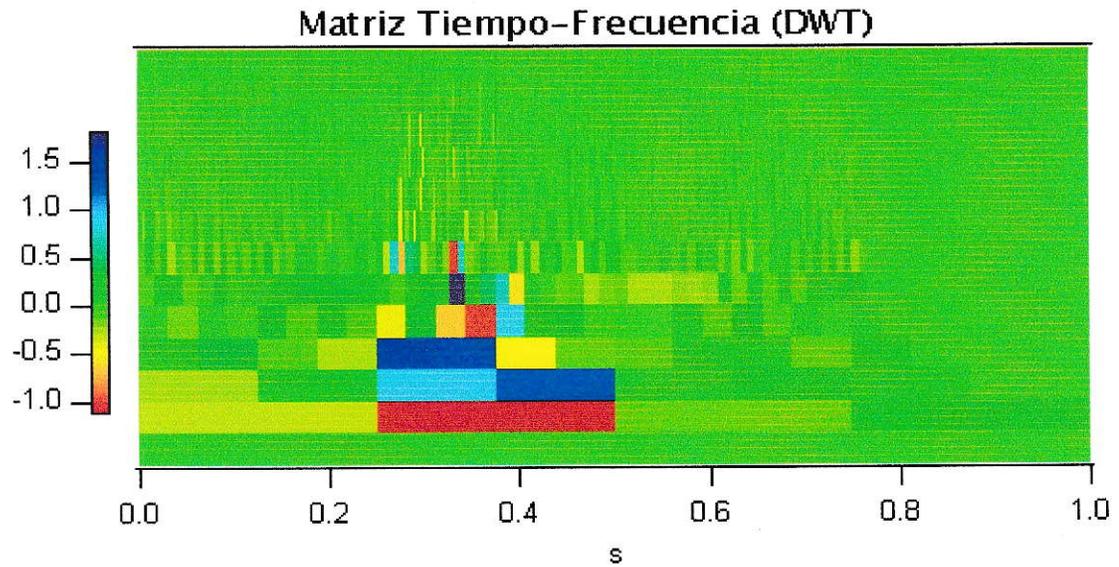


Figura 6.11: Matriz Tiempo-Frecuencia de datos en sitio de registro 16.

Además, es posible aislar muy bien los *bursts* (*VFO*). La figura 6.12 muestra la reconstrucción de la onda de datos al incluir únicamente los coeficientes del rango de frecuencias 390 a 700 Hz, para ondas rápidas (incluidos los *VFO*), y del rango 97 a 195 Hz, para ondas lentas.

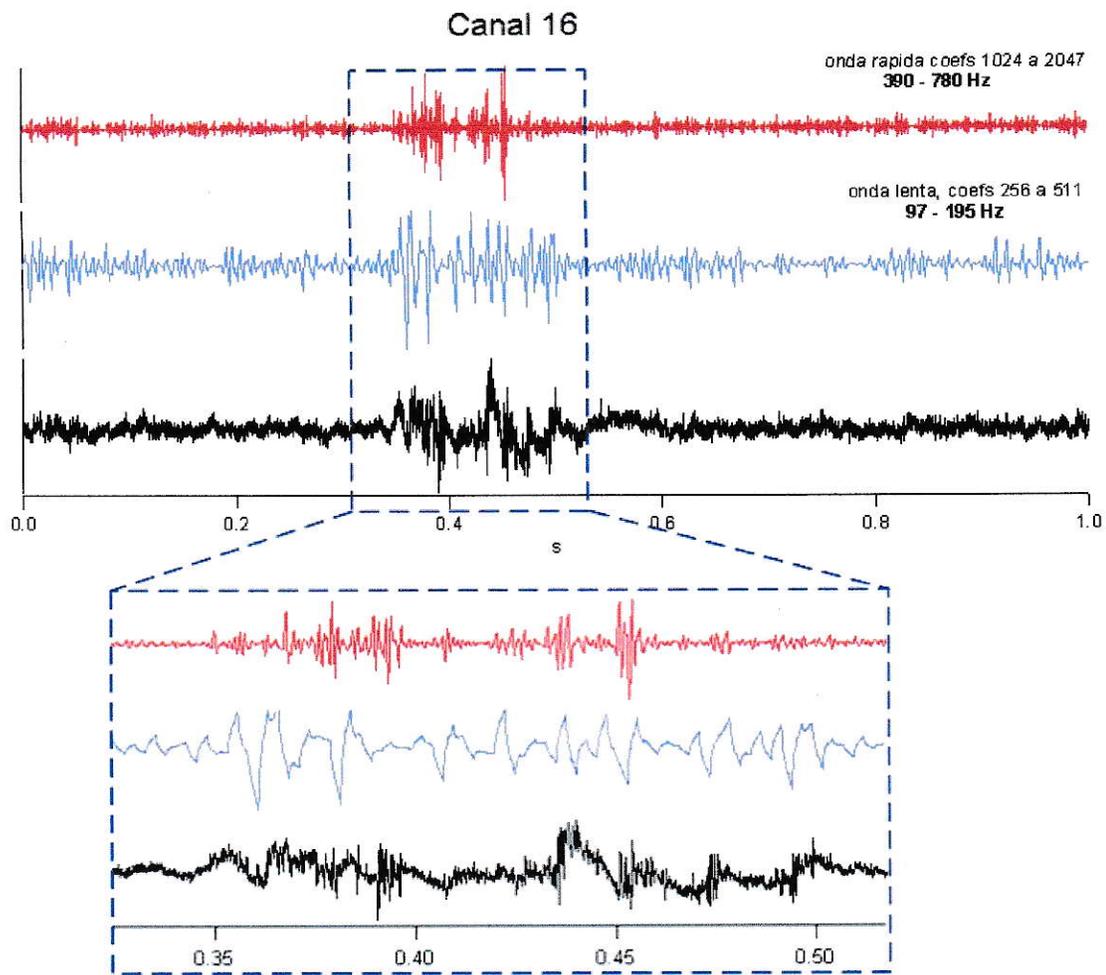


Figura 6.12: Filtrado DWT de datos en sitio de registro 16.

# Capítulo 7

## Conclusiones

Como se ha podido apreciar, el sistema AAPS es flexible, fácil de usar y permite que usuarios “inexpertos” en programación puedan hacer análisis complejos de señales neuronales.

El Sistema AAPS diseñado en esta tesis no debe considerarse como un punto final, sino como un punto de partida para hacer experimentos complejos.

En la actualidad el sistema está listo para ser usado, y ya ha generado una publicación (Maureira y otros, 2004). En el futuro cercano se espera, al juntar experiencia, tener futuras versiones y analizar experimentos cada vez más complejos.

# Referencias

- HUBEL, D. H.: «Tungsten microelectrodes for recording single units.» *Science*, 1957, **125**, pp. 549–550.
- KOCH, CHRISTOF: «Linear Stimulus Encoding and Decoding», 1999.
- LEBEDEV, M.A., CARMENA, J.M., O'DOHERTY, J.E., ZACKSENHOUSE, M., HENRIQUEZ, C.S., PRINCIPE, J.C. y NICOLELIS, M.A.L.: «Cortical Ensemble Adaptation to Represent Velocity of an Artificial Actuator Controlled by a Brain-Machine Interface.» *J. Neurosci.*, 2005, **25(19)**, pp. 4681–4693.
- LETELIER, J. C. y WEBER, P.: «Spike sorting based on discrete wavelet transform coefficients.» *J. Neurosci. Methods*, 2000, **101(2)**, pp. 93–106.
- LEWICKI, MICHAEL S.: «A review of methods for spike sorting: the detection and classification of neural action potentials.» *Comput. Neural Syst.*, 1998, **9**.
- MAUREIRA, C., BERNUCCI, L., VARGAS, S., MPODOZIS, J. y LETELIER, J.C.: «Oscilaciones rápidas (600 Hz) en el tectum óptico de paloma (*Columba Livia*).» *Sociedad de Biología de Chile*, 2004, **XLVII Reunión anual, Pucon, Chile**.
- MITRA, P. P. y PESARAN, B.: «Analysis of Dynamic Brain Imaging Data.» *Biophys J.*, 1999, **76(2)**, pp. 691–708.

- MITZDORF, U.: «Current source-density method and application in cat cerebral cortex: investigation of evoked potentials and EEG phenomena.» *Physiol.Rev.*, 1985, **65(1)**, pp. 37–91.
- NICHOLSON, C. y FREEMAN, J.: «Theory of current source-density analysis and determination of conductivity tensor for anuran cerebellum.» *J. Neurophysiol.*, 1975, **38**, pp. 369–382.
- PATIL, P.G., CARMENA, J.M., NICOLELIS, M.A.L. y TURNER, D.A.: «Ensemble recordings of human subcortical neurons as a source of motor control signals for a brain-machine interface.» *Neurosurgery*, 2004, **55(1)**, pp. 27–35.
- PROAKIS, JOHN G. y MANOLAKIS, DIMITRIS G.: *Tratamiento Digital de Señales. Señales y Sistemas en Tiempo Discreto*. Prentice Hall, Madrid, 3ª edición, 1998.
- RIEKE, FRED, WARLAND, DAVID, DE RUYTER VAN STEVENINCK, ROB y BIALEK, WILLIAM: *Spikes: Exploring the Neural Code*, pp. 44–45,87–88,285–289. MIT Press, Cambridge, MA, 1997.
- SCHMIDT, EDWARD M.: «Computer separation of multi-unit neuroelectric data: a review.» *Journal of Neuroscience Methods*, 1984a, **12(2)**, pp. 95–111.
- SCHMIDT, EDWARD M.: «Instruments for sorting neuroelectric data: a review.» *Journal of Neuroscience Methods*, 1984b, **12(1)**, pp. 1–24.
- STEIN, JONATHAN: *Digital Signal Processing: a computer science perspective*, Cap. 9. John Wiley & Sons Inc, 2000.
- THOMSON, D.J.: «Spectrum estimation and harmonic analysis.» *Proc. IEEE*, 1982, **70**, pp. 1055–1096.

VAKNIN, G., DISCENNA, P. G. y TEYLER, T. J.: «A method for calculating current source density (CSD) analysis without resorting to recording sites outside the sampling volume.» *J. Neurosci. Methods*, 1988, **24(2)**, pp. 131–135.