



UNIVERSIDAD
DE LOS ANDES
MERIDA VENEZUELA

UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE INGENIERÍA
ESCUELA DE INGENIERÍA ELÉCTRICA

ANÁLISIS DE ONDAS DEL PROCESO EXPERIMENTAL
KINDLING MEDIANTE REDES NEURONALES ARTIFICIALES,
PARA LA IDENTIFICACIÓN DE LA FASE POST EPILÉPTICA

Br. Emelyn Jaixy Valero González

Mérida, mayo, 2022



UNIVERSIDAD
DE LOS ANDES
MÉRIDA VENEZUELA

UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE INGENIERÍA
ESCUELA DE INGENIERÍA ELÉCTRICA

ANÁLISIS DE ONDAS DEL PROCESO EXPERIMENTAL
KINDLING MEDIANTE REDES NEURONALES ARTIFICIALES,
PARA LA IDENTIFICACIÓN DE LA FASE POST EPILÉPTICA

Trabajo de Grado presentado como requisito parcial para optar al título de Ingeniero
Electricista

Br. Emelyn Jaixy Valero González
Tutor(es): Msc. Ana Angelissis
Arraiz Budovalchew

Mérida, mayo, 2022

UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE INGENIERÍA
ESCUELA DE INGENIERÍA ELÉCTRICA

**ANÁLISIS DE ONDAS DEL PROCESO EXPERIMENTAL *KINDLING*
MEDIANTE REDES NEURONALES ARTIFICIALES, PARA LA
IDENTIFICACIÓN DE LA FASE POST EPILÉPTICA**

Br. Emelyn Jaixy Valero González

Trabajo de Grado, presentado en cumplimiento parcial de los requisitos exigidos para optar al título de Ingeniero Electricista, aprobado en nombre de la Universidad de Los Andes por el siguiente Jurado.

MSc. Luis Ramón Araujo Rangel

MSc. Danely Velázquez Adames

MSc. Ana Angelissis Arraiz Budovalchew

DEDICATORIA

A mi madre, mi mayor inspiración.

A mi padre, mi gran modelo a seguir.

A los que creyeron en mí, por no dejarme caer.

A quien cree en sus sueños y lucha por cumplirlos.

Con amor y cariño, les dedico mi esfuerzo.

“Un hombre que se atreve a perder una hora no ha descubierto el valor de la vida”

Charles Darwin.

www.bdigital.ula.ve

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la prestigiosa Universidad de Los Andes, así como a su personal docente, administrativo y obrero por permitirme formarme profesionalmente en sus instalaciones.

A todos los docentes durante mi trayectoria universitaria, por los conocimientos impartidos y el tiempo invertido. Ustedes fueron una invaluable fuente de inspiración y me formaron para ser una excelente profesional.

A la Prof. Ana Arraiz, quien fue mi guía y tutor durante la elaboración de este proyecto. Sin su sabiduría y paciencia infinita no habría culminado esta meta.

Al Prof. Pedro Pieruzinni por su entrega y compromiso en la fase experimental de este proyecto.

Al Prof. Francisco Vilorio por su invaluable disposición a colaborar y guiar en la elaboración de este trabajo de grado.

A mis padres, Jairo José Valero Carrillo y Xiomara Josefina González Cruz, quienes son mis pilares fundamentales y fuente de apoyo incondicional. Todo sus esfuerzos y sacrificios me han hecho la persona que soy hoy. Todo se lo debo a ustedes.

A todas las personas que se mantuvieron a mi lado durante esta trayectoria, apoyándome y confiando en mí, llenándome de fortaleza y haciéndome encontrar voluntad e inspiración en días donde lo creía todo perdido.

Muchas gracias a todos.

Emelyn Jaixy Valero González. Análisis de ondas del proceso experimental *Kindling* mediante redes neuronales artificiales para la identificación de la fase post epiléptica. Universidad de Los Andes. Tutor: Msc. Ana Angelissis Arraiz Budovalchew. Mayo, 2022.

Resumen

Partiendo de la necesidad de ofrecer un tratamiento eficaz para la epilepsia, en colaboración al laboratorio de Fisiología de la Conducta de la Universidad de Los Andes (ULA) se plantea una investigación basada en el análisis de las ondas del proceso experimental del *Kindling* mediante redes neuronales artificiales, para identificar las ondas cerebrales post epilépticas en ratas Wistar, y con esto evidenciar, en el caso de ser posible, el efecto antiepiléptico de dichas ondas en futuras investigaciones, para crear un impacto social y económico, pero sobre todo científico ante la medicina y el tratamiento de esta enfermedad. La investigación abarca un desarrollo progresivo partiendo de la examinación del estado del arte de la epilepsia, así como su inducción experimental y los métodos para su inhibición. Asimismo, como parte del proceso, se identificó y eliminó las perturbaciones electromagnéticas permitiendo contribuir con un mejor desempeño de los sistemas eléctricos, electrónicos y de los experimentos que se llevan a cabo en el laboratorio. Seguidamente se generó un sistema de adquisición con las características adecuadas para el registro de los biopotenciales del cerebro en ratas Wistar, así como la inducción de epilepsia con el método *Kindling*. Finalmente, se realizó un procesamiento de datos utilizando redes neuronales para reconocer automáticamente, de ser posible, la onda post ictal. Obteniendo como resultado un reconocimiento parcial de la fase post ictal, que, a pesar de no ser viable la definición de la onda y no poder ser utilizada para la emulación del mecanismo endógeno del cerebro, apunta a que si puede ser un camino para obtener la clasificación y la definición de la fase post epiléptica. Por ello, este proyecto brinda herramientas para los profesionales del área biomédica, será el punto de partida para continuar con la investigación de la epilepsia.

Descriptores: Epilepsia, crisis epiléptica, señales cerebrales, redes neuronales, fase post ictal.

ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA.....	iii
AGRADECIMIENTOS.....	iv
ÍNDICE DE FIGURAS	vii
ÍNDICE DE TABLAS.....	viii
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	ix
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO I.....	3
LA EPILEPSIA	3
1.1 LA EPILEPSIA.....	3
1.2 JUSTIFICACIÓN.....	5
1.3 OBJETIVOS.....	7
1.3.1 Objetivo General.....	7
1.3.2 Objetivos Específicos.....	8
1.4 METODOLOGÍA.....	8
1.5 ALCANCE.....	9
1.6 LIMITACIONES	9
CAPÍTULO II.....	11
INTRODUCCIÓN A LOS SISTEMAS DE DETECCIÓN Y PROCESAMIENTO DE DATOS DE EPILEPSIA	11
2.1 ANTECEDENTES.....	11
2.2 BASES TEÓRICAS.....	13
2.2.1 Epilepsia	13
2.2.2 Biopotencial del cuerpo humano.....	14
2.2.3 Equipos de medidas de biopotenciales.....	17
2.2.4 Métodos experimentales de inducción al estatus epiléptico	19
2.2.5 Métodos de inhibición de la epilepsia	23
2.2.6 Adquisición de datos	25
2.2.7 Interferencias electromagnéticas.....	29

2.2.8	Técnicas de inhibición de interferencias electromagnéticas.....	31
2.2.9	Software de adquisición y procesamiento de datos.....	32
2.1.1	Redes neuronales artificiales.....	34
2.2.10	Elementos de una red neuronal artificial.....	34
2.2.11	Tipos de redes neuronales.....	35
CAPÍTULO III		37
IDENTIFICACIÓN DE LA FASE POST EPILÉPTICA		37
3.1	NATURALEZA DE LA INVESTIGACIÓN.....	37
3.2	PROTECCIÓN CONTRA INTERFERENCIAS ELECTROMAGNÉTICAS.....	38
3.2.1	Interferencias de la red.....	38
3.2.2	Construcción de la jaula de Faraday.....	39
3.2.3	Medición diferencial.....	41
3.2.4	Cableado.....	41
3.3	INDUCCIÓN A LA EPILEPSIA CON <i>KINDLING</i> ELÉCTRICO.....	42
3.3.1	Método de <i>Kindling</i>	42
3.3.2	Medida de los biopotenciales utilizando electrodos.....	43
3.4	ADQUISICIÓN DE DATOS	45
3.4.1	Tarjeta de adquisición USB-6009 OEM.....	46
3.4.2	Software para el control de las variables de estimulación y registro de las señales eléctricas.....	48
3.5	DETECCIÓN Y CLASIFICACIÓN DE LAS ONDAS POST EPILÉPTICAS UTILIZANDO REDES NEURONALES ARTIFICIALES	54
3.5.1	Definición de etapas.....	54
3.5.2	Red neuronal de avance profundo.....	57
3.5.3	Preprocesamiento de la señal.....	57
3.5.4	Entrenamiento de la red.....	60
3.5.5	Evaluación del patrón de ondas cerebrales.....	62
3.5.6	Definición de las ondas post ictales.....	63
CAPÍTULO IV		64
ANÁLISIS Y RESULTADOS		64

4.1	PRUEBAS DE FUNCIONAMIENTO DE LA PROTECCIÓN A INTERFERENCIAS ELECTROMAGNÉTICAS.....	64
4.2	PRUEBAS DE FUNCIONAMIENTO DEL SOFTWARE DE ADQUISICIÓN.....	65
4.2.1	Base de datos.....	66
4.3	PRUEBAS DE FUNCIONAMIENTO DE LA RED NEURONAL.....	71
4.4	RESULTADOS EN LA EVALUACIÓN Y DEFINICIÓN DE LA FASE POST EPILÉPTICA.....	74
	CONCLUSIONES.....	78
	RECOMENDACIONES	80
	REFERENCIAS	81
	ANEXOS	85

www.bdigital.ula.ve

ÍNDICE DE FIGURAS

Fig. 2.1 Tipos de ondas del electroencefalograma [19].....	17
Fig. 2.2 Ubicación anatómica de la amígdala cerebral y el hipocampo [25]	21
Fig. 2.3 Núcleos de la amígdala [11].....	23
Fig. 2.4 Diagrama de sistemas generalizado para la adquisición de biopotenciales	26
Fig. 2.5 Diagrama generalizado para la adquisición de biopotenciales con circuitos integrado de aplicación específica.....	27
Fig. 3.1 Identificación externa de los electrodos implantados en las ratas Wistar	44
Fig. 3.2 Diseño del electrodo.....	45
Fig. 3.3 Diagrama de bloques del sistema DAQ	46
Fig. 3.4 Tarjeta de adquisición USB-6009 OEM.....	47
Fig. 3.5 Terminales de la tarjeta DAQ USB-6009 OEM.....	48
Fig. 3.6 Interfaz gráfica.....	52
Fig. 3.7 Registro de señal base en ratas Wistar [1].....	55
Fig. 3.8 Señal registrada al momento de estimular [1].....	55
Fig. 3.9 Registro de post descargas en ratas Wistar [1].....	56
Fig. 3.10 Identificación de la señal de post descarga, señal post ictal y señal base [1].....	56
Fig. 3.11 Red neuronal de avance profundo del Toolbox de <i>MATLAB</i>	57
Fig. 4.1 Entrenamiento de la red neuronal.....	72

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 3.1 Medidas de corriente con respecto a carga conectada.....	50
Tabla 3.2 Corriente requerida para el método de <i>Kindling</i> según diferentes autores.....	51
Tabla. 4.1 variación de coordenadas de la amígdala basolateral del cerebro de las ratas Wistar	70

www.bdigital.ula.ve

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfica 4.1 Registro de los biopotenciales (Rata 1 – Data 1).....	66
Gráfica 4.2 clasificación del registro de Rata 1 - Data 1.....	67
Gráfica 4.3 Registro de los biopotenciales de Rata 1.....	68
Gráfica 4.4 Registro de los biopotenciales de Rata 2.....	68
Gráfica 4.5 Registro de los biopotenciales de Rata 3.....	69
Gráfica 4.6 Rendimiento de la red neuronal.....	73
Gráfica 4.7 Registro de los biopotenciales (Rata 2 – Data 3).....	74
Gráfica 4.8 Evaluación de la onda post ictal.....	75
Gráfica 4.9 Identificación de etapas en el registro de los biopotenciales (Rata 2 – Data 3).....	76
Gráfica 4.10 Onda post ictal identificada por la red neuronal.....	76

www.bdigital.ula.ve

INTRODUCCIÓN

El estudio de la epilepsia ha sido un foco de interés por mucho tiempo debido a que representa gran parte de la práctica clínica diaria en neurología por el número de diagnósticos a nivel mundial. Además, un porcentaje elevado de pacientes con epilepsia no logran tratar sus convulsiones con los tratamientos tradicionales.

Entre los principales métodos de inhibición de la epilepsia, existe el mecanismo natural aplicado por el cerebro, que produce una interrupción electroquímica de la actividad sincrónica que logra detener las crisis convulsivas, con el único inconveniente de que a medida que se repiten los ataques epilépticos, la respuesta de este mecanismo presenta mayor retardo, afectando considerablemente la calidad de vida de quien lo padece.

Por otro lado, la estimulación intracraneal es un método de inhibición que se ha convertido en una propuesta atractiva para las personas epilépticas que no han tenido éxito con otros tratamientos. Aun cuando su objetivo no es aliviar por completo las convulsiones, ofrece una medida para reducir la cantidad de convulsiones de una persona o la duración de las mismas, sin embargo, este método de inhibición no ha sido suficientemente estudiado.

En función a esto, y ampliando los estudios realizados en el laboratorio de Fisiología de la Conduita, de la Facultad de Medicina de la Universidad de Los Andes, se plantea esta investigación, donde se mejora las condiciones de adquisición de la onda cerebral en ratas Wistar para la captura de la señal más pura posible, con la finalidad de determinar si se puede reconocer la onda post ictal, onda de restablecimiento del asincronismo cerebral normal para estudiar y definir sus características, y así, permitir a futuros estudios desarrollen una propuesta que ofrezca una inhibición de la epilepsia emulando el mecanismo natural del cerebro, mediante la estimulación intracraneal, y así, mejorar la calidad de vida de personas con epilepsia, lo que podría representar el avance más grande en la búsqueda de la cura de la epilepsia.

En virtud de lo mencionado, se indagó en el estado del arte de la epilepsia, así como su inducción experimental y los métodos para su inhibición. A su vez se incorpora a la investigación que se llevaba a cabo en el laboratorio de Fisiología de la Conducta, un sistema de adquisición de las ondas cerebrales, apropiado para biopotenciales del cerebro en ratas Wistar, y la inducción de epilepsia con el método *Kindling*. Además, del procesamiento de datos utilizando redes neuronales para reconocer automáticamente la onda post ictal.

Además, con el fin de obtener la onda más pura posible que permita asegurar tener la onda eléctrica de la amígdala que usa el cerebro para salir del sincronismo, se identificó y eliminó los posibles factores de interferencia electromagnéticas en la toma de los biopotenciales cerebrales en las ratas Wistar, garantizando la correcta adquisición de datos y mejorando el desempeño de los sistemas eléctricos y electrónicos.

Ahora bien, de las pruebas realizadas de evaluación del patrón de ondas cerebrales con la red neuronal arrojo como resultado un reconocimiento parcial de la fase post ictal. Puesto que, durante la fase experimental surgieron adversidades, que influyó en la base de datos de registros de ondas cerebrales, impidiendo obtener una red neuronal capaz de clasificar con mayor exactitud a la onda deseada. No obstante, a pesar de no ser posible la definición de la onda, esta investigación apunta a que la metodología y los algoritmos realizados pueden ser la base para obtener la clasificación y la definición de la fase post epiléptica. Y a su vez, puede representar el punto de partida para nuevas investigaciones en las que se busque experimentar los efectos de la onda post ictal en crisis epilépticas.

Para el desarrollo de esta investigación se estructuró en cuatro (4) capítulos de la siguiente manera: el capítulo I manifiesta el planteamiento del problema, así como su justificación y los objetivos que se requieren para el desarrollo de este. Además, se explica la metodología aplicada, los alcances y las limitaciones. El capítulo II desarrolla los antecedentes y el marco teórico que incluye todos los conceptos básicos necesarios para lograr el mejor entendimiento de los términos utilizados en el proyecto. En el capítulo III se desglosa el procedimiento y las medidas implementadas para lograr los objetivos de esta investigación. En el capítulo IV se realiza el análisis de los resultados obtenidos, exponiendo tablas, gráficas y valores que sustentan los logros alcanzados. Finalmente se expresan las conclusiones y recomendaciones propuestas al finalizar todo el estudio y experimentos de este proyecto.

CAPÍTULO I

LA EPILEPSIA

El presente capítulo describe las bases para el desarrollo de la investigación, donde se expresa el para qué y el porqué de la investigación, objetivos en que se centra, la metodología aplicada, el alcance y las limitaciones en el desarrollo de la misma, las cuales se describen a continuación:

1.1 LA EPILEPSIA

Esta enfermedad está definida como un trastorno del sistema nervioso central en el que la actividad de las células cerebrales se vuelve anormal y excesiva, provocando convulsiones o periodos de comportamientos o sensaciones inusuales y, a veces, pérdida de conciencia [1].

Esta patología afecta al 1% de la población general y se trata del segundo trastorno neurológico, en términos globales, en cuanto a incidencia y prevalencia. Se conoce que todavía un 30-40% de los pacientes de epilepsia que se medican no tienen un control satisfactorio de sus crisis convulsivas [2].

Cabe considerar, que tratar las convulsiones con medicamentos o cirugía permite controlar al 66% de los pacientes con epilepsia, mientras que la resección quirúrgica es capaz de eliminar o disminuir la incidencia de las crisis epilépticas en el caso de existir un solo foco epiléptico identificable por un estudio electrográfico. Sin embargo, cuando la epilepsia localizada y resistente a los medicamentos tiene lugar en una región cerebral encargada del procesamiento del habla, el lenguaje, la visión, el aprendizaje, la memoria, la sensación o el movimiento, la cirugía de resección no se considera adecuada [3].

A pesar de los tratamientos disponibles, existe un subgrupo importante de pacientes que siguen presentando crisis epilépticas incapacitantes, por lo que el estudio de la estimulación

cerebral profunda está experimentando un incremento exponencial como método alternativo para los pacientes resistentes a otros tratamientos [4].

En la clínica Mayo en Estados Unidos [3], se realizó un estudio que demuestra que las convulsiones pueden suprimirse si los pacientes son tratados mediante estimulación eléctrica continua. El estudio plantea que la estimulación subumbral de la corteza reduce eficazmente las descargas epileptiformes interictales.

Por consiguiente, la estimulación eléctrica intracerebral representa una alternativa para el control de las crisis convulsivas en pacientes que son resistentes al tratamiento farmacológico y que no son candidatos a la resección quirúrgica del foco epiléptico.

Hasta los momentos no existen suficientes estudios de los efectos de la estimulación eléctrica en la epilepsia. En función a esto, el Laboratorio de Fisiología de la Conducta de la Universidad de Los Andes, desde el año 2005 implementa estudios sobre el comportamiento epiléptico basado en el método del *Kindling* en ratas Wistar [1], con la finalidad de indagar en las causas y efectos de la epilepsia, partiendo del registro del biopotencial asociado a las fases del modelo experimental *Kindling* a través de electrodos implantados en la amígdala basolateral del cerebro.

Ahora bien, tomando como punto de partida el estatus epiléptico, definido como la presencia de una convulsión que dura más de cinco (5) minutos, o la presencia de dos (2) o más convulsiones entre las cuales no se presente recuperación del estado de conciencia, se encuentra el centro de interés de esta investigación, el estado post-ictal [5].

En lo esencial, el periodo posterior a una crisis epiléptica, también conocida como estado post-ictal, es la condición anormal que ocurre entre el fin de la crisis epiléptica y el retorno a la condición de base, previa a la convulsión. En base a esto, se considera fundamental el estudio de la duración del estado post-ictal por las importantes implicaciones en el pronóstico y la funcionalidad del paciente [5].

Por otro lado, aun cuando el efecto de la neuroestimulación en el tratamiento de diferentes tipos de crisis epilépticas ha sido confirmado como un tratamiento paliativo que disminuye la frecuencia de las crisis en algunos pacientes [6], el desarrollo de nuevas medicaciones o

dispositivos que busquen emular los procesos anti-ictales desencadenados en el periodo post-ictal podrían ser los verdaderos medicamentos antiepileptogénicos [5].

Por tal razón, la investigación se está direccionando al estudio del periodo posterior a las crisis epilépticas, ya que en este período se activan mecanismos endógenos antiepilepticos los cuales, al ser dilucidados, permitirán el desarrollo de medicaciones con mayor control de inicio de crisis.

En relación con la idea anterior, y partiendo de la necesidad de ofrecer un tratamiento eficaz para la epilepsia, se propone analizar las ondas del proceso experimental del *Kindling* mediante redes neuronales artificiales, para identificar las ondas cerebrales post epilépticas en ratas Wistar. Se quiere con ello automatizar el proceso de clasificación, el cual era realizado solo por un experto de forma manual, teniendo en cuenta que las redes neuronales intervienen como herramientas de un sistema de inteligencia artificial basado en aprendizaje profundo, haciendo posible alcanzar altas precisiones y facilitando la detección de forma óptima y efectiva de las características del periodo post-ictal, representando así un avance en los estudios de los mecanismos endógenos anti-ictales.

1.2 JUSTIFICACIÓN

En el mundo al menos unos 50 millones de personas padecen de epilepsia y se estima el diagnostico de unos 5 millones de casos de epilepsia al año. Según la Organización Mundial de la Salud [7], cerca del 80% de los pacientes con epilepsia viven en países de bajos recursos, por lo que aumenta el riesgo de muerte prematura y condena a muchas de ellas a una vida dominada por la estigmatización.

Al mismo tiempo, numerosos estudios han demostrado que el tiempo de duración de la crisis epiléptica aumenta con respecto a la frecuencia de los episodios. Además de las convulsiones recurrentes, se afilian nuevos síntomas como perdida de consciencia y control de la función intestinal [7]. En este sentido se comprende que las crisis epilépticas son de difícil control, e incluso pueden volverse resistentes al tratamiento farmacológico, afectando la calidad de vida de quien lo padece [2].

En vista a esto, es imperativo impulsar investigaciones que ayuden a limitar la duración de las crisis epilépticas y evitar la pérdida de conciencia, partiendo del estudio del periodo post-ictal con el fin de indagar en el mecanismo endógeno antiepiléptico que conlleva al retorno de la condición base.

Actualmente, la Universidad de Los Andes, cuenta con un Laboratorio de Fisiología de la Conducta, que investiga un proceso experimental basado en el método del *Kindling* en ratas Wistar, en el cual estimula eléctricamente el cerebro de forma invasiva, con el fin de inducir la epilepsia en los animales de estudio adquiriendo los biopotenciales post estimulación para estudiar las conductas asociadas [1].

Específicamente indagar en el biopotencial que tiene lugar en la fase entre el fin de la crisis epiléptica y el retorno de la condición de base podría ser la clave para descubrir un tratamiento efectivo que pueda inhibir las ondas epilépticas y desincronizar el cerebro en una crisis convulsiva.

Además, los experimentos con modelos animales sin duda alguna son de vital importancia en el entendimiento de esta enfermedad y en el comportamiento eléctrico de las crisis epilépticas en el cerebro [2], en consecuencia, es un factor indispensable abordar la investigación para la identificación de posibles tratamientos que logren inhibir las crisis epilépticas con el uso de las ratas Wistar, siendo estas la subespecie más popular en investigaciones biomédicas debido a su tamaño, facilidad de criar en cautividad, ciclo vital rápido, y genoma, el cual tiene más del 95% de coincidencia con el del humano [8], incluso cuando nacen en un estado prematuro relativo al humano tienen neuronas y estructuras cerebrales similares, por lo que son altamente susceptibles a la generación de crisis epilépticas, y por lo tanto, son la especie por excelencia para estudiar su comportamiento en dicha enfermedad.

Concretizando, la investigación que se realiza en el laboratorio de Fisiología de la Conducta da cabida a múltiples vertientes de investigación que permitan dar solución a la epilepsia o inhibir en corto tiempo los ataques epilépticos, ya que se pueden analizar el comportamiento de las ondas eléctricas corticales post descargas del cerebro de las ratas estimuladas e ingeniar una solución para contrarrestar su efecto.

En efecto, conociendo que el cerebro presenta una respuesta natural que va desincronizando la actividad neuronal y por ende atenúa los efectos de la epilepsia, hasta normalizar las ondas cerebrales (llamada fase post epiléptica), esta respuesta natural del cerebro es el punto de partida de esta investigación ya que se propone obtener las ondas provenientes de la amígdala basolateral del cerebro en su fase post epiléptica, y verificar qué este tipo de onda, neurotransmisor o variable eléctrica es la responsable de detener la crisis epiléptica en la rata.

Sin embargo, se debe delimitar con precisión el comienzo y la duración de la onda post-ictal asegurando que no haya sido modificada por interferencias electromagnéticas externas y que, además, se descarte cualquier otra señal que provenga del cerebro, pero no sea parte del periodo de interés, con la finalidad de evitar falsos positivos o negativos en el experimento.

De igual manera, la razón de identificar con certeza la onda post epiléptica se basa en la expectativa del desarrollo de un tratamiento que emule los mecanismos endógenos antiepilépticos desencadenados en el periodo post-ictal, los cuales se esperan sean los verdaderos medicamentos, capaz de inhibir en un corto periodo de tiempo un ataque epiléptico.

En esta perspectiva, se plantea analizar las ondas provenientes de la amígdala basolateral del cerebro en ratas Wistar, mediante redes neuronales para identificar con precisión las ondas cerebrales post epilépticas, y por lo tanto evidenciar, en el caso de ser posible, el efecto antiepiléptico de dichas ondas, para crear un impacto social y económico, pero sobre todo científico ante la medicina y el tratamiento de la epilepsia en futuras investigaciones.

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 Objetivo General

Analizar las ondas del proceso experimental del *Kindling* mediante redes neuronales artificiales, para identificar las ondas post epilépticas.

1.3.2 Objetivos Específicos

- Examinar el estado del arte de los procesos experimentales para la inhibición de la epilepsia invasivo o no invasivo.
- Identificar y eliminar los factores de interferencia electromagnéticas en la toma de los biopotenciales cerebrales en las ratas Wistar.
- Elaborar software para el control de las variables de estimulación, comportamiento de la rata Wistar y registro de las señales eléctricas, con énfasis en las ondas post epilépticas.
- Definir con el modelo *Kindling*, el patrón de las ondas post epilépticas en las ratas Wistar.
- Evaluar el patrón de las ondas cerebrales de las ratas Wistar en epilepsia a partir de redes neuronales.

1.4 METODOLOGÍA

La metodología de investigación que se utilizará para la realización de este trabajo es la investigación de tipo experimental y de campo. Entendiendo como investigación de tipo experimental aquella que consiste en someter a un objeto o grupo de individuos, a determinadas condiciones, estímulos o tratamientos con la finalidad de observar los efectos o reacciones que se producen [9]. Y la investigación de campo consiste en la recolección de datos directamente del grupo de individuos investigados, o de la realidad donde ocurren los hechos, sin alterar las condiciones existentes [9].

Ambos tipos de metodología son las bases de ejecución de esta investigación, la cual consiste principalmente en realizar la metodología experimental capturando las ondas post epilépticas provenientes de la amígdala basolateral del cerebro de las ratas Wistar, recolectando sus características y comportamiento sin alteración (eliminando interferencias electromagnéticas externas), para luego ser estudiadas mediante redes neuronales que sean capaces de identificar con precisión las ondas cerebrales post epilépticas.

Basado en la estrategia de recolección de información directa de la realidad se procede con la investigación de campo, utilizando como grupo de individuos investigados a las ratas Wistar, y se analizan los datos en tiempo real en un laboratorio con la finalidad de obtener un resultado que aporte auténtica validez, un desarrollo de la ciencia y profundizar la información documental sobre la epilepsia y sus tratamientos.

1.5 ALCANCE

Al finalizar la investigación, se espera obtener la correcta identificación de las ondas cerebrales post epilépticas en ratas Wistar con el propósito de estudiar los mecanismos endógenos antiepilépticos desencadenados en el periodo post-ictal que sirva como base para el desarrollo de un tratamiento alternativo que logre desincronizar el cerebro en un ataque epiléptico en futuras investigaciones.

1.6 LIMITACIONES

En el Laboratorio de Fisiología de la Conducta de la Universidad de Los Andes se implementan equipos tradicionales para el registro de señales eléctricas cerebrales, siendo imposible remplazarlos o mejorarlos para obtener resultados con mayor precisión dada a la escasez de recursos y a sus altos costos.

De la misma forma, la inhibición de ruido con la jaula de Faraday para el estudio realizado estuvo limitada en los materiales que estaban disponibles en la Universidad de Los Andes.

Por otra parte, un modelo experimental basado en animales está limitado a la buena correlación con el proceso que se quiere estudiar, en este caso, la identificación y el comportamiento de las ondas cerebrales post epilépticas obtenidas en las ratas Wistar, para finalmente extrapolar los resultados científicos a humanos, ya que el uso de animales más parecidos a la especie humana, aun cuando ofrece una enorme solidez ya que ha contribuido en hallazgos experimentales importantes, no asegura que los resultados obtenidos sean completamente válidos.

Es resaltante mencionar la limitación que representa para la adquisición de datos la mínima cantidad de ratas operadas para experimentar, ya que paralelamente a esta investigación, se

está desarrollando la manera más práctica y eficiente de implantar los electrodos, así como la selección del electrodo correcto y la conexión más adecuada al hardware de adquisición, lo que significa una cantidad mínima de individuos de estudio.

También es importante acotar la variabilidad en la precisión de las mediciones y en la eficacia de las estimulaciones a causa de los tejidos cicatrizantes que se forman gradualmente alrededor del área de contacto en el cerebro de las ratas, desde la intervención quirúrgica para ubicar los electrodos hasta la cicatrización que puede formarse con cada estímulo eléctrico provocado, pues en ambos casos, el tejido es lesionado y la impedancia que se opone a la circulación de corriente puede aumentar.

Por último, las condiciones y variables de un ser vivo no son constantes, por lo tanto, es importante considerar en qué forma esto podría afectar al resultado de la investigación.

www.bdigital.ula.ve

CAPÍTULO II

INTRODUCCIÓN A LOS SISTEMAS DE DETECCIÓN Y PROCESAMIENTO DE DATOS DE EPILEPSIA

Este capítulo menciona los antecedentes que preceden a la investigación, así como los conceptos necesarios para el mejor entendimiento de la enfermedad y sus limitantes. Además, se analizan los principales métodos experimentales de inducción al estatus epiléptico, así como los métodos de adquisición de datos a emplear y los softwares disponibles. Por último, se estudian los fundamentos de las redes neuronales artificiales.

2.1 ANTECEDENTES

Un estudio realizado en la Universidad Veracruzana en México, basado en modelos experimentales de epilepsia, explica que la mejor manera de entender los mecanismos que generan y detienen las crisis epilépticas, así como su causas y efectos, es a partir del uso de modelos animales, en este caso, empleando ratas en desarrollo. Dicha investigación menciona que las ratas nacen en un estado prematuro relativo al humano, y la neurotransmisión excitadora requerida en un modelo experimental esta incrementada en el cerebro inmaduro en comparación con el adulto, por lo que en esta etapa el cerebro es más susceptible a la generación de crisis epilépticas. Además, describe el *Kindling* eléctrico como un modelo experimental que ha sido ampliamente utilizado para identificar fármacos con potencial efecto antiepiléptico en ratas en desarrollo [2].

Por otro lado, desde 1970 ha incrementado el interés por la neuroestimulación intracraneal invasiva como tratamiento de la epilepsia, utilizando la estimulación cerebral profunda (ECP) y la estimulación cortical (electrodos subdurales). En [10] ha sido presentada la estimulación cerebral cortical como una nueva propuesta de terapia para los pacientes resistentes a los

fármacos y está basada en la estimulación eléctrica intracraneal a través de electrodos implantados en el cerebro.

Cabe considerar que, según [4], la propuesta de terapia contra la epilepsia utilizando la estimulación cerebral profunda está produciendo resultados prometedores, en donde el tálamo ha sido el área principalmente estudiada. Teniendo en cuenta que el tálamo se divide en cuatro núcleos mayores anatómicos: el núcleo anterior (NA) del tálamo, el ventral, el medio dorsal y los grupos laterales, numerosos estudios animales han sugerido que la estimulación del NA podría tener un papel anti convulsionante en humanos. Sin embargo, otros estudios establecen que, en roedores, la amígdala está fuertemente vinculada en el procesamiento multimodal de información importante para el reconocimiento emocional y el comportamiento, por lo tanto, es crítica en varios trastornos neurológicos y psiquiátricos, como es la enfermedad de Alzheimer y la epilepsia [11].

Ahora bien, de acuerdo con la investigación sobre la epilepsia en el Laboratorio de Fisiología de la Conducta de la Universidad de Los Andes [1], implementaron el modelo experimental *Kindling* en ratas Wistar, debido a la similitud en las etapas del desarrollo evolutivo con los seres humanos. Además, esta investigación tuvo como objetivo el desarrollo de un equipo electro estimador de registro cerebral que permitiera manipular las variables de control en el proceso de estimulación, específicamente en la amígdala basolateral del cerebro. Actualmente, se propone la clasificación de forma automática del periodo ictal para verificar en futuros estudios los efectos antiepilépticos que posee dichas ondas cerebrales.

En otro orden de ideas, hoy en día existen diferentes maneras de determinar enfermedades, como la epilepsia, a partir del reconocimiento de patrones de forma automatizada utilizando redes neuronales artificiales. En particular, el reconocimiento de patrones se remonta alrededor de 1960, cuando los primeros experimentos estaban basados en redes neuronales elementales, como perceptrón, adaline y matrices de aprendizaje, las cuales, de manera rápida y sencilla, eran capaces de reconocer patrones y filtrar señales [12].

De acuerdo con [13], en Indonesia, se realizó una investigación que diagnostica la epilepsia a partir de la clasificación de señales electroencefalográficas, alcanzando un 90% de precisión utilizando la red neuronal multicapa perceptrón (MLP). Dicha investigación estuvo basada en

el proceso de entrenamiento supervisado de un MLP, siendo un proceso iterativo que busca adaptarse al patrón del par de datos de entrada y salida, deteniéndose cuando el error es mínimo o el máximo número de iteraciones es alcanzado.

Por otro lado, el diagnóstico de epilepsia propuesto por [14] utilizando redes neuronales artificiales multicapas basadas en aprendizaje por retro propagación, resultó relevante por el método de preprocesamiento de la señal en la que los componentes espectrales de la onda en señales electroencefalográficas fueron utilizados como información principal en la clasificación de la red neuronal.

Por último, un estudio demostró que los valores estadísticos extraíbles de una señal electroencefalográfica son útiles para la detección automatizada de crisis epilépticas, en la cual se reafirma el uso de redes neuronales multicapa perceptrón, con aprendizaje supervisado utilizando retro propagación, presentando como ventaja principal una rápida ejecución, lo cual es importante en aplicaciones donde se involucre el procesamiento de señales [15].

2.2 BASES TEÓRICAS

2.2.1 Epilepsia

La epilepsia es un padecimiento crónico que involucra el incremento y sincronización anormal de la actividad eléctrica neuronal, conllevando alteraciones electroencefalográficas y crisis recurrentes y espontáneas. Mientras que una crisis epiléptica es una alteración motora o sensorial recurrente que resulta de la actividad excesiva de las neuronas, pudiendo ser convulsiva o no [2].

La epilepsia sintomática ocurre cuando se presenta un daño cerebral por lesiones prenatales o perinatales, anomalías congénitas y traumatismo cerebral grave, en donde ocurren cambios en el tejido cerebral provocando que el cerebro envíe señales anormales. De lo contrario, si las causas de las crisis epilépticas son desconocidas, se denomina epilepsia idiopática [1].

Con respecto a los tipos de convulsiones, según [16] se clasifican en dos grupos principales: las generalizadas y las focales.

Las convulsiones generalizadas afectan a ambos lados del cerebro. Se dividen en los siguientes subgrupos:

- Convulsiones de ausencia: también llamadas epilepsia menor, pueden causar parpadeo rápido o la mirada fija a lo lejos por unos pocos segundos.
- Convulsiones tonicoclónicas: también llamadas epilepsia mayor, puede ocasionar que la persona grite, pierda el conocimiento, se caiga al piso y tenga rigidez o espasmos musculares.

Mientras que las convulsiones focales, también conocidas como convulsiones parciales, se localizan en una sola área del cerebro. Se dividen en los siguientes subgrupos:

- Convulsiones focales complejas: pueden hacer que la persona con epilepsia se sienta confundida o aturdida. La persona no podrá responder preguntas ni seguir instrucciones por unos pocos minutos.
- Convulsiones generalizadas secundarias: comienza en una parte del cerebro, pero luego se extienden a ambos lados del cerebro. En otras palabras, la persona primero tiene una convulsión focal, seguida de una convulsión generalizada.

En el caso particular de esta investigación, el estudio de las crisis convulsivas está basado en el entendimiento del biopotencial o señales eléctricas que el cuerpo humano emite.

2.2.2 Biopotencial del cuerpo humano

El biopotencial del cuerpo humano esta generado por los procesos bioquímicos involucrados en el funcionamiento de las células. Esta actividad bioquímica se manifiesta a través de campos eléctricos que se propagan en todas las direcciones dentro del cuerpo [17].

Desde un sistema generalizado de instrumentación médica, se define el biopotencial como las señales generadas debido a la actividad electroquímica de cierto tipo de células conocidas como células excitables, componentes del tejido nervioso, muscular y glandular. Específicamente, la actividad eléctrica se define como la corriente iónica a través de la membrana celular producto del intercambio de iones a través de la membrana de células excitables [18].

En [19] se explican dos tipos de biopotenciales:

Potencial de reposo: es la diferencia de voltaje que existe a través de la membrana plasmática de una neurona que se encuentra en reposo; que se observa como la no emisión de señales eléctricas, es llamada potencial en reposo. También puede ser explicado partiendo de que, las células disponen de dos medios diferentes, el interno y el externo, compuesto por especies iónicas como en el Na^+ , K^+ o Cl^- , separados por una membrana, que implica la aparición de dos flujos de iones a través de dicha membrana. Cuando se alcanza un estado estacionario en el flujo de iones, presenta un potencial neto entre el interior y el exterior de la célula llamado potencial de reposo. Este potencial varía entre -60 mV y -100 mV, y se dice que la célula está polarizada.

Potencial de acción: son cambios del potencial de membrana que se propagan a lo largo de la superficie de células excitables. Cuando se estimula la célula, ya sea de manera interna o externa, la membrana cambia sus características. El cambio inducido por la estimulación produce una variación de las permeabilidades de membrana por la actividad de canales, o proteínas embebidas en la membrana que facilitan el movimiento pasivo de iones específicos en favor de sus gradientes electroquímicos. El efecto neto es que la célula queda cargada positivamente (despolarizada), a un valor aproximado de +20 mV. A este valor se le denomina potencial de acción. Una vez alcanzado este nuevo estado de equilibrio, la membrana vuelve a impedir la entrada a nuevos iones. La evacuación de estos (proceso de repolarización), está asociada a la dependencia temporal de la nueva permeabilidad de la membrana, que retorna al cabo de cierto tiempo a sus características iniciales, y por tanto a las concentraciones en reposo.

En función a la clasificación de biopotenciales, siguiendo la búsqueda para desarrollar el tema de la investigación, es resaltante estudiar el biopotencial en ondas cerebrales como un biopotencial de acción.

Biopotencial en ondas cerebrales: el cerebro es el componente esencial del sistema nervioso central, que se encarga de transmitir señales hacia y desde diferentes partes del cuerpo, e inclusive regula las acciones involuntarias y voluntarias del organismo. En él, podemos encontrar potencial de reposo, el cual surge debido a diferentes distribuciones de iones

cargados positiva y negativamente dentro y fuera de la célula, y el potencial de acción, que suele generarse en el axón de las neuronas y que indica a la neurona como “activa”. En este caso, el potencial de acción viaja a lo largo del axón provocando la liberación de neurotransmisores haciendo posible la comunicación entre neuronas [20].

Es gracias a este comportamiento generado a partir de la actividad electroquímica en las neuronas que se garantiza la existencia de un biopotencial en el cual es posible establecer el estudio del funcionamiento cerebral. Según [1], el biopotencial asociado a las ondas cerebrales está comprendido en un rango de frecuencia de 1 a 30 Hz con amplitudes de 20 a 100 μA .

Como ya es mencionado, en cada una de las zonas de la corteza cerebral se registran ondas que son detectables en distintos rangos de frecuencia. Según [19], existen cinco bandas espectrales que generalmente son de interés clínico:

- Ondas delta (0.5 – 4 Hz): Aparecen en niños pequeños, durante el sueño profundo y en algunos desordenes cerebrales. La aparición de ondas delta en un adulto despierto es considerada como anormal.
- Ondas theta (4 – 7 Hz): Componentes transitorios de actividad theta se pueden encontrar en adultos normales despiertos. Esta actividad ocurre principalmente en las áreas centrales y temporal, y es más común en los niños.
- Ondas alfa (8 – 13 Hz): Es el tipo de ritmo común en sujetos normales, generalmente en estado de reposo y con los ojos cerrados. La fuente de estas ondas se sitúa en el lóbulo occipital.
- Ondas beta (13 – 30 Hz): Este rango de ondas se subdivide en dos regiones: Beta I y Beta II (mayor frecuencia). Beta II aparece durante activación intensa del sistema nervioso central (SNC), disminuyendo entonces las ondas beta I.

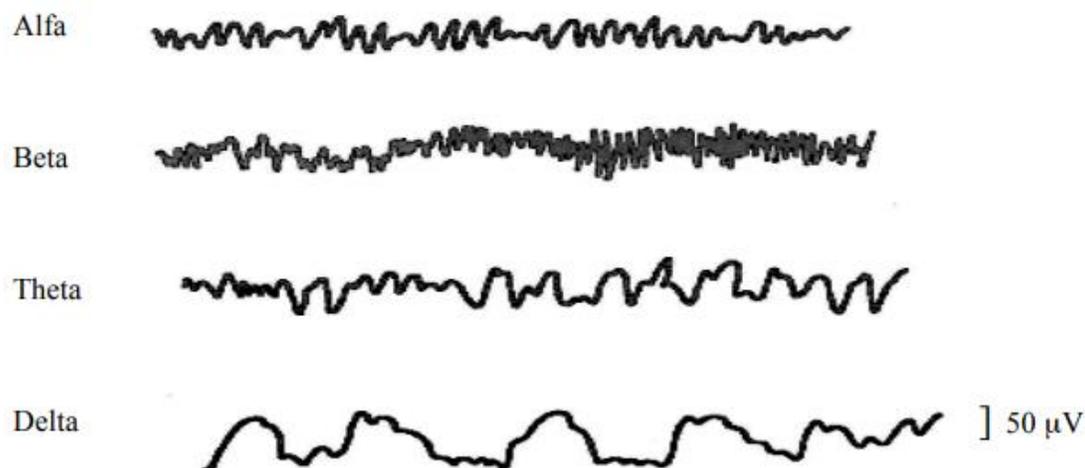


Fig. 2.1 Tipos de ondas del electroencefalograma [19]

Partiendo de la clasificación de las bandas espectrales de las ondas cerebrales, se plantea que las frecuencias más altas, en especial la onda beta, suelen ser más comunes en estados cerebrales anormales como la epilepsia, es decir, hay un cambio de la energía de la señal en las bandas de frecuencia más bajas (ondas theta y alfa) a las más altas (ondas beta) antes y durante una convulsión epiléptica. Por lo que, reconocer el espectro de frecuencia de la señal brinda información más precisa sobre las actividades neuronales [21].

Además, con el propósito de extraer información del funcionamiento de los distintos sistemas del organismo, es necesario conocer los equipos que permiten medir las distintas señales biomédicas.

2.2.3 Equipos de medidas de biopotenciales

Dado que los potenciales bioeléctricos generados en el organismo son potenciales iónicos, es decir, son producidos por flujos de corrientes iónicas, es necesario convertirlos en potenciales electrónicos con la finalidad de obtener una medida eficiente. El dispositivo que convierte dichas corrientes iónicas en corrientes electrónicas es el electrodo [22].

Con la finalidad de medir el biopotencial en el cuerpo humano se pueden utilizar una amplia variedad de electrodos. Generalmente, las características de los electrodos dependen de la

corriente que los atraviesa, la forma de onda de la señal captada, su frecuencia, etc. No obstante, podemos distinguir entre la siguiente clasificación:

- **Microelectrodos:** utilizados para medir potenciales bioeléctricos cerca o dentro de una célula.
- **Electrodos superficiales:** utilizados para medir potenciales en la superficie de la piel.
- **Electrodos de aguja:** utilizados para atravesar la piel para registrar potenciales en una región local del cerebro o en un grupo de músculos específicos.

Ahora bien, como se afirma en [22], la actividad eléctrica se hace presente en diferentes partes del cuerpo humano, siendo el corazón, cerebro y musculo, los lugares más importantes en donde se hace relevante la medición de los biopotenciales para fines médicos y experimentales. En consecuencia, los dispositivos por excelencia para medir el biopotencial es los puntos de mayor interés son el electrocardiograma (ECG), electroencefalograma (EEG), electrocorticograma (EcoG) y el electromiograma (EMG).

En [19], [23] y [24] se definen los siguientes equipos de medidas biomédicas:

El electrocardiograma: es la representación gráfica de la actividad eléctrica del corazón. Refleja la propagación de la despolarización y repolarización eléctricas de las diversas cámaras contráctiles del corazón. El termino ECG esta específicamente reservado al caso de captación de la actividad con electrodos superficiales. En el caso de la captación interna se denomina electrograma cardiaco.

El electroencefalograma: es la representación gráfica del biopotencial de las neuronas del encéfalo, el cual está constituido por el cerebro, el cerebelo y el tallo cerebral, por lo que el análisis de la actividad eléctrica registrada sugiere la normalidad del cerebro o la existencia de determinados trastornos en dichas zonas.

El electrocorticograma: es un procedimiento intraoperatorio que permite el registro de la actividad eléctrica cortical, mediante la colocación de electrodos directamente sobre la superficie del cerebro, ampliamente utilizado para identificar las zonas epileptogénicas durante el tratamiento quirúrgico de pacientes con epilepsia severa.

El electromiograma: registra la actividad eléctrica generada por el músculo esquelético. En otras palabras, es el conjunto de pruebas neurofisiológicas dirigidas al estudio del sistema nervioso periférico y el músculo. La señal puede ser obtenida mediante electrodos superficiales localizados sobre la piel.

En este sentido se comprende que determinar el equipo correcto para medir las señales biomédicas relevantes con la problemática que presenta este proyecto es indispensable. Por consiguiente, recrear el estado de epilepsia para su estudio es crucial, por lo que se debe examinar los diferentes métodos de inducción a la epilepsia en modelos animales.

2.2.4 Métodos experimentales de inducción al estatus epiléptico

Existen numerosas formas de modelar a la epilepsia en un laboratorio, tomando en cuenta que, los modelos animales contribuyen a la determinación de los efectos tanto del estado epiléptico como de las crisis breves recurrentes sobre el cerebro. En [2] se abordan algunos modelos químicos ampliamente empleados en ratas, así como algunos modelos que no emplean sustancias químicas y que han sobresalido recientemente:

Ácido kaínico: el kainato o ácido kaínico (AK) es un agonista de los receptores glutamatérgicos ionotrópicos del mismo nombre, los cuales son particularmente abundantes en el hipocampo. Si bien es cierto el repertorio conductual que produce la aplicación del AK varía según la edad de la rata, existe coincidencia en la presentación de crisis parciales secundariamente generalizadas, presentando extenso daño hipocampal y cortical.

Pilocarpina y Litio-Pilocarpina: La pilocarpina es un alcaloide con acción colinérgica, actuando principalmente a nivel de los receptores muscarínicos M1, produciendo efectos convulsionantes. También es posible administrar la Pilocarpina precedida por una inyección de cloruro de litio, con la finalidad de aminorar las afectaciones periféricas de la pilocarpina.

Las crisis convulsivas, así como la neuropatología que se genera por las convulsiones en ambos protocolos son comparables. La principal ventaja de este método es su alta eficiencia para generar las convulsiones y la baja mortalidad.

Pantilentetrazol: el pentilentetrazol (PTZ) es un antagonista no competitivo de los receptores $GABA_A$. Las manifestaciones conductuales causadas por el PTZ lo hacen un modelo de crisis generalizadas. Se trata de un modelo fácil de usar y las crisis producidas generan baja mortalidad.

Glutamato monosódico: consiste en la aplicación subcutánea de una dosis de sal de glutamato. Este modelo ha sido ampliamente usado para evaluar mecanismos de muerte neuronal por excitotoxicidad, aunque recientemente se ha enfatizado su uso como un modelo de convulsiones, produciendo un patrón conductual de convulsiones tónicoclónicas generalizadas.

Hipertermia: consiste en producir hipertermia (38-45°C corporales), lo cual a su vez desencadena las convulsiones. Sobresalen procedimientos como los siguientes:

- Exposición de las ratas a microondas durante 10 min.
- Inmersión del sujeto experimental en agua caliente a 45°C durante 4 min, protocolo que causa crisis tónicoclónicas.
- Exposición de las ratas al aire caliente (40.5- 42.5°C) emitido por una secadora de cabello durante 30 min.

Postdescargas epilépticas generadas eléctricamente: las crisis generadas por estimulación eléctrica presentan la ventaja de que el agente epileptogénico actúa exclusivamente durante la aplicación de la corriente. Dichas crisis generadas eléctricamente representan un modelo de crisis parciales complejas y se dividen en dos tipos de acuerdo con el modo de estimulación:

- Generadas por la estimulación del cerebro completo (crisis por choque eléctrico).
- Generadas por estimulación local de una estructura cerebral definida.

Kindling eléctrico: es un modelo experimental descrito a finales de la década de los 60's por Goddard y colegas, y consiste en la estimulación eléctrica repetida en regiones cerebrales

específicas, utilizando pulsos de 1 ms de duración a 60 Hz, durante 1s, lo que conlleva al desarrollo de crisis parciales complejas.

El proceso de inducción de actividad epiléptica con el método *Kindling* a un área localizada se lleva a cabo principalmente en la amígdala y el hipocampo [2], definidas como zonas epileptogénica. En la Fig. 2.2 se puede observar la ubicación anatómica de dichas zonas.

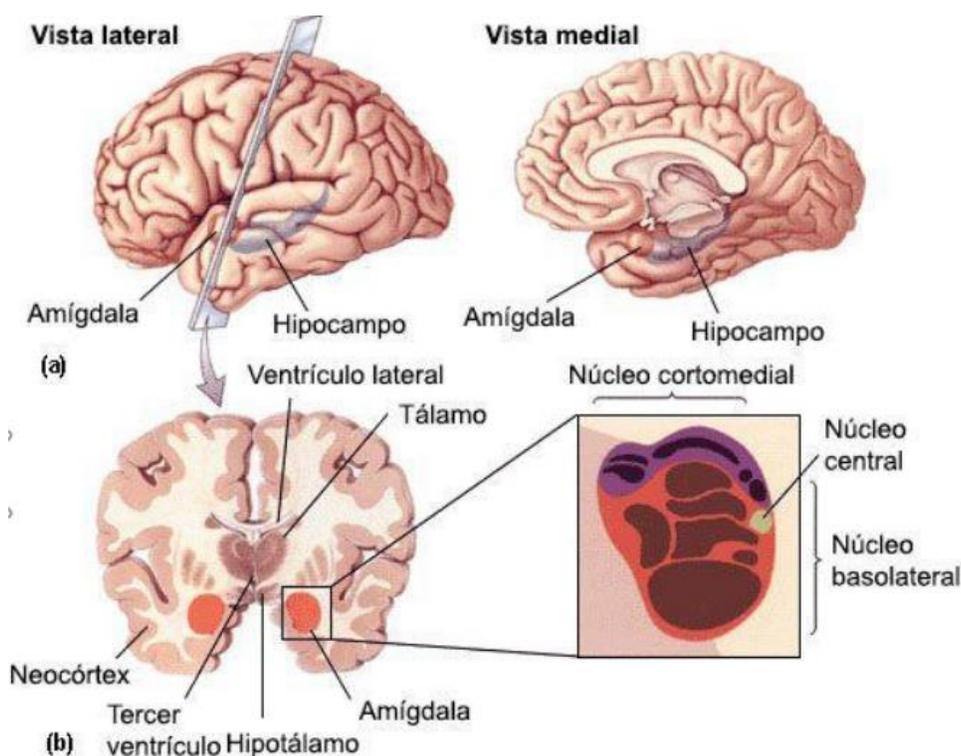


Fig. 2.2 Ubicación anatómica de la amígdala cerebral y el hipocampo [25]

Se comprende que el hipocampo es un componente importante del sistema límbico que se ubica al interior del lóbulo temporal y se articula desde el hipotálamo hasta la amígdala. Esta formado fundamentalmente por células piramidales y se trata de la región más epileptogénica del cerebro, debido a que es particularmente susceptible a la anoxia que puede ocurrir durante la epilepsia del lóbulo temporal [26].

Por lo que se refiere a la amígdala del cerebro, esta reúne diversas ventajas que la hacen apropiada para estudios fisiopatológicos relevantes a efectos de esta investigación.

En tal sentido, la amígdala es una estructura subcortical situado en la parte interna del lóbulo temporal medial del cerebro. Posee conexiones con la mayoría del encéfalo, siendo un núcleo de especial relevancia que puede afectar al conjunto del sistema nervioso y en la funcionalidad del organismo [27].

Ahora bien, la amígdala está conformada por tres grupos de núcleos fundamentales conectados entre sí y con un patrón específico de proyecciones con otras regiones cerebrales. En [25] y [28] se definen estos núcleos como:

- Núcleos cortico-mediales: está involucrado en el procesamiento de la información proveniente de las feromonas que hay en el exterior, y está relacionado con el estado de activación hormonal del organismo, coordinándose con este.
- Núcleo central: forma parte del sistema límbico y está relacionado con la expresión de las respuestas emocionales. Además, es capaz de mandar proyecciones nerviosas a muchas áreas del cerebro.
- Grupo de núcleos basolaterales: son un conjunto de núcleos que también forman parte del sistema límbico, y están asociados a la asignación de contenido emocional a los estímulos.

En relación con el principio de funcionamiento de la amígdala, en [29] se afirma que el cerebro está formado por una red muy compleja de circuitos excitatorios e inhibidores que mantienen un equilibrio en la actividad de la red. La hiperexcitabilidad surge cuando hay un desequilibrio entre excitación e inhibición, dando como resultado deficiencias o interrupción en el control del sistema inhibitorio. En el caso de la amígdala, su hiperexcitabilidad la relaciona fuertemente con trastornos neurológicos, como la epilepsia.

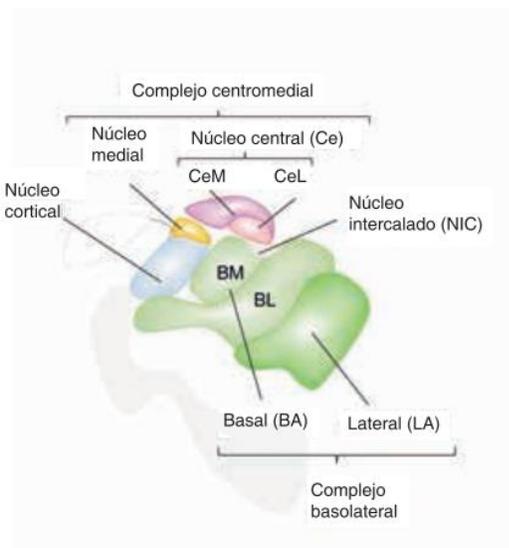


Fig. 2.3 Núcleos de la amígdala [11]

En otro orden de ideas, es importante conocer el estado del arte de los métodos de inhibición de la epilepsia invasivo y no invasivo, con la finalidad de reconocer para qué posible tratamiento puede ser un aporte esta investigación.

2.2.5 Métodos de inhibición de la epilepsia

Según [30] y [31] los métodos de inhibición de las crisis epilépticas son:

- Mecanismo propio del cerebro
- Tratamiento farmacológico.
- Cirugía.
- Dieta cetogénica.
- Estimulación del nervio vago.
- Estimulación cerebral profunda.

Mecanismo propio del cerebro: la actividad epileptiforme se genera por una anormal y excesiva sincronización de las descargas de una red neuronal, que posteriormente se propaga a través de subredes conectadas entre sí. El mecanismo de acción principal del cerebro actúa por

naturaleza y produce una interrupción eléctrica aguda de la actividad sincrónica consiguiendo así la detención progresiva de las crisis epilépticas.

Tratamiento farmacológico: constituye el tratamiento básico de todos los pacientes con epilepsia y engloba los llamados fármacos antiepilépticos (FAE). Es un método no invasivo que busca eliminar la aparición de crisis con los mínimos efectos secundarios posibles. Están diseñados para restaurar el equilibrio químico de las neuronas y tomados con regularidad pueden reducir y controlar las crisis epilépticas. Este método logra un control de las crisis en aproximadamente el 70% y el 80% de los pacientes, sin embargo, no curan las crisis epilépticas.

Cirugía: es un método invasivo en el cual, el cirujano extrae la parte del cerebro que provoca las convulsiones. Generalmente se recurre a la cirugía cuando los pacientes no logran remitir sus crisis epilépticas a través de tratamientos farmacológicos, sin embargo, los neurólogos requieren asegurarse de ciertas condiciones previas. La intervención quirúrgica se realiza siempre y cuando las convulsiones sean del tipo focales, es decir, se originan en una zona pequeña y bien definida del cerebro, la cual es posible localizar y extirpar, y mientras dicha zona no interfiera con las funciones vitales, como el habla, el lenguaje, la función motora, la visión o la audición.

Dieta cetogénica: la finalidad de este método es adoptar un plan alimenticio estricto basado en cantidades altas de grasas, escasas proteínas y bajas de hidratos de carbono, pues se ha demostrado que produce un cambio químico en el cuerpo, ayudando a controlar las crisis epilépticas. Es un método no invasivo, mayormente utilizado durante la infancia.

Estimulación del nervio vago: es un tratamiento invasivo empleado en casos de crisis focales que no se pueden controlar con medicación y donde no existe ninguna lesión cerebral evidenciable. Está basado en la implantación de un dispositivo llamado estimulador del nervio vago bajo la piel del pecho, similar a un marcapasos. Dicho dispositivo envía pulsos de energía eléctrica a través del nervio vago hacia el cerebro. Este método ha demostrado entre un 20% a un 40% de eficacia en la inhibición de convulsiones epilépticas.

Estimulación cerebral profunda: es un método invasivo en el cual, los cirujanos implantan electrodos en una parte específica del cerebro, por lo general, en el tálamo. Los electrodos están conectados a un generador implantado en el tórax, que envía pulsos eléctricos constantes al cerebro en intervalos temporizados, reduciendo así las convulsiones epilépticas.

Neuroestimulación receptiva: es un método invasivo basado en la implantación de dispositivos de estimulación receptiva, similar a un marcapasos, que analizan los patrones de la actividad cerebral para detectar las convulsiones cuando comienzan y aplican una descarga eléctrica o un medicamento para detenerla antes de que cause daños. Las investigaciones demuestran que este tratamiento tiene menos efectos secundarios y puede proporcionar alivio de las convulsiones a largo plazo.

Por otro lado, en relación con el estudio de los biopotenciales, se debe mencionar las principales bases teóricas de adquisición de datos con el propósito de idear el sistema adecuado que permita documentar y analizar el fenómeno de interés, en este caso, las ondas post epilépticas.

2.2.6 Adquisición de datos

La adquisición de datos consiste en tomar una o un conjunto de señales, y convertirlas en tensiones y/o corrientes eléctricas, para su posterior digitalización. Usualmente los sistemas de adquisición de biopotenciales tienen alta impedancias de entrada, pero, aun así, existe un flujo de corriente en la entrada del circuito de adquisición generada por iones en el cuerpo, por lo que es necesario el uso de un transductor que sirva como interfaz entre el cuerpo y el sistema de adquisición [18].

Ahora bien, [32] define la adquisición de datos (DAQ) como el proceso de medir un fenómeno eléctrico o físico como voltaje, corriente, temperatura, presión o sonido. Dicho proceso está constituido por sensores, hardware de medidas DAQ y una PC con software programable.

Por su parte, [18] explica que el sistema de adquisición de datos en el campo de la instrumentación biomédica está compuesto por una cantidad física, propiedad o condición, un sensor o transductor, un sistema de acondicionamiento y un sistema de visualización. En el caso de la adquisición de biopotenciales, la cantidad física es el biopotencial como tal y los

sensores o transductores son los electrodos de biopotenciales. El sistema de acondicionamiento está formado por el amplificador de biopotenciales y una etapa de procesamiento de la señal que puede ser análoga o digital. En el caso de los amplificadores de biopotenciales, su función principal es amplificar y filtrar señales biológicas, las cuales son muy débiles y de baja amplitud para ser procesadas. Para que el amplificador de biopotenciales sea funcional se debe cumplir los siguientes requerimientos:

- Alta impedancia de entrada (mínimo 10 M Ω).
- Debe tener protección al organismo de estudio: las corrientes eléctricas que pasen desde el amplificador hacia el paciente pueden resultar en consecuencia graves debido a microchoques o macrochoques.
- Alto factor de rechazo al modo común (CMRR, por sus siglas en inglés) para atenuar la interferencia de 50 o 60 Hz.
- No incorporar ruido a la señal para mejorar su calidad.

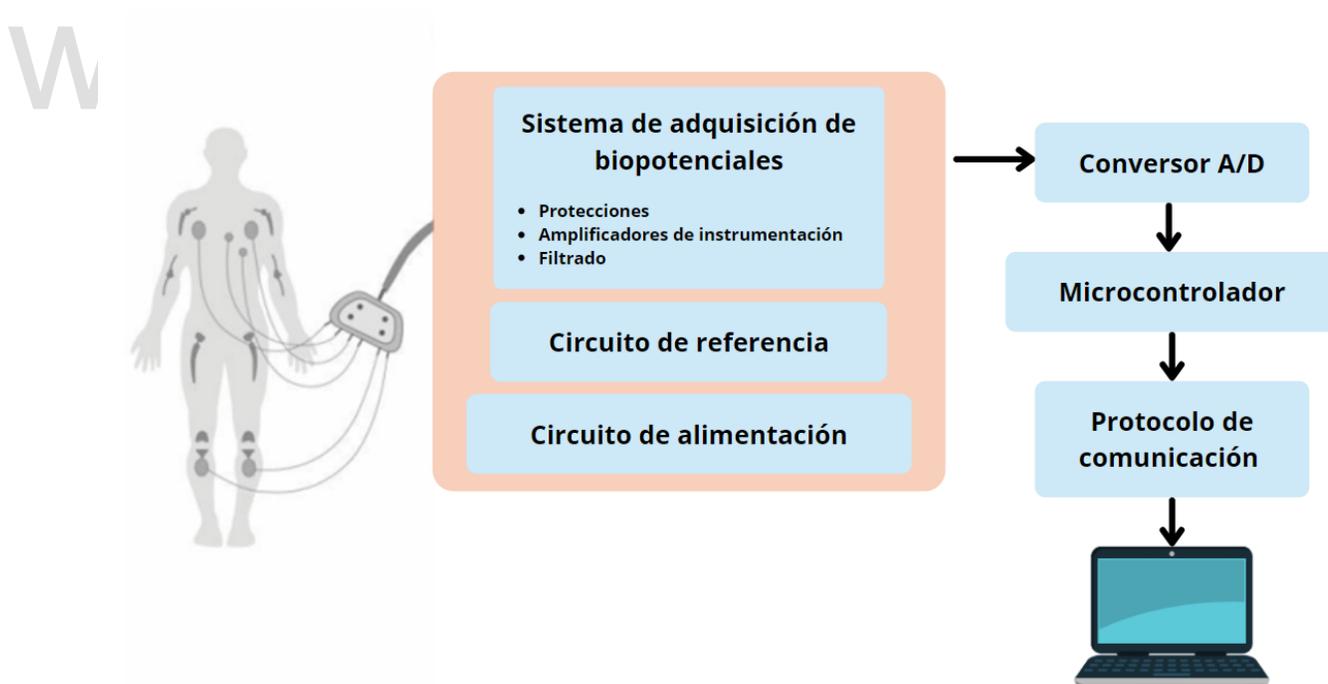


Fig. 2.4 Diagrama de sistemas generalizado para la adquisición de biopotenciales

Por otro lado, la etapa de procesamiento de la señal depende altamente de las características de cada tipo de biopotencial. De manera general existen dos formas de abordar el procesamiento y adquisición de los biopotenciales. La primera solución es utilizar amplificadores de bajo ruido, amplificar significativamente la señal y utilizar conversores análogo-digital de baja resolución. La otra solución es dar menos ganancia a la señal y utilizar conversores análogo-digital de alta resolución. Para ambas soluciones se debe tener en cuenta con el conversor análogo-digital es el uso de multiplexores y muestreo secuencial o muestro simultaneo [33].

Sin embargo, el sistema de acondicionamiento puede ser reemplazado por dispositivos integrados de aplicación específica para el registro de biopotenciales. La función del dispositivo integrado o circuito de aplicación específica es acondicionar la señal que se toma del sensor y realizar una conversión análogo-digital. Esto gracias a los avances tecnológicos, que hace posible omitir el diseño de sistemas de instrumentación de adquisición de biopotenciales de manera discreta, es decir, con componentes separados [18].



Fig. 2.5 Diagrama generalizado para la adquisición de biopotenciales con circuitos integrado de aplicación específica

En función de lo planteado, el circuito integrado de aplicación específica más utilizado para aplicaciones biomédicas son los dispositivos DAQ o tarjetas de adquisición de datos. Dichas tarjetas están conformadas por tres partes principales: el circuito de acondicionamiento de señales, el convertidor análogo-digital y finalmente, el bus del ordenador. Los dispositivos DAQ actúan como la interfaz entre la computadora y señales físicas, es decir, la información recaudada por el sensor se pasa al DAQ, el cual se encarga de transformar la información en códigos digitales con el fin de comprenderlos a partir de un software programable [24]. A continuación, se describen las características más relevantes de una tarjeta de adquisición:

- Numero de canales analógicos
- Velocidad de muestreo
- Resolución
- Rango de entrada
- Capacidad de temporización
- Forma de comunicarse con el computador

En principio, existen numerosas tarjetas DAQ en el mercado capaces de ofrecer las funcionalidades necesarias para aplicaciones como registro de datos simple, medidas portátiles y experimentos académicos de laboratorio. Específicamente, la empresa National Instruments ofrece una variedad de dispositivos de adquisición de datos multifunción para el análisis y procesamiento de señales biomédicas, compatibles con softwares como *LabVIEW* y *MATLAB*. Entre las cuales se destacan:

- USB-6008/6009.
- Lab-PC+.

Además, con la finalidad de obtener una adquisición de datos válida, es necesario analizar las numerosas interferencias electromagnéticas que pueden interferir con la medición y los métodos de inhibición.

2.2.7 Interferencias electromagnéticas

El ruido se define como toda señal no deseada superpuesta a la señal útil que queremos obtener. Tomando esto en cuenta, la caracterización del ruido a eliminar depende en gran medida del tipo de bioseñal que deseemos obtener [19].

En [34] se afirma que, en el campo de la medicina, la influencia de campos eléctricos ocasiona algún tipo de alteración funcional en los equipos médicos. Las interferencias magnéticas representan un impacto negativo en la salud del paciente y en la calidad del servicio prestado. Los disturbios electromagnéticos ocasionan ruidos en la señal, enmascaramiento de datos y despliegue de falsos positivos.

En general, es posible clasificar las fuentes de interferencia en dos grupos: internas y externas al sistema de medida. Según [19], las fuentes de interferencias externas son aquellas que no proceden directamente del cuerpo humano ni del propio equipo de medida. Los modos de acoplamiento son de cuatro tipos:

- **Resistivo:** aparece al utilizar impedancias comunes, por lo que se producen diferencias de potencial entre referencias.
- **Capacitivo:** las interferencias se transmiten a través de la capacidad existente entre los conductores del sistema y de la fuente de interferencias.
- **Inductivo:** las interferencias se producen debido a las inductancias mutuas que existen entre el sistema y la fuente de interferencias, por la que circula una corriente que crea un campo magnético.
- **Radiación electromagnética:** equivalente a los acoplamientos capacitivos e inductivos generados por campos electromagnéticos.

Por otro lado, el problema más común en el registro de biopotenciales se puede presentar cuando la señal medida se degrada por interferencia de línea de potencia de 60 Hz, de modo que a veces, la señal es completamente enmascarada por este tipo de ruido. Sin embargo, aunado a este problema, existen otros factores que deben considerarse previamente al momento de llevar a cabo una investigación de esta índole. Tomando esto en cuenta, es

importante mencionar que las fuentes de interferencias electromagnéticas más comunes pueden provenir de las siguientes variables:

- **Interferencia de la red:** esta interferencia puede poseer componentes eléctricos y magnéticos. El campo magnético induce una tensión al atravesar el lazo creado por los cables, el paciente y el amplificador, que es proporcional a la intensidad del campo y al área encerrada. Mientras que el campo eléctrico induce una corriente de desplazamiento a través de la capacidad existente entre el paciente y la línea de distribución de red que provoca una caída de tensión entre los electrodos. Induce también otra corriente de desplazamiento a través de la capacidad entre los cables y la red que provoca una caída de tensión en la impedancia electrodo-piel. Por último, estas corrientes provocan una diferencia de potencial entre el paciente y tierra que corresponde generalmente a una señal en modo común a la entrada del amplificador, pero que debido a desigualdades entre las impedancias de los electrodos puede convertirse en parte en señal diferencial.
- **Ausencia de conexión a tierra:** un proyecto basado en instrumentación biomédica requiere una correcta conexión a tierra con la finalidad de evitar que existan diferencias de potencial peligrosas, y que, al mismo tiempo, permita el paso a tierra de las corrientes remanentes. De esta manera, no solo se aseguró una medición correcta del biopotencial, sino que también se protegen los equipos a utilizar y se proporciona seguridad a las personas dentro de la investigación y a los individuos de prueba
- **Electricidad estática:** Este ruido triboeléctrico está causado por el movimiento del paciente o del personal cercano debido a la fricción, y puede producir corrientes que atraviesan al paciente y los electrodos, provocando caídas de tensión que pueden ser importantes si las impedancias de éstos son altas.
- **Interferencia de radiofrecuencia:** Los equipos electromédicos, como el electrobisturí y fuentes de equipos médicos, en el entorno del paciente son los principales responsables de interferencias de radiofrecuencia en el caso de bioamplificadores. También debe considerarse equipos como teléfonos celulares, artefactos

electrodomésticos, sistemas de seguridad, líneas de alto voltaje, transformadores y motores eléctricos.

Mientras que las fuentes de interferencias internas pueden provenir de otras señales o sistemas fisiológicos. Por ejemplo, durante la captación de un biopotencial determinado, la aparición de otros bioseñales puede considerarse interferencia [19].

Por consiguiente, se requiere mencionar algunas técnicas utilizadas para la eliminación de interferencias durante la obtención de biopotenciales.

2.2.8 Técnicas de inhibición de interferencias electromagnéticas

Con la finalidad de inhibir las interferencias electromagnéticas, [19] recomienda tomar en cuenta las siguientes técnicas:

- Localizar los electrodos según el tipo de medición de la manera más óptima para minimizar el ruido.
- Utilizar cable apantallado para conectar los electrodos.
- Respecto a la interferencia de red, su componente magnética es proporcional al área encerrada por los cables de los electrodos, el amplificador y el paciente, además de la intensidad del campo. Deberá, pues, alejarse al paciente y al sistema de la proximidad de la fuente (disminución de la intensidad del campo), y reducirse el área trenzando o disponiendo paralelos y juntos los cables.
- Las interferencias de radiofrecuencia suelen ser minimizadas con técnicas como son la inclusión de filtros de radiofrecuencia en serie con las entradas del amplificador, apantallamiento de los cables, puestas a tierra en un único punto y utilización de filtros elimina-banda de la frecuencia de red.
- Debe existir una correcta elección de las tomas de tierra, que, para el caso de baja frecuencia, debe realizarse en un único punto para evitar diferencias de potencial entre referencias.
- Las interferencias electromagnéticas pueden minimizarse con el uso adecuado de un blindaje que actúe como jaula de Faraday.

Tomando en consideración el último punto, es conveniente recalcar, para efectos de esta investigación, la definición y el funcionamiento de una jaula de Faraday.

Jaula de Faraday: es una caja metálica que posee un blindaje electromagnético que protege de los campos eléctricos estáticos, ya que en su interior el campo eléctrico es nulo. Según [35] el blindaje electromagnético se define como el alojamiento metálico colocado alrededor de un circuito o componente para suprimir un campo eléctrico o magnético dentro de la región circundada.

El funcionamiento de una jaula de Faraday se basa en las propiedades de un conductor en equilibrio electrostático; la caja metálica se coloca en presencia de un campo eléctrico externo, donde las cargas positivas se quedan posicionadas en la capa exterior de la jaula. Cuando las cargas en el interior comienzan a desplazarse, crean un campo eléctrico de sentido contrario al campo externo de la caja, en consecuencia, el campo eléctrico resultante en el interior del conductor es nulo, por lo que ninguna carga puede atravesarla. Este fenómeno se le denomina apantallamiento eléctrico [36].

Por lo tanto, el aspecto más importante a tener en cuenta al momento de construir una jaula de Faraday es que el material sea un buen conductor eléctrico. De esta manera la jaula se convierte en una superficie equipotencial y el campo eléctrico en su interior es nulo.

Otro punto para tratar es el software programable, que como fue mencionado anteriormente, posterior al sistema de acondicionamiento debe existir un sistema de programación que procese la señal y de posibilidad a su visualización.

2.2.9 Software de adquisición y procesamiento de datos

En general, existen diferentes plataformas de desarrollo destinadas a ingenieros para desarrollar sus propios sistemas de adquisición y procesar datos. Sin embargo, se explicarán las dos más importantes para esta investigación:

LabVIEW: la compañía de National Instruments (NI) ofrece una amplia gama de interfaces de hardware que son compatibles con su sistema de software *LabVIEW*. Este se define como un software de ingeniería de sistemas para aplicaciones que requieren pruebas, medidas y control con acceso rápido a hardware e información de datos. La mayor ventaja de este software es que ofrece un enfoque de programación gráfica que ayuda a visualizar cada aspecto de la aplicación a realizar, haciendo posible también la configuración del hardware, datos de medidas y depuración [37].

La ejecución de los procesos en *LabVIEW* requiere las siguientes características recomendadas en un computador:

- Procesador de Pentium III/Celeron 866 MHz o equivalente mínimo.
- Memoria RAM de 1 GB.
- Sistema operativo 10 x 64 bits.
- Espacio en disco duro 5 GB.
- 1 puerto USB 2.0.

MATLAB: *MATLAB* es un entorno de programación de lenguaje de alto nivel desarrollado por MathWorks para el desarrollo de algoritmos, análisis de datos, visualización y cálculo numérico. Presenta como ventaja un entorno de escritorio optimizado y gráficas integradas que facilitan la visualización de los datos y la obtención de información a partir de ellos. Además, proporciona numerosas herramientas, entre ellas, un potente marco de *deep learning* para diseñar e implementar redes neuronales profundas con algoritmos y aprendizajes supervisado haciendo posible realizar aplicaciones que involucren reconocimiento de patrones mediante la clasificación de datos de entrada [38].

La ejecución de los procesos en *MATLAB* requiere las siguientes características recomendadas en un computador:

- Procesador de Intel o AMD x86-64.
- Memoria RAM de 4 GB.
- Sistema operativo 7.
- Espacio en disco duro 5 GB.

A continuación, partiendo de la necesidad del procesamiento de datos, es imperante el estudio de las redes neuronales y sus elementos.

2.1.1 Redes neuronales artificiales

La teoría y modelado de las redes neuronales artificiales (RNA) está inspirada en la estructura y funcionamiento de los sistemas nerviosos, donde la neurona es el elemento fundamental. En efecto, se trata de redes interconectadas masivamente en paralelo de elementos simples y con organización jerárquica, las cuales intentan interactuar con los objetos del mundo real del mismo modo que lo hace el sistema nervioso biológico [12].

Según [39], las RNA imitan la estructura hardware del sistema nervioso, y emulan la respuesta no lineal de las neuronas biológicas, que se propaga a través del conjunto compuesto por millones de ellas organizadas en capas, constituyendo un sistema con funcionalidad propia.

En el campo de las redes neuronales es obligatorio entender su estructura y funcionamiento de cada componente, descritas a continuación.

2.2.10 Elementos de una red neuronal artificial

En [12] se explica que el modelo de red neuronal consta principalmente de las neuronas. Se caracterizan por recibir los estímulos externos, tomando así la información de entrada. Dicha información se transmite a ciertos elementos internos que se ocupan de su procesado. Una vez finalizado el periodo de procesado, la información llega a las unidades de salida, cuya misión es dar la respuesta del sistema.

La neurona artificial está caracterizada en todo momento por un valor numérico denominado valor o estado de activación. Además, existe una función de salida que transforma el estado actual de activación en una señal de salida. Dicha señal es enviada a través de los canales de comunicación a otras unidades de la red. En estos canales, la señal se modifica de acuerdo con la conexión entre neuronas (sinapsis) según una determinada regla; el peso. Cada sinapsis entre neuronas está ponderada por un peso, el cual hace que la red adquiera conocimiento [12].

La distribución de neuronas dentro de la red se realiza formando niveles o capas de un número determinado de neuronas cada una, constituidas por las capas de entrada, de salida y las ocultas. Las capas de entradas son aquellas que reciben la información directamente de las fuentes externas de la red. Las neuronas internas se encuentran ubicadas en la red oculta, interconectadas de distintas maneras, y es a partir de donde se derivan las diferentes tipologías de redes neuronales [12].

2.2.11 Tipos de redes neuronales

Según [12] la clasificación de las redes en términos topológicos se suele distinguir entre las redes con una sola capa o nivel de neuronas y las redes con múltiples capas. En el primer caso, las redes monocapa, se establecen conexiones laterales entre las neuronas que pertenecen a la única capa que constituye la red. Estas se utilizan típicamente en tareas relacionadas con lo que se conoce como auto asociación, por ejemplo, para regenerar informaciones de entrada que se presentan a la red incompletas o distorsionadas. En el caso de las redes multicapa, son aquellas que disponen de conjuntos de neuronas agrupadas en varios niveles o capas. Normalmente, todas las neuronas de una capa reciben señales de entrada de otra capa anterior, más cercana a la entrada de la red, y envían las señales de salida a una capa posterior, más cercana a la salida de la red. A estas conexiones se les denomina hacia adelante o *feedforward*. Sin embargo, también existe la posibilidad de conectar la salida de las neuronas de capas posteriores a las entradas de las capas anteriores, a estas conexiones se les denomina hacia atrás o *feedback*.

Tomando en cuenta el mecanismo de aprendizaje de la neurona, proceso en el cual una red neuronal modifica sus pesos en respuesta a una información de entrada, es posible encontrar dos clasificaciones: las redes neuronales con aprendizaje supervisado y no supervisado. En el

primer caso, están caracterizadas porque el proceso de aprendizaje se realiza mediante un entrenamiento controlado por un agente externo, conocido como supervisor o maestro, que determina la respuesta que debería generar la red a partir de una entrada determinada. Mientras que el aprendizaje no supervisado no requiere influencia externa para ajustar los pesos de las conexiones entre sus neuronas [12].

Cabe destacar que, el aprendizaje supervisado más común es el de retropropagación. En este tipo de entrenamiento, el error es comparado con la respuesta correcta, por lo que es retroalimentado a través de la red. Utilizando esta información, el algoritmo ajusta las ponderaciones de cada conexión, para reducir el valor de la función de error en cantidades pequeñas. Después de repetir este proceso por un número suficientemente grande de ciclos de entrenamiento, la red normalmente convergerá en algún estado donde el error de los cálculos sea pequeño o porque ha alcanzado la mayor cantidad de iteraciones. En este momento se considera que la red neuronal ha aprendido una función objetivo en específico [12].

www.podigital.uisa.ve

CAPÍTULO III

IDENTIFICACIÓN DE LA FASE POST EPILEPTICA

En este capítulo se abordarán las medidas implementadas para la eliminación de interferencias electromagnéticas, así como también se expone el procedimiento y los parámetros aplicados para el diseño del sistema de adquisición de las ondas y software de procesamiento de datos del biopotencial en la amígdala basolateral del cerebro de la rata Wistar. Y, por último, se explica el procedimiento de detección y clasificación de las ondas post epilépticas utilizando redes neuronales artificiales.

3.1 NATURALEZA DE LA INVESTIGACIÓN

Partiendo de los métodos de inhibición de epilepsia, de todos los citados el capítulo anterior, esta investigación será la punta de lanza para identificar si es posible o no, emular el mecanismo propio del cerebro encargado de restablecer el asincronismo en el cerebro luego de una crisis epiléptica. Para ello, se partirá de la investigación que se está realizando en el laboratorio de Fisiología de la Conducta, en la Facultad de Medicina, donde aplicando el método *Kindling* se induce epilepsia en ratas Wistar [1].

Ahora bien, para iniciar con el desarrollo de la investigación, como primer paso para emular el mecanismo endógeno del cerebro de la rata, se debe eliminar las fuentes de posible perturbación de la onda obtenida del cerebro de la rata. Recordando que todo sistema de adquisición está conformado por una cantidad física, un sensor o transductor, un sistema de acondicionamiento y un sistema de visualización, sin embargo, para la adquisición de la señal más pura posible del cerebro de la rata, se omitieron elementos del acondicionamiento comúnmente usados como los amplificadores de biopotenciales y los filtros, con el fin de evitar cualquier modificación no deseada de la señal.

Finalmente, en el sistema de adquisición de la señal del cerebro de la rata, el sistema de acondicionamiento fue reemplazado por un dispositivo integrado de aplicación específica para el registro de biopotenciales, mejor conocida como tarjeta de adquisición, cubriendo los requisitos de una correcta medición del biopotencial.

Siguiendo este orden de ideas, se exponen los pasos a seguir para lograr la inhibición de interferencias electromagnéticas.

3.2 PROTECCIÓN CONTRA INTERFERENCIAS ELECTROMAGNÉTICAS

En el proceso de diseño del sistema de adquisición de los biopotenciales, es un requerimiento importante eludir cualquier interferencia interna o externa. Para alcanzar esto, la prevención contra interferencias electromagnéticas comenzó desde la verificación de las instalaciones eléctricas y la puesta a tierra que principalmente proporciona protección contra sobretensiones transitorias (protección a los equipos) y protección diferencial contra contactos indirectos (protección de personas).

De igual manera, se consideró todas aquellas perturbaciones que puedan afectar las mediciones del biopotencial, ya sea externo, como interferencias de radiofrecuencia, o de su misma naturaleza, como las señales de modo común.

A continuación, se explican las medidas tomadas para evitar perturbaciones en la medición del biopotencial y para proteger el sistema de adquisición de datos, los equipos médicos y al personal de investigación e individuos de prueba.

3.2.1 Interferencias de la red

En primer lugar, se procedió a realizar una revisión de los circuitos ramales del Laboratorio de Fisiología de la Conducta de la Universidad de Los Andes, en la cual se verificó el correcto funcionamiento de las fases provenientes de la red de suministro eléctrico y la respectiva conexión a tierra.

En segundo lugar, se chequeó que la sección de los conductores correspondiera a las normas del código Eléctrico Nacional, en específico el cable de conexión a tierra.

En tercer lugar, se comprobó el correcto funcionamiento de todos los tomacorrientes en el laboratorio donde se realiza el experimento, verificando todas las conexiones a tierra para asegurar la eliminación de las componentes de frecuencias parasitas que se puedan acoplar al circuito de adquisición de biopotenciales y garantizar la seguridad de las personas frente a cargas estáticas.

Por último, se verificó que todos los equipos eléctricos a utilizar en el experimento estuvieran correctamente conectados a tierra.

Al mismo tiempo, con el fin de proteger el circuito de las perturbaciones de radiofrecuencia, como los equipos electromédicos, teléfonos celulares, sistemas de iluminación con lámparas fluorescentes y fuentes de equipos médicos, se erradicaron con la construcción de una jaula de Faraday.

3.2.2 Construcción de la jaula de Faraday

Con la finalidad de eliminar las perturbaciones electromagnéticas en la toma de los biopotenciales cerebrales en las ratas Wistar, se construyó una jaula de Faraday tomando en cuenta lo siguiente:

- El blindaje electromagnético puede realizarse mediante el uso de láminas o mallas eléctricas. En este caso, se optó por construir una caja con láminas de material conductor para garantizar una mejor protección y consiguiendo así, una atenuación tanto en altas como en bajas frecuencias. Dicha caja, se encuentra completamente sellada con remaches para asegurar la unión entre las intersecciones, a excepción de una puerta, realizada con el material del blindaje y que de igual manera se ajusta al cerrar, siendo necesaria para ingresar el individuo y cualquier otra herramienta necesaria para los experimentos.
- Conociendo que el individuo de investigación debe estar dentro de la jaula por un periodo de tiempo que podría tomar desde unos minutos al día, a un día, en el caso de

futuras investigaciones que involucren micro diálisis, se agregó una ventana de 30x30 cm en la puerta, recubierta con tres (3) capas de malla metálica como respiradero y visor.

- Se considero un tamaño prudente para la jaula de Faraday que permitiera la libre movilidad de los equipos y el personal dentro del laboratorio. Así como también, se estimó espacio suficiente dentro de la jaula para acomodar en orden la caja de la rata y los diferentes equipos a utilizar, de manera que se pudiese observar con claridad los experimentos.
- Se instalaron conectores de cable coaxial tipo BNC para asegurar el blindaje al momento de requerir alimentación para equipos médicos o de instrumentos que deban ubicarse dentro de la jaula para los experimentos.
- Las pruebas por realizar requieren un cierto nivel de iluminación, por lo que se tuvo en cuenta la integración de alumbrado sin que afectara significativamente la protección contra interferencias.
- Se considero para aquellos dispositivos que cuenten con una fuente interna, una segunda caja metálica dentro de la jaula de Faraday para garantizar la protección contra interferencias electromagnéticas emitidas por los mismos.
- El blindaje debe permanecer conectado a la misma tierra del circuito eléctrico que penetra en el interior del mismo.

En los anexos 1 y 2 se muestran fotografías la jaula de Faraday construida para el experimento.

Debido a la naturaleza de esta investigación, en que se evitaron utilizar amplificadores y filtros para obtener la señal más pura del cerebro de la rata, se aplicaron otras maneras de solucionar y evitar el ruido en la captación de las señales bioeléctricas. Para ello, se asegura una correcta medición del biopotencial al considerar un electrodo diferencial que elimina la señal en modo común en el momento de adquirir las ondas.

3.2.3 Medición diferencial

Al momento de medir un biopotencial, la mayor fuente de interferencia interna es aquella que procede directamente del cuerpo del animal. Esta perturbación, generalmente conocida como interferencia de modo común, es producida por los acoplamientos capacitivos e inductivos con el animal, los cables y los electrodos. Para reducirla, se mantuvo el estándar de las investigaciones anteriores en el laboratorio de Fisiología de la Conducta de realizar mediciones de tipo diferencial, considerando un electrodo en la corteza del cerebro, con la finalidad de medir la señal del potencial del cerebro del animal, para ser comparada como una tensión continua de referencia. Esta señal, junto con la obtenida en el electrodo activo, se compensa eliminando la interferencia de modo común.

Igualmente, dado que el registro de un potencial bioeléctrico es casi siempre a bajas y medias frecuencias, con una entrada diferencial, se reduce el efecto de interferencias electromagnéticas externas.

Por último, se estudiaron las interferencias electromagnéticas producidas por el cableado.

3.2.4 Cableado

Se considero el desbalance producido por las corrientes acopladas en los cables que van desde el dispositivo de adquisición a los electrodos produciendo a su vez una tensión diferencial interferente. Por lo que se previno esta interferencia con la elección del cable.

En consecuencia, el cable utilizado para conectar los Amphenoles pin macho a la tarjeta de adquisición es un cable telefónico tipo TDI, compuesto por conductores de cobre recocido sólido, calibre 24 AWG (0,5 mm) aislado con PVC, cableado en 3 pares, cinta aluminizada en forma longitudinal y cubierta de PVC gris. Se seleccionó este tipo de cable por su resistencia, y flexibilidad, infiriendo que al ser un cable blindado con cobertura de aluminio y ser de par trenzado ayuda a la eliminación o reducción considerable de interferencias electromagnéticas. Además, se conectó un extremo del apantallamiento a tierra, para obtener el menor ruido eléctrico.

En último término, se tomó en consideración que la tarjeta DAQ presenta una muy alta impedancia de entrada a los electrodos haciendo despreciable su impedancia.

3.3 INDUCCIÓN A LA EPILEPSIA CON *KINDLING* ELÉCTRICO

Para introducir en las ratas Wistar un estado en el que presenten crisis epilépticas con el fin de hacer posible la adquisición de las ondas post ictales, se empleó el método de *Kindling* como método de inducción a la epilepsia a partir de la implantación de electrodos de aguja, haciendo continuidad a lo implementado en el laboratorio de Fisiología de la Conducta, aplicando las siguientes especificaciones:

3.3.1 Método de *Kindling*

Las características para la inducción de epilepsia con el método *Kindling* fueron seleccionadas luego de estudiar el estado del arte de dicho método y de los experimentos realizados previamente en el Laboratorio de Fisiología de la Conducta de la Universidad de Los Andes.

En este caso, el método de *Kindling* se llevó a cabo estimulando la amígdala basolateral del cerebro, de acuerdo a las siguientes especificaciones:

- Duración del estímulo: 1 s.
- Frecuencia del impulso: 50 Hz.
- Amplitud del impulso: 5 V.
- Valor mínimo de corriente: 100 μ A.

En pro a esto, para el experimento se tomó una población de tres (3) ratas Wistar macho, con un peso de 400 gr aproximadamente, identificadas como Rata 1, Rata 2 y Rata 3, a las cuales se le aplicaron estimulaciones una vez al día durante una semana, siguiendo así el método *Kindling*.

El siguiente punto por desarrollar en esta investigación es el registro de los biopotenciales en dichos electrodos.

3.3.2 Medida de los biopotenciales utilizando electrodos

Siguiendo el procedimiento que se utilizó como método de medición para el registro electrocorticográfico de las ondas cerebrales en el laboratorio de Fisiología de la Conducta, se inició desde la colocación de electrodos en la corteza expuesta, para medir la actividad eléctrica, haciendo posible estudiar zonas epileptógenas.

Donde seleccionaron como zona de inducción epiléptica a la amígdala basolateral del cerebro, por su complejidad de acceso debido a su ubicación, y, además, por ser la zona con menos estudios previamente realizados.

Para ello, es necesario someter al animal a una intervención quirúrgica, con el propósito de implantar los electrodos de aguja intracraneales, mediante una craneotomía, utilizando un marco estereotáxico que permite, a partir de unas coordenadas establecidas, hallar la amígdala basolateral del cerebro, garantizando la ubicación idónea de los electrodos para realizar esta investigación.

En los anexos 3, 4 y 5 se muestran fotografías de una cirugía realizada a una rata Wistar, en el Laboratorio de Fisiología de la Conducta de la Universidad de Los Andes, y el plano de coordenadas del cerebro de las ratas Wistar usado por el especialista para la implantación.

En principio, se remueve una parte del hueso del cráneo para exponer la superficie cerebral y se implantan tres electrodos de la siguiente manera:

- El electrodo activo está ubicado en la amígdala basolateral del cerebro, donde se considera el epicentro de las crisis epilepsias, y es, además, el lugar donde se estimula eléctricamente.
- El electrodo diferencial está ubicado en la corteza del cerebro
- El electrodo de referencia está ubicado en la superficie del cráneo.

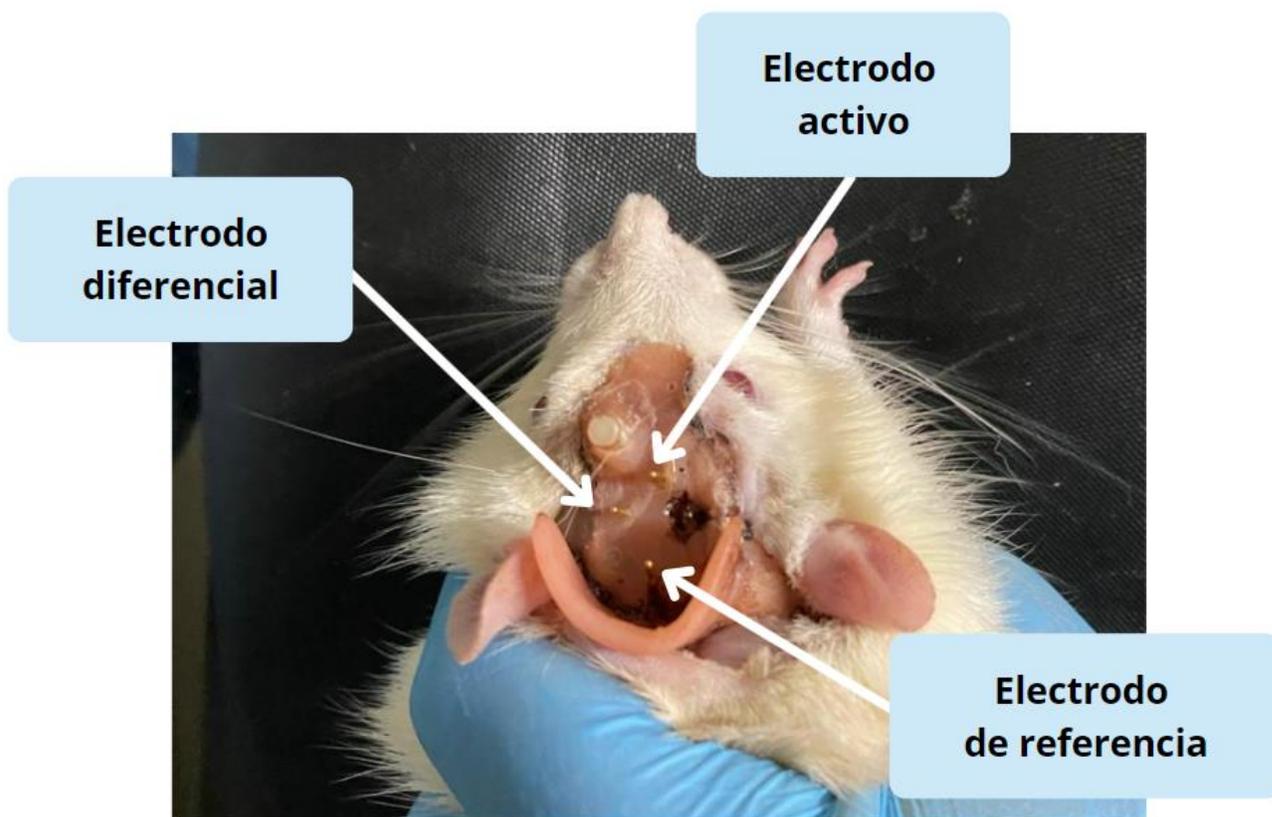


Fig. 3.1 Identificación externa de los electrodos implantados en las ratas Wistar

La intervención quirúrgica fue realizada por el Prof. Pedro Pieruzzini, jefe del Departamento de Fisiología, en el Laboratorio de Fisiología de la Conducta de la Universidad de Los Andes.

Cabe considerar que, los electrodos empleados en la adquisición de la señal fueron piezas cilíndricas de metal conductor, con un tamaño de 1cm x 1mm, unidos a alambres de níquel cadmio que, a su vez, se encuentra acoplado en su otro extremo a conectores tipo “Amphenol” de oro con aleación de cobre, tal como se muestra en la Fig. 3.2. De esta manera, cada electrodo está conectado a un Amphenol pin hembra, el cual permanece ubicado en la corteza cerebral de la rata por una capa modelada con metilmetacrilato, cumpliendo el objetivo de proteger los conectores de los movimientos del animal. Es importante mencionar que, se utilizó este tipo de conectores por la ventaja de ofrecer pequeño tamaño y elevado rendimiento permitiendo la correcta interconexión entre el cerebro de la rata y el sistema de adquisición.

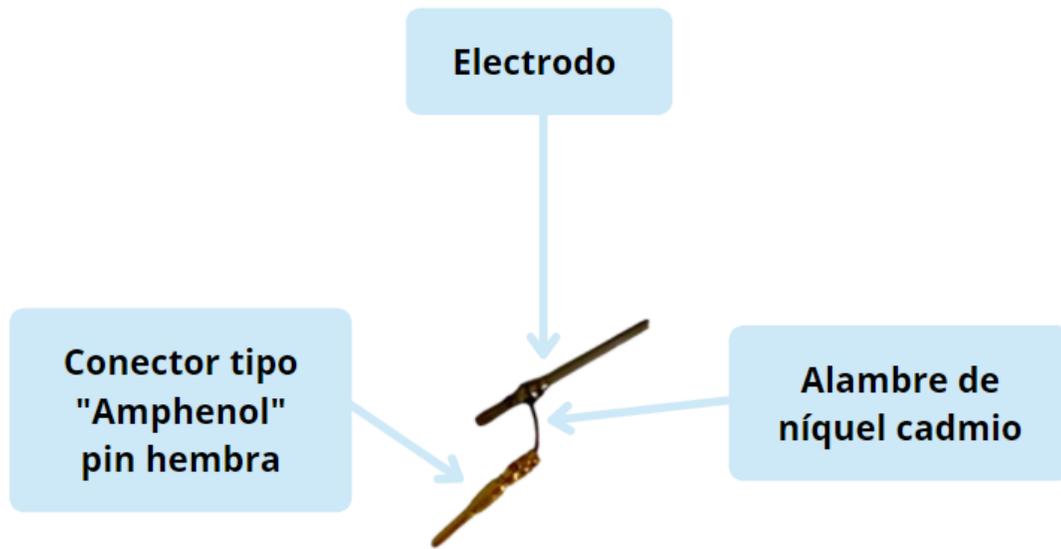


Fig. 3.2 Diseño del electrodo

Luego de acondicionar el sistema de medición, lo siguiente es la transducción de las ondas cerebrales de las ratas al computador para el procesamiento y análisis de onda.

3.4 ADQUISICIÓN DE DATOS

Con la finalidad de procesar los datos obtenidos, se desarrolló un software que facilita el control de las variables de estimulación y registra las señales eléctricas adquiridas. En la Fig. 3.3 se muestra el diagrama de bloques del sistema de adquisición implementado.

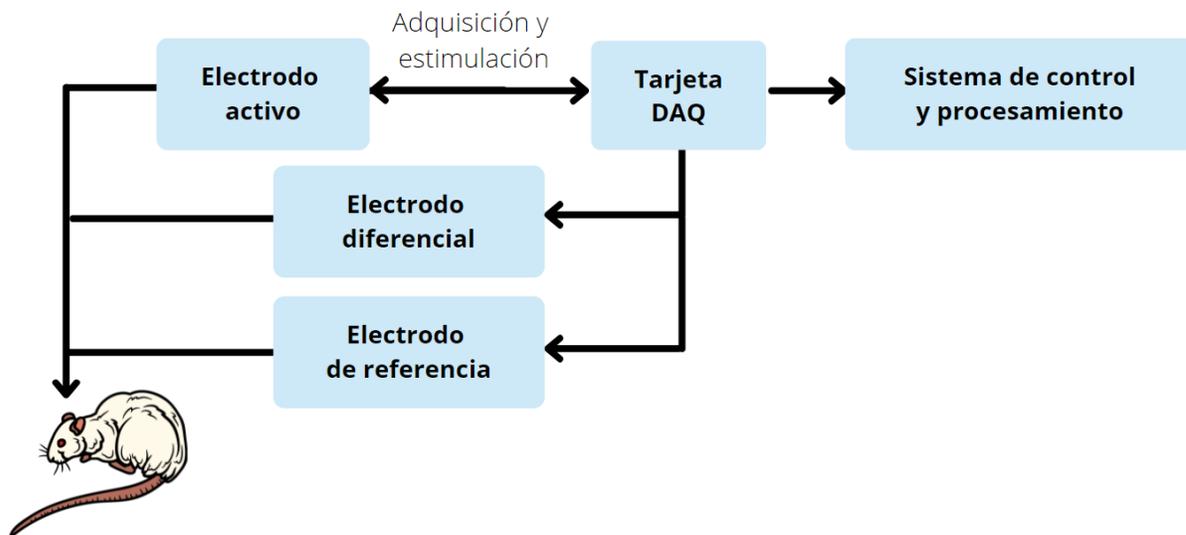


Fig. 3.3 Diagrama de bloques del sistema DAQ

En general, existen diferentes tipos y modelos de tarjetas de adquisición que brindan funcionalidades básicas según la aplicación al cual van dirigidas. En el caso de esta investigación, se seleccionó la tarjeta USB-6009 OEM, ya que este modelo en específico es el dispositivo DAQ por excelencia para el estudio de los biopotenciales, y, además, el Laboratorio de Fisiología de la Conducta contaba con ella, siendo un factor de gran importancia para su selección, pues esta investigación es solo una parte de un gran proyecto, el cual se encuentra condicionado por los ingresos propios de los investigadores y se limita a llevar a cabo los experimentos con los equipos tradicionales que allí se encuentran, y que por supuesto, cumplan con las expectativas mínimas necesarias.

3.4.1 Tarjeta de adquisición USB-6009 OEM

La tarjeta USB-6009 OEM facilita la tarea de la construcción del circuito de adquisición de datos. Según [40], posee las siguientes características:

- Canales de entradas analógicas: 8 simples y 4 diferenciales.
- Resolución de entradas analógicas: 14 Bits.
- Frecuencia máxima de muestreo: 48 kSample/s.
- Canales de salidas analógicas: 2.

- Resolución de salidas analógicas: 12 Bits.
- Canales de I/O digitales: 12.
- Contador de 32 bits.



Fig. 3.4 Tarjeta de adquisición USB-6009 OEM

Tomando en cuenta que el sistema de adquisición planteado requiere una medición diferencial y un impulso generado por la tarjeta de adquisición, se usó la siguiente configuración:

- **Medición diferencial:** se utilizaron los pines 11 y 12 de la tarjeta DAQ, correspondientes a las entradas analógicas positiva (AI 0+) y negativa (AI 0-) respectivamente.
- **Generador de impulso:** se utilizó la salida analógica del pin 2 (AO 1).
- **Conexión a tierra:** se utilizó el pin 3 como la tierra del sistema (AI GND).

+5 V	34	33	PFI 0
D GND	32	31	P1.3
P1.2	30	29	P1.1
P1.0	28	27	P0.7
P0.6	26	25	P0.5
P0.4	24	23	P0.3
P0.2	22	21	P0.1
P0.0	20	19	D GND
LED	18	17	D+
VBUS	16	15	D-
AI GND	14	13	AI GND
AI 4 (AI 0-)	12	11	AI 0 (AI 0+)
AI 5 (AI 1-)	10	9	AI 1 (AI 1+)
AI 6 (AI 2-)	8	7	AI 2 (AI 2+)
AI 7 (AI 3-)	6	5	AI 3 (AI 3+)
AI GND	4	3	AI GND
AO 1	2	1	AO 0

Fig. 3.5 Terminales de la tarjeta DAQ USB-6009 OEM

En general, el *Kindling* se caracteriza por una intensificación progresiva de actividad convulsiva que culmina en convulsiones generalizadas después de repetidas administraciones de un estímulo eléctrico. Es por esto que se requiere un software que permita el control de variables y parámetros para inducir la epilepsia con dicho método, y que, además, pudiese registrar las ondas eléctricas cerebrales de la rata durante el proceso.

3.4.2 Software para el control de las variables de estimulación y registro de las señales eléctricas

Se utilizó el entorno de programación *LABVIEW*, ya que ofrece el hardware NI DAQ, el cual permite desarrollar programas de forma personalizada y analizar señales del mundo real utilizando la tarjeta de adquisición USB-6009 OEM.

Básicamente, el software está constituido por las siguientes etapas:

Etapas de adquisición de datos: utilizando la herramienta “DAQ Assistant” de *LABVIEW* se configuró la tarjeta USB-6009 OEM para realizar una medición diferencial, dando prioridad al muestreo en tiempo real.

Según el teorema de Nyquist-Shannon, con el fin de reconstruir o reproducir una señal analógica, sin error, a partir de muestras tomadas en iguales intervalos de tiempo, es matemáticamente posible si la señal está limitada en banda (F_{max}) y la razón de muestreo (F_s) es igual o mayor al doble del ancho de banda de la señal [41].

$$F_s > 2F_{max} \quad \text{Ec. (1)}$$

Tomando en cuenta que las señales biológicas en la actividad eléctrica cerebral pueden alcanzar hasta los 300 Hz [19], se seleccionó una frecuencia de muestreo de 1000 Hz, siendo lo suficientemente alta para obtener una medición más exacta, evitando el ruido de cuantificación y cumpliendo así con el teorema.

Si $F_s = 1000$ Hz entonces el sistema toma una muestra cada 1 ms, obteniendo una tasa de muestreo de 1000 muestras por segundo.

Por otro lado, el rango de medición de los puertos de entrada se configuro con un valor mínimo de -1 V y un valor máximo de 5 V, ya que en el electrodo activo se adquiere el biopotencial y se realiza la estimulación eléctrica.

Etapa de estimulación eléctrica: se utilizó un simulador de señal de onda cuadrada asociada al puerto de salida analógica, el cual se encuentra acoplado al electrodo activo. Se seleccionaron los siguientes parámetros con la finalidad de obtener un tren de pulsos de 5V pico a pico que cumpla con el método del *Kindling*:

- Amplitud: 2,5 V
- *Offset*: 2,5 V
- Frecuencia: 50 Hz.
- *Duty Cycle*: 50%.

Cabe destacar que, teóricamente la tarjeta USB-6009 OEM entrega una corriente máxima de 50 mA. Sin embargo, se realizaron mediciones de la corriente en la salida analógica de la tarjeta, variando la carga. Según [1], la impedancia en el cerebro de las ratas Wistar varía entre

13 k Ω y 30 k Ω . Aun así, se amplió el rango de impedancia para garantizar que el funcionamiento de la tarjeta este bajo los requerimientos mínimos para inducir la epilepsia con el método de *Kindling*.

En la tabla 3.1 se muestra la variación de la corriente según la impedancia conectada a la salida de la tarjeta.

Tabla 3.1 Medidas de corriente con respecto a carga conectada

Carga (Ω)	Corriente medida
2,2 k	1,95 mA
4,94 k	0,9 mA
6,6 k	690 μ A
10 k	460 μ A
20 k	240 μ A
30 k	160 μ A
50 k	100 μ A

De acuerdo con la revisión del estado del arte del método de *Kindling*, en la tabla 3.2 se plasman los valores de corriente según diferentes autores, necesarios para que el *Kindling* puede llevarse a cabo.

Tabla 3.2 Corriente requerida para el método de *Kindling* según diferentes autores

Autores	Corriente requerida
M. E. Moneta y Fernando Lolas [42]	50 μ A a 100 μ A
S. F Lian et al. [43]	200 μ A
M. Delgado [44]	10 μ A a 15 μ A
Oliver von Bohlen und Halbach et al. [45]	300 μ A a 450 μ A
S. Kaura, H. F Bradford et al. [46]	150 μ A \pm 20 μ A
Zohred Ghotbedin et al. [47]	30 μ A + (n)x(10 μ A) incrementos

De acuerdo con los resultados obtenidos, se concluye que la tarjeta USB-6009 OEM entrega la corriente necesaria dentro de los parámetros requeridos para el método experimental del *Kindling* según la mayoría de los autores.

Cabe destacar que cada autor tiene propuesto una periodicidad de estimulación distinto, por lo que en el Laboratorio de Fisiología de la Conducta se adoptó el más apropiado para las condiciones que allí se tiene.

Como recurso final para el software, se integró un analizador de espectro de frecuencias, basado en la transformada rápida de Fourier (FFT) con la finalidad de estudiar durante la adquisición, los componentes espectrales de la señal y monitorear la presencia de interferencias.

Ahora bien, se implementó una interfaz gráfica con la finalidad de permitir al usuario el control de cada etapa descrita, así como la opción de variar la duración del estímulo en segundos. Se desglosa a continuación la función de cada componente, mostrada en la Fig. 3.6.

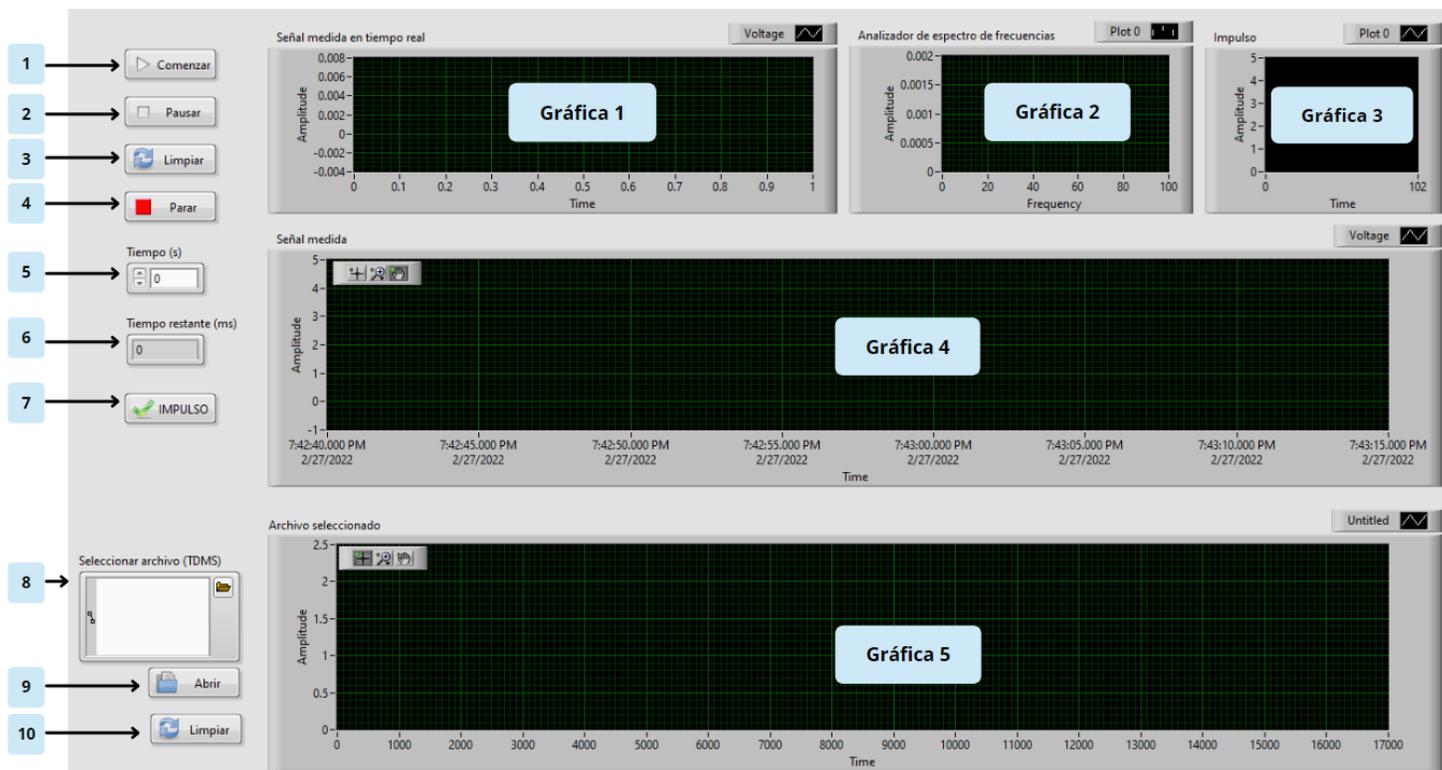


Fig. 3.6 Interfaz gráfica.

1. **Comenzar:** abre la ventana de selección de carpeta donde se desea guardar la información, previamente establecidas según las tasas disponibles, para iniciar la adquisición de datos.
2. **Pausar:** pausa la adquisición de datos.
3. **Limpiar:** limpia las gráficas 1, 2, 3 y 4.
4. **Parar:** detiene el software.
5. **Tiempo (s):** botón de incremento o decremento de la duración del impulso en segundos.
6. **Tiempo restante (ms):** muestra el tiempo restante del impulso en milisegundos, una vez ejecutado.
7. **Impulso:** botón para ejecutar el impulso.

8. Seleccionar archivo (TDMS): abre la ventana para seleccionar un archivo con extensión TDMS para visualizarlo, haciendo posible el chequeo, estudio y comparación de una medición previamente realizada con la medición en curso.

9. Abrir: permite la visualización del archivo con extensión TDMS.

10. Limpiar: limpia la gráfica 5.

En función a los gráficos, se tienen los siguientes:

Gráfica 1: muestra la señal medida en tiempo real, representando la amplitud con respecto al tiempo.

Gráfica 2: corresponde al analizador de espectro de frecuencias. Grafica la amplitud con respecto a la frecuencia.

Gráfica 3: tiene como función graficar la forma de onda del impulso cuando es emitido con la finalidad de verificar su amplitud y duración.

Gráfica 4: muestra la señal medida en su totalidad al finalizar la adquisición.

Gráfica 5: tiene como función graficar un archivo, el cual debe ser seleccionado, de una medición previamente realizada.

En función de lograr la definición de la fase post epiléptica de la onda obtenida del cerebro de la rata, con la finalidad de obtener el mecanismo propio del cerebro como método de inhibición de la epilepsia, tomando en cuenta que en futuras investigaciones se desea emular la onda post ictal con la meta de verificar si interrumpe o no, la actividad sincrónica del cerebro durante una convulsión, se procede a realizar la detección y clasificación de las ondas post ictales a partir de inteligencia artificial (IA).

3.5 DETECCIÓN Y CLASIFICACIÓN DE LAS ONDAS POST EPILEPTICAS UTILIZANDO REDES NEURONALES ARTIFICIALES

El principal objetivo de este trabajo es analizar las ondas cerebrales obtenidas del proceso experimental del *Kindling*, de la amígdala basolateral del cerebro en ratas Wistar. Se debe tomar en cuenta que las señales que se muestran en los registros tomados no son periódicos; su fase, amplitud y frecuencia cambian constantemente, por lo tanto, son muy complejos para interpretar y definir un periodo en concreto.

Por consiguiente, se propone el uso de redes neuronales artificiales para la definición y reconocimiento de las ondas post epilépticas debido a que se trata de un método ampliamente usado para la clasificación de las señales gracias a su rápida respuesta de análisis utilizando tantas muestras sean posibles.

Se selecciono *MATLAB* como software de procesamiento de datos ya que proporciona una herramienta de *deep learning* para diseñar e implementar redes neuronales.

Con la finalidad de alcanzar un adecuado funcionamiento de la red neuronal, es imprescindible organizar y preprocesar los datos relevantes antes de entrenar la red. En pro a ello, se definieron los tramos de las ondas cerebrales obtenidas con el método de *Kindling*.

3.5.1 Definición de etapas

Se adoptaron las siguientes definiciones dadas por el Prof. Pedro Pieruzzini, las cuales, además, están basadas en registros obtenidos en investigaciones anteriores en el laboratorio de Fisiología de la Conducta [1]:

Señal base: es la señal en la cual permanece constantemente el cerebro de la rata hasta que se le aplica un estímulo. También se considera señal base aquella a la que retorna el cerebro después de tener una crisis convulsiva.

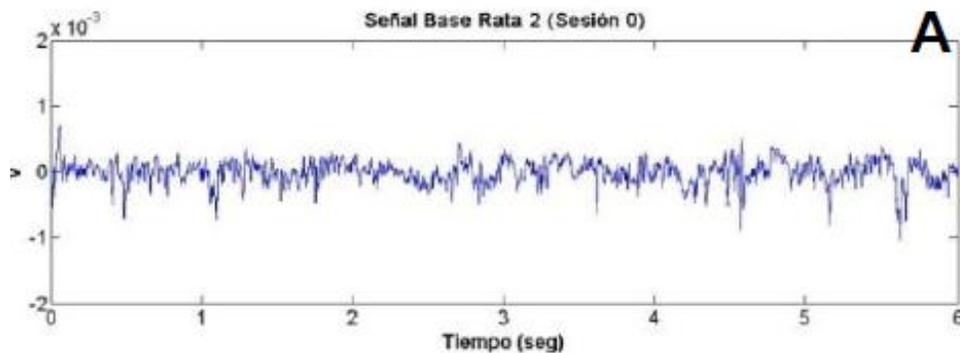


Fig. 3.7 Registro de señal base en ratas Wistar [1].

Impulso: es el tramo en el cual ocurre la estimulación eléctrica previamente establecida según el método experimental del *Kindling*.

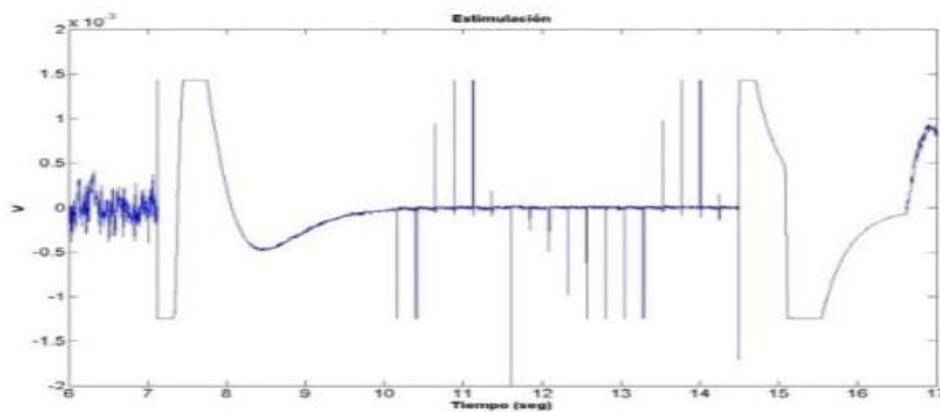


Fig. 3.8 Señal registrada al momento de estimular [1].

Post descarga: tiene lugar durante la crisis epiléptica en el cual se produce una descarga anormal de diferentes grupos neuronales, observándose el sincronismo cerebral, donde se presenta alta frecuencia y un aumento de la amplitud de la onda.

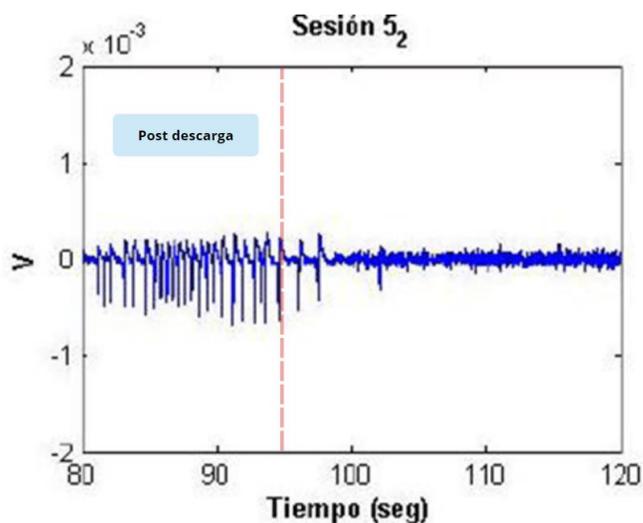


Fig. 3.9 Registro de post descargas en ratas Wistar [1].

Post ictal: es el estado alterado de conciencia en el que el cerebro se recupera de una crisis convulsiva. Tiene inicio cuando el patrón de post descarga disminuye o se sustituye bruscamente por una pérdida de actividad eléctrica, y termina con el comienzo del estado normal, conocido como señal base. Dicha señal tiene grandes dificultades de caracterización, pues ha sido poco estudiada.

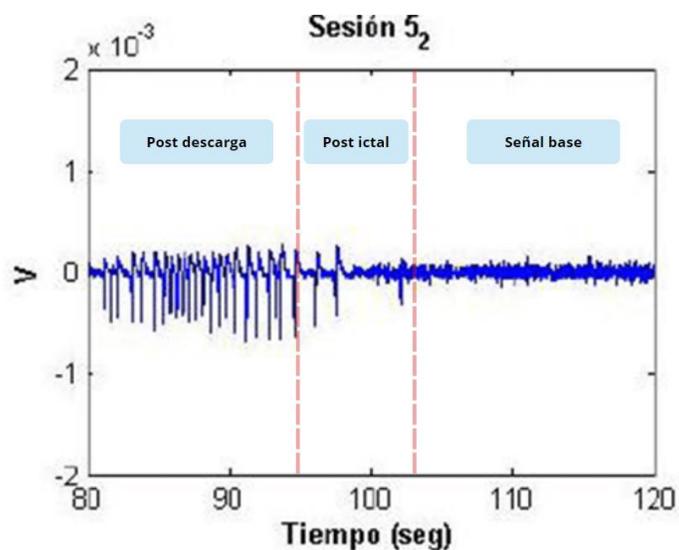


Fig. 3.10 Identificación de la señal de post descarga, señal post ictal y señal base [1].

Ahora bien, fue necesario utilizar una red neuronal que permita la clasificación de patrones, por lo que se seleccionó la red neuronal de avance profundo que ofrece *MATLAB*.

3.5.2 Red neuronal de avance profundo

La red neuronal de avance profundo, también conocida como red neuronal perceptrón multicapa (MLP), es la red más antigua conocida por su aplicación más importante: reconocimiento de patrones.

La ventaja de usar este tipo de red neuronal es la ejecución rápida de la red entrenada, lo cual es beneficioso en el procesamiento de señales. y es apropiado para resolver problemas de clasificación de patrones donde se supervisan el aprendizaje.

El software de programación *MATLAB* tiene disponible este tipo de red neuronal que permite el reconocimiento de patrones a partir de la clasificación de las entradas en un conjunto de categorías objetivo, a partir de la estructura tal como se muestra en la Fig. 3.11. Allí se puede observar que la red neuronal de avance profundo está constituida por el nodo de entrada, dos capas con neuronas sigmoideas; una oculta y una de salida, y, por último, el nodo de salida.

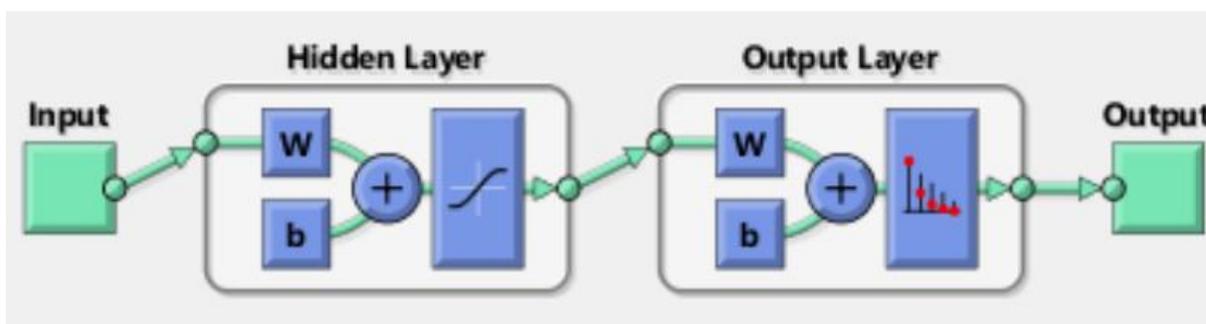


Fig. 3.11 Red neuronal de avance profundo del Toolbox de *MATLAB*

De allí, se parte a realizar un preprocesamiento de la señal con la información relevante de los datos adquiridos de los biopotenciales.

3.5.3 Preprocesamiento de la señal

Como puede inferirse, la parte más crucial en el desarrollo de una red neuronal artificial es el entrenamiento de la misma. Esto requiere la extracción de los atributos de entrenamiento con el fin de obtener un correcto procesamiento de los datos de entrada y salida.

En función de lo planteado, se utilizó una base de datos recopilada en el Laboratorio de Fisiología de la Conducta, a partir del sistema de adquisición diseñado, compuesta por los registros de biopotenciales de tres (3) ratas Wistar macho a las cuales se les indujo epilepsia con el método de *Kindling*. La base de datos presenta en total siete (7) casos documentados durante tres días consecutivos, de los cuales, dos (2) corresponden a la Rata 1, tres (3) a la Rata 2 y dos (2) a la Rata 3.

En el caso de esta investigación, transformar los datos sin procesar a un formato que el entrenamiento de la red neuronal pueda aceptar es el primer paso en el flujo de trabajo. Es por esto por lo que el procesamiento comenzó en la adaptación del formato de los datos adquiridos desde *LABVIEW* los cuales tenían una extensión TDMS, y debieron ser transformados a un archivo compatible con *MATLAB* (normalmente con extensión .MAT) con la finalidad de ser preprocesado correctamente.

Para ello, se realizó un algoritmo involucrando la librería de funciones ConvertTDMS [48], que cumple con el objetivo de extraer los datos y variables medidas por el software de *LABVIEW* y los guarda en un nuevo archivo con extensión MAT. En este caso, fue relevante extraer el nombre del archivo, las muestras de voltaje y las muestras del tiempo.

Ahora bien, en relación con el entrenamiento de la red neuronal en *MATLAB*, es requerido la definición de una entrada y un objetivo que permita detectar las características propias de cada tipo de señal con la cual se evaluará la red neuronal. Por lo que previamente, fue necesario clasificar las ondas de los registros obtenidos en el laboratorio con la finalidad de obtener muestras de cada etapa presente, siendo las etapas destacadas para el entrenamiento:

- Señal base.
- Post descarga.
- Post Ictal.

De manera que se desarrolló un algoritmo en *MATLAB* que facilitara la clasificación de las ondas en los registros obtenidos y los organizara en vectores según la etapa definida para el preprocesamiento. Dicha clasificación se llevó a cabo por el Prof. Pedro Pieruzzini, especialista en el área, quien definió cada etapa en cada uno de los registros de la base de datos.

Por su parte, el preprocesamiento de los datos en *MATLAB* estuvo basado en la extracción de parámetros estadísticos que pudiesen caracterizar las diferentes etapas presentes en las ondas adquiridas, y, en consecuencia, fuera posible detectar la señal post ictal. Para lograr esto, fue necesario fraccionar en muestras, también llamadas ventanas, a cada etapa definida y previamente organizada en vectores con la finalidad de adquirir los parámetros estadísticos en dicha ventana de tiempo. Es importante recalcar que se trabajó con ventanas de un (1) segundo de duración, ya que en esa escala de tiempo podrían estar presentes las características predictivas de los datos y se asegura que no cambian drásticamente con el tiempo.

Seguidamente, se procedió a definir las entradas y los objetivos de la siguiente manera:

En primer lugar, la entrada consta de las variables que definen, en este caso, a la onda del biopotencial que se requiere caracterizar con la red neuronal, y tiene la siguiente naturaleza:

$$\text{entrada} = n \times m \quad \text{Ec. (2)}$$

Donde *entrada* es una matriz de dimensión $n \times m$, siendo n la cantidad de variables a tomar en cuenta para caracterizar las ondas y m la cantidad de muestras correspondiente a cada variable.

Para esta investigación, se utilizaron las siguientes variables estadísticas:

- Amplitud mínima
- Amplitud máxima
- Media
- Mediana

- Moda
- Desviación estándar
- Rango

Donde el número de muestras va a depender de la duración de cada onda previamente clasificada. Por ejemplo, si la onda de post descarga posee 10 segundos, se tendrán 10 muestras.

Por otro lado, se debe presentar una matriz de objetivos, la cual representa la clasificación de etapas dados en cada muestra de la entrada. Es decir, para efectos del entrenamiento, ya que es supervisado, se debe ingresar a qué etapa de la onda corresponde las muestras de la entrada, ya sea señal base, post descarga o post ictal. Dicha matriz tiene la siguiente forma:

$$\text{objetivo} = n \times m \quad \text{Ec. (3)}$$

Donde *objetivo* es una matriz de dimensión $n \times m$, siendo n la cantidad de clasificaciones de la onda a tomar en cuenta, en este caso solo se tienen tres; señal base, post descarga o post ictal, y m la cantidad de muestras correspondiente a cada tipo de onda.

Finalmente, se realizó un programa de preprocesamiento el cual tenía la tarea de tomar cada vector correspondiente a las etapas de los datos adquiridos y fraccionarlo en las ventanas, anteriormente descritas, para extraer los parámetros estadísticos y ordenarlos en las matrices según la configuración de entradas y objetivos del entrenamiento de la red neuronal en *MATLAB*.

Una vez obtenido los datos preprocesados de las señales registradas se procede a realizar el entrenamiento de la red.

3.5.4 Entrenamiento de la red

El entrenamiento de la red neuronal de avance profundo se realiza a partir de la retropropagación de errores enfocada en el entrenamiento de las capas ocultas. Esto significa que, durante su entrenamiento, la red neuronal ajusta los parámetros de la red (pesos y

umbrales) con el fin de que las entradas presentadas produzcan las salidas deseadas. En otras palabras, lo que se busca es minimizar la función error.

Por lo tanto, para el entrenamiento de la red se seleccionaron las matrices de entradas y de objetivos obtenidas a partir del preprocesamiento de los registros de la base de datos. Cabe destacar que el algoritmo de aprendizaje del perceptrón es de tipo supervisado, lo que requiere que sus resultados sean evaluados y se realicen las oportunas modificaciones del sistema si fuera necesario.

Para ello, se realizó un algoritmo que consiste en seleccionar las entradas y objetivos de la red neuronal, que debieron ser previamente preprocesados, así como también manejar los parámetros de entrenamiento.

En este caso, la entrada seleccionada fue una matriz de dimensión 8×139 , siendo 8 la cantidad de variables tomadas en cuenta para caracterizar las ondas y 139 la cantidad de muestras correspondiente a cada variable. Mientras que el objetivo fue una matriz de dimensión 3×139 , siendo 3 la cantidad de clasificaciones de la onda tomadas en cuenta y 139 la cantidad de muestras correspondiente a cada tipo de onda.

Por otro lado, los parámetros para el entrenamiento de la red son los porcentajes de datos que serán usados en el entrenamiento, validación y pruebas de la red neurona, que aleatoriamente serán divididos por el toolbox de *MATLAB*. Debido a que los registros de entrenamiento en la base de datos son limitados, y que, de igual manera, se realizaran pruebas con nuevos registros, se seleccionó un porcentaje del 75% para el entrenamiento, 20% para la validación y solo 5% para las pruebas.

Así mismo, se debe elegir la cantidad de neuronas ocultas en la capa sigmoidea, la cual, dada suficientes neuronas, puede clasificar vectores arbitrariamente bien. Para esta investigación, se seleccionaron 50 neuronas ocultas.

Por último, se selecciona el error mínimo en el cual el entrenamiento de la red neuronal debe detenerse. Es decir, este tipo de entrenamiento está condicionado a hacer cuantas iteraciones sean necesarias hasta que alcance el valor de error mínimo a criterio del supervisor del entrenamiento. Sobre este punto, se propuso un error mínimo de 1×10^{-7} .

Ahora bien, teniendo la red neuronal entrenada, se procedió a la evaluación del patrón de ondas cerebrales.

3.5.5 Evaluación del patrón de ondas cerebrales

Se implementó un algoritmo que integra la red neuronal entrenada como herramienta para evaluar los patrones de ondas cerebrales adquiridos en el laboratorio con el fin de definir las ondas post ictales.

Básicamente, el programa realiza el siguiente procedimiento:

1. Selecciona en la base de datos del Laboratorio de Fisiología de la Conducta un registro que no haya sido utilizado en el entrenamiento de la red. Cabe destacar que, es solo en esta etapa donde interviene el usuario, quien se encarga de elegir el registro.
2. Realiza un preprocesamiento de la señal en el cual fracciona el registro en muestras o ventanas de un (1) segundo, extrae las características estadísticas utilizadas en el entrenamiento de la red neuronal en cada una de las ventanas, y lo ordena en una matriz, siguiendo el formato de la matriz de entrada de la red neuronal.
3. Evalúa la matriz de entrada utilizando la red neuronal, clasificando así cada una de las ventanas del registro seleccionado.
4. Genera como resultado una matriz de salida con cada ventana clasificada como señal base, post descarga o post ictal.
5. Selecciona las ventanas clasificadas como onda post ictal.
6. Guarda las ventanas clasificadas como onda post ictal de manera concatenada en un nuevo vector.
7. Muestra al usuario la señal post ictal.

Finalmente, se procede a realizar la definición de la onda post ictal clasificada por la red neuronal.

3.5.6 Definición de las ondas post ictales

Con el objetivo de reconocer con exactitud y precisión las características de la onda post ictal, se propone estudiar los siguientes parámetros de la señal post ictal resultante de la evaluación del patrón de ondas cerebrales:

- Amplitud.
- Frecuencia.
- Tiempo de duración.

Para ello, se realizó un programa que permitiera la definición de la onda post ictal calculando dichos parámetros para ser comparada con los diferentes registros obtenidos en el laboratorio.

www.bdigital.ula.ve

CAPÍTULO IV

ANÁLISIS Y RESULTADOS

En este capítulo se muestra el análisis de los resultados obtenidos durante las pruebas de funcionamiento de la protección a interferencias electromagnéticas en la adquisición de datos, y las pruebas realizadas hasta alcanzar la evaluación del patrón de las ondas cerebrales de las ratas Wistar en epilepsia a partir de la red neuronal entrenada. Finalmente, se validará si en efecto se logra detectar la onda post ictal.

4.1 PRUEBAS DE FUNCIONAMIENTO DE LA PROTECCIÓN A INTERFERENCIAS ELECTROMAGNÉTICAS

Una vez realizada la revisión de las instalaciones eléctricas del laboratorio de Fisiología de la Conducta, se determinó que las conexiones, cableado, tomacorrientes y puesta a tierra se encontraban en buenas condiciones. Realizando la revisión de las conexiones a tierra de los equipos eléctricos utilizados en el experimento, verificando que todos estuvieran correctamente conectados a tierra, con el fin de inhibir las causas de interferencia electromagnética de la red y por ende las posibilidades de que ocurran fallos en el equipamiento, en los individuos de prueba o inclusive, distorsiones o presencia de ruido en las mediciones a realizar.

Por otra parte, se consideraron las ventajas que presenta la estructura del laboratorio de Fisiología de la Conducta para inhibir las perturbaciones de las líneas de alta tensión cerca del edificio, puesto que fue construido bajo los requerimientos de protecciones contra interferencias electromagnéticas gracias a las investigaciones biomédicas que allí se iban a llevar a cabo.

Ahora bien, además de esto se aseguró mayor protección a las interferencias electromagnéticas al incluir la jaula de Faraday. Los aspectos tomados en cuenta durante la construcción de la jaula, se considera que existe una protección del 95%, siendo el único factor de disminución de la protección, la ventana, que es la única abertura que posee la jaula. Sin embargo, dicha ventana permanece cubierta por tres (3) capas de malla metálica entrecruzadas, verificando así su alta capacidad de inhibir campos electromagnéticos.

En cambio, se estima una disminución de protección hasta un 90% en caso de ingresar dispositivos con fuente interna, que, aunque se consideró cajas metálicas secundarias internas para dichos dispositivos, pueden generar distorsión en algún espectro de frecuencia. No obstante, esto puede ser monitoreado con el software de adquisición en el momento de una medición para garantizar que los datos obtenidos no se encuentren modificados por perturbaciones.

Como producto, la jaula de Faraday es un método que logra bloquear los campos electromagnéticos asegurando el desenvolvimiento correcto de experimentos biomédicos con las ratas Wistar.

Ahora, se procede a analizar los resultados obtenidos con las pruebas de funcionamiento del software de adquisición.

4.2 PRUEBAS DE FUNCIONAMIENTO DEL SOFTWARE DE ADQUISICIÓN

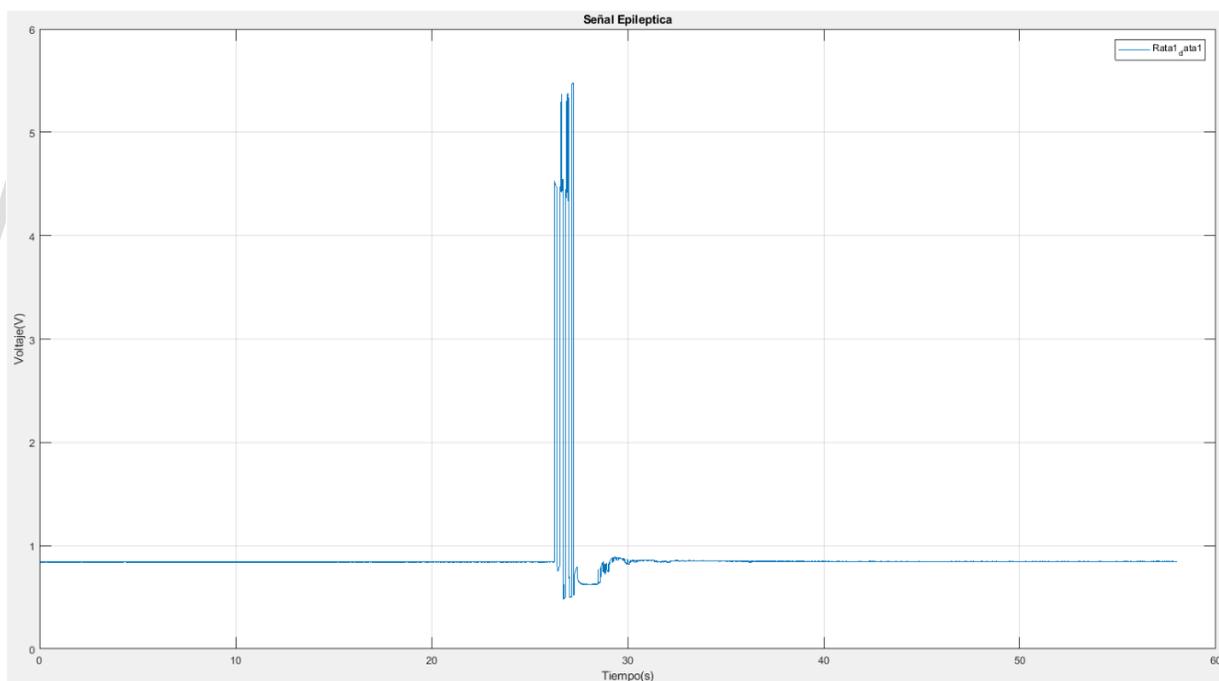
Las pruebas se realizaron llevando a cabo el proceso experimental de *Kindling* en ratas Wistar tal como se explicó en el capítulo anterior. Durante el experimento se logró observar el comportamiento producido por las ratas cuando se le generaba el estímulo, registrando la señal y haciendo visibles conductas físicas asociadas, las cuales forman parte del proceso del *Kindling*, lo que permitió validar el funcionamiento del sistema de adquisición para la medición de los biopotenciales.

A continuación, se estudia el historial de registros obtenidos con las ratas 1, 2 y 3 al realizar las estimulaciones, generando así la base de datos que fue usada para la fase de entrenamiento y pruebas de la red neuronal.

4.2.1 Base de datos

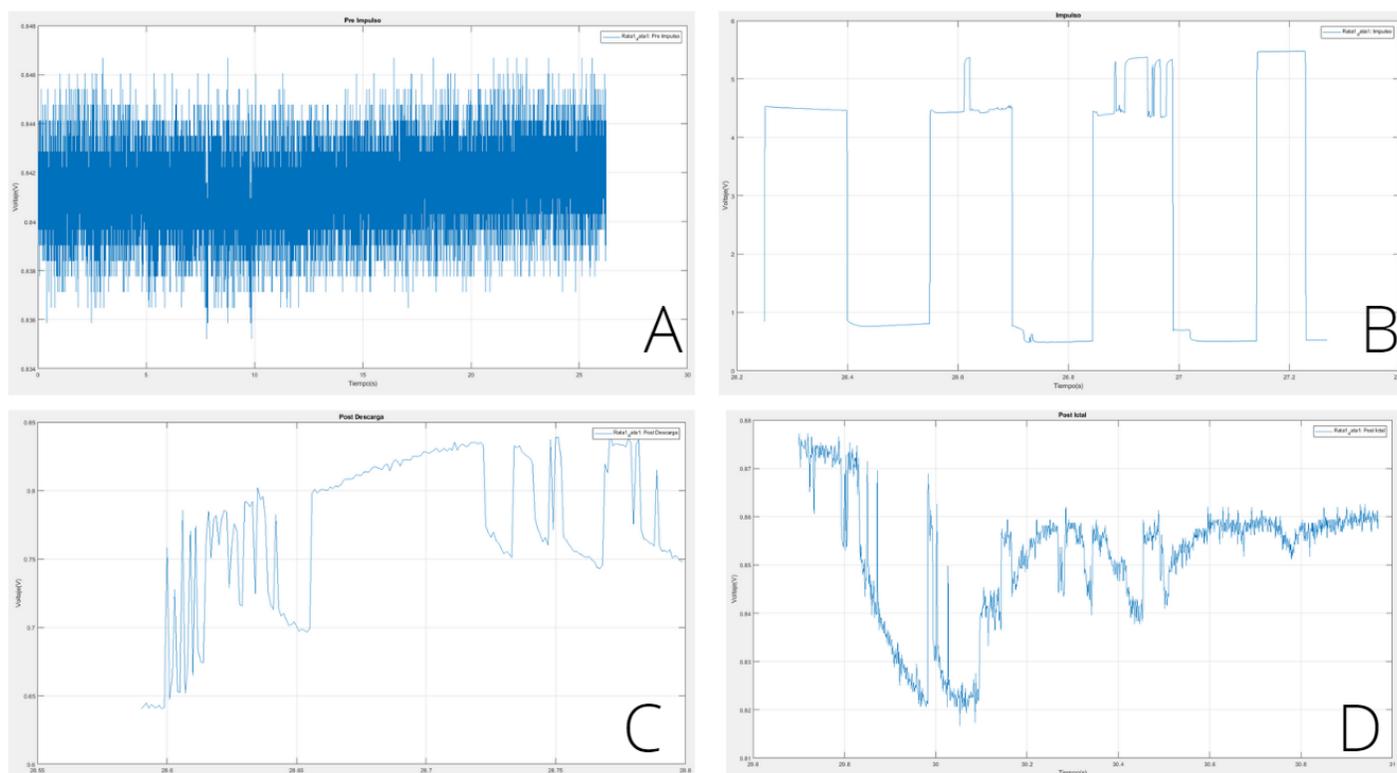
Los resultados obtenidos del historial de sesiones de cada una de las ratas permitieron comprobar que las diferentes etapas del proceso del *Kindling* se encontraban presentes en los registros.

La gráfica 4.1 muestra el registro de los biopotenciales de la Rata 1, donde se visualiza el impulso generado por un (1) segundo, y la respuesta cerebral de la rata, presentando una corta post descarga hasta su desincronización en la señal base.



Gráfica 4.1 Registro de los biopotenciales (Rata 1 – Data 1)

Para dicha señal se puede observar en la gráfica 4.2 con mayor detalle cada etapa, la cual fue clasificada para el preprocesamiento:

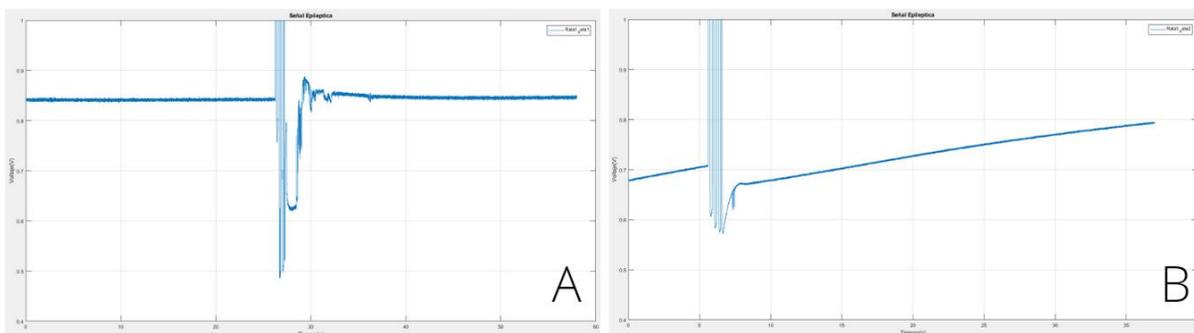


Gráfica 4.2 clasificación del registro de Rata 1 - Data 1.

A) Señal base. B) Impulso. Señal base. C) Post descarga. D) Post ictal.

Como resultado se anexa el historial de registro de las sesiones de las ratas Wistar utilizadas en el experimento, seleccionadas para conformar la base de datos.

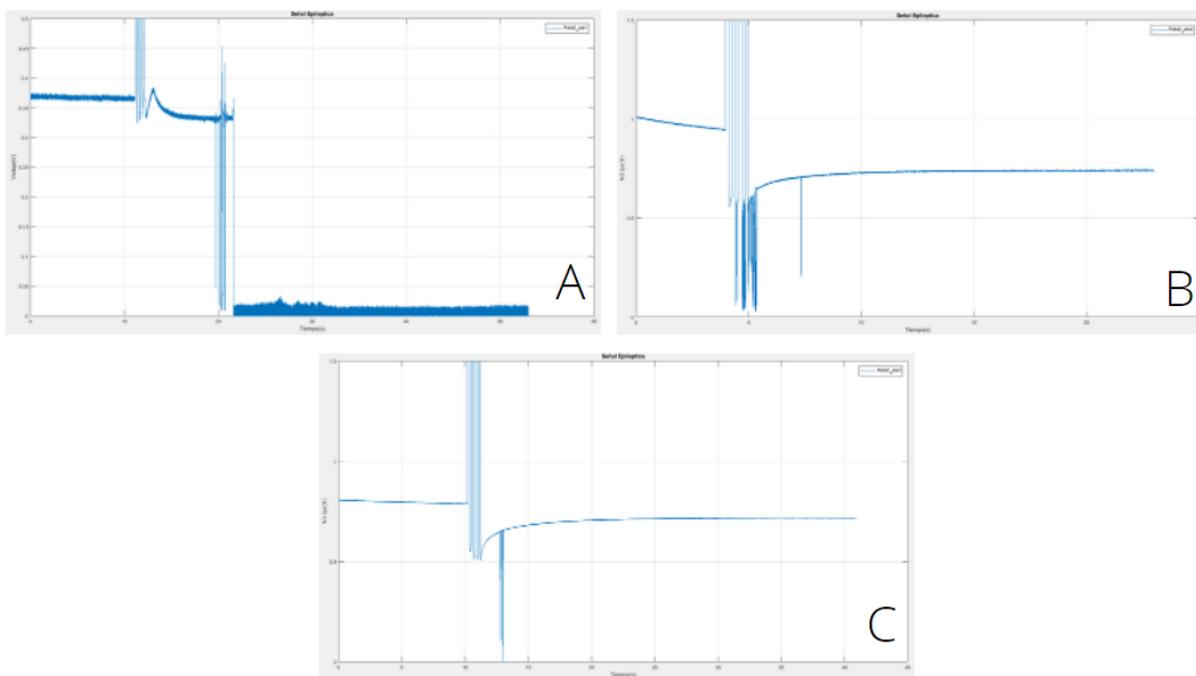
Historial de sesiones de la rata 1.



Gráfica 4.3 Registro de los biopotenciales de Rata 1

A) Data 1. B) Data 2.

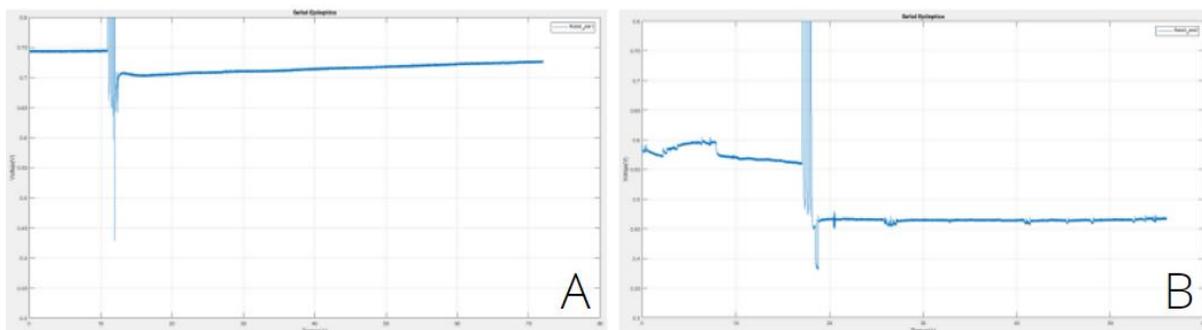
Historial de sesiones de la rata 2.



Gráfica 4.4 Registro de los biopotenciales de Rata 2

A) Data 1. B) Data 2. B) Data 3.

Historial de sesiones de la rata 3.



Gráfica 4.5 Registro de los biopotenciales de Rata 3

A) Data 1. B) Data 2.

Ahora bien, es importante analizar algunos inconvenientes presentados en esta etapa:

Al comenzar los experimentos, se tenían ratas Wistar con electrodos implantados que luego de ser estimuladas no presentaban las conductas asociadas ni la respuesta cerebral adecuada para determinar que el *Kindling* se estaba llevando a cabo correctamente. En principio, el método experimental *Kindling* depende ampliamente del éxito en el proceso quirúrgico de la implementación de los electrodos. Pero se demostró a partir de la histología del cerebro, proceso en el cual se estudia la estructura y características de los tejidos, de las primeras ratas operadas, que el electrodo no se encontraba ubicado en la amígdala basolateral derecha. Esto debido a que, las coordenadas preestablecidas, mostradas en el anexo 5, está asociada a ratas con un peso de 200 gr. Sin embargo, las ratas utilizadas para la investigación tenían un peso de 400 gr aproximadamente, por lo que se deduce que el área del cerebro es mayor, y por consecuencia, la coordenada de la amígdala cambio. Buscando compensar este problema, por método experimental de ensayo y error, se reevaluó las coordenadas obteniendo así el siguiente cambio:

Tabla. 4.1 variación de coordenadas de la amígdala basolateral del cerebro de las ratas Wistar

Coordenadas antiguas	Nuevas coordenadas
Bregma -2,8 mm.	Bregma -2,8 mm.
Lateral: 4,8 mm.	Lateral: 4,4 mm.
Ventral: 8,5 mm.	Ventral: 8,0 mm.

Luego de realizar numerosas operaciones y nuevas histologías a las ratas con la implantación de electrodos en las nuevas coordenadas, se demostró que la modificación fue acertada y el electrodo finalmente se encontraba en la amígdala basolateral del cerebro. En el anexo 6, se muestra una fotografía de la histología del cerebro de la rata con muestras de ruptura por el electrodo en la amígdala basolateral.

Desafortunadamente, este inconveniente produjo una reducción de la cantidad de registros a utilizar, ya que la ubicación incorrecta imposibilita la capacidad de la estimulación eléctrica para inducir crisis epilépticas, y, por lo tanto, obtener resultados idóneos para el entrenamiento de la red neuronal.

Por otro lado, se logró observar que, aun cuando las conductas asociadas a la epilepsia en los individuos de prueba eran evidentes al generar la estimulación eléctrica, las ondas correspondientes a la fase de post descarga fueron captadas solo en los primeros registros y el comportamiento post epiléptico no tenía la duración deseada. Se deduce que la razón a este inconveniente se debe a la falta de estandarización de las características de la población de estudio, como la edad, el peso y el tamaño de las ratas Wistar. También es importante acotar que para mejores resultados en el método *Kindling* las ratas deben estar en sus primeros meses de vida, sin embargo, los individuos de prueba de esta investigación alcanzaban los 12 meses de edad o más. Por último, se considera que la cicatrización y aumento de impedancia en el cerebro de la rata por efecto de la corriente inducida, afecta de gran manera a la inconsistencia

de los resultados en las mediciones realizadas. Es por esto que, para futuras investigaciones, se propone un medidor de impedancia que permita modificar la corriente según los requerimientos del método de *Kindling* aplicado.

Finalmente se realizó una comparación con las ondas obtenidas en experimentos anteriores en el Laboratorio de Fisiología de la Conducta [1], observando que el comportamiento epiléptico no fue tan acentuado en cuanto a amplitud y tiempo de duración. Una vez más, se atribuye a la inferencia con respecto a los inconvenientes ocurridos.

Ahora bien, en vista de la escasa base de datos obtenida, se excluyó para el entrenamiento, la data 3 de la rata 2, con la finalidad de ser usado en la etapa de evaluación.

4.3 PRUEBAS DE FUNCIONAMIENTO DE LA RED NEURONAL

Una vez preprocesada la base de datos adquirida, se obtuvo las siguientes características para el entrenamiento de la red neuronal:

- Número de muestras para entrenamiento: 139.
- Número de muestras de señal base: 135.
- Número de muestras de post descarga: 2.
- Número de muestras de post ictal: 2.

En el proceso de entrenamiento se seleccionaron los siguientes parámetros:

- Datos para entrenamiento: 75%.
- Datos para validación: 20%.
- Datos para pruebas: 5%.
- Error mínimo propuesto: 1×10^{-7} .
- Número de neuronas escondidas: 50.

Como resultado se obtuvo que la red neuronal clasificó correctamente en una tasa de aprendizaje con una meta aceptable de 1×10^{-7} a partir de la base de datos y parámetros ingresados necesitó de 45 iteraciones o épocas para alcanzar un error de $1,19 \times 10^{-7}$.

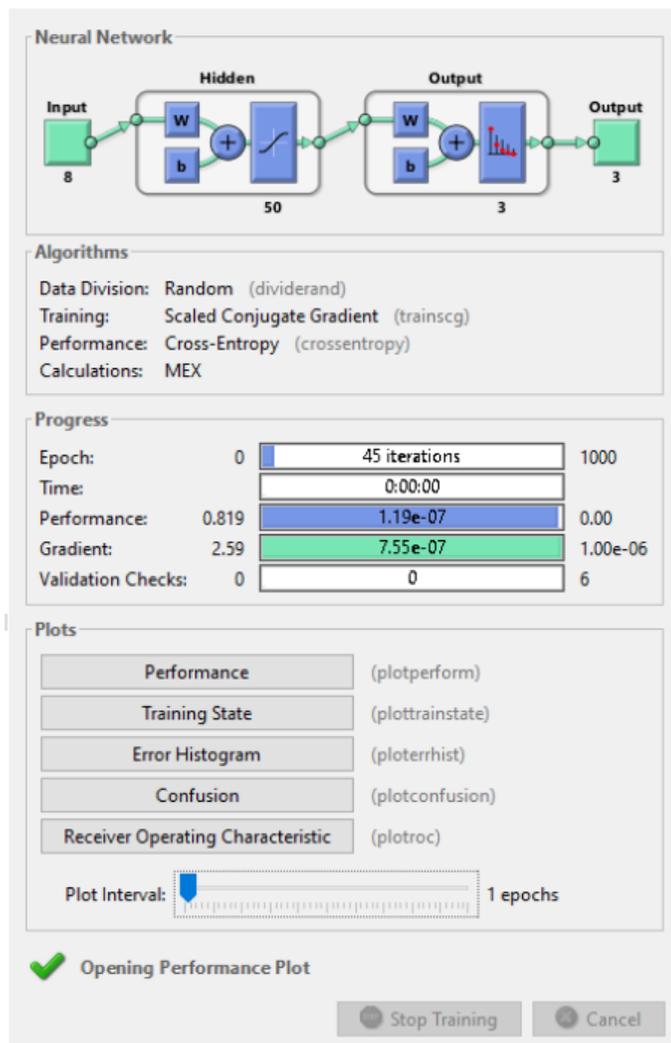
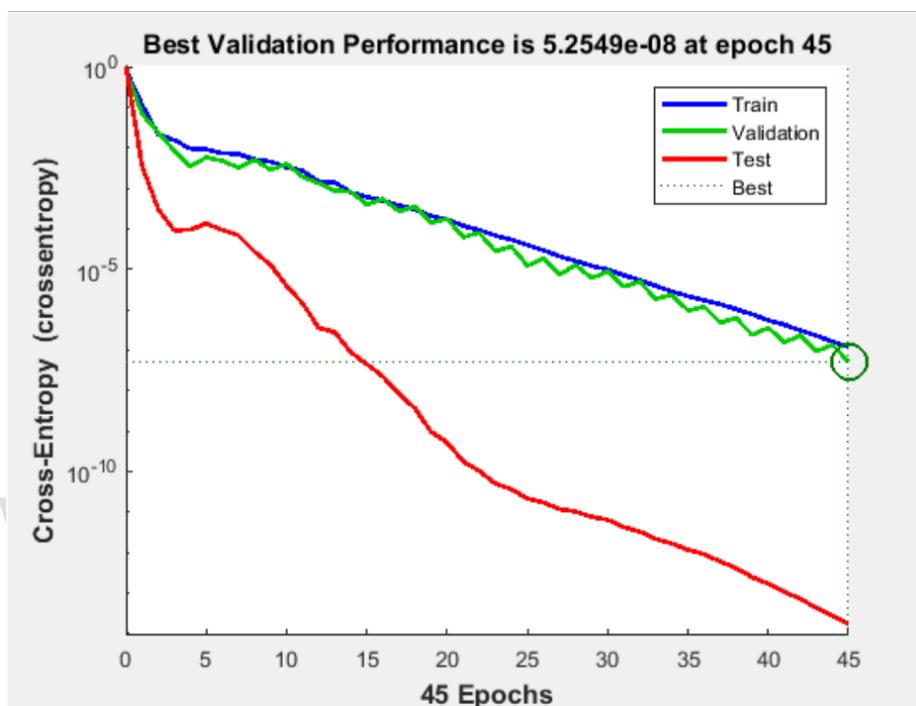


Fig. 4.1 Entrenamiento de la red neuronal.

Se logró un buen rendimiento de la red neuronal, mostrado en la gráfica 4.6, en el cual se puede observar que durante el entrenamiento se alcanzó el mejor desempeño en la época 45 con un error medio cuadrado (MSE, por sus siglas en inglés) de $5,2549 \times 10^{-8}$, representando el error de validación más bajo.



Gráfica 4.6 Rendimiento de la red neuronal

Por lo tanto, se deduce que fue posible entrenar una red neuronal con un rendimiento admisible. Sin embargo, no es factible considerar que la red neuronal entrenada es completamente válida para ser aplicada en futuras investigaciones debido a que se obtuvieron pocos registros para entrenamiento, y especialmente considerando que el número de muestras correspondientes a la etapa post descarga y etapa post ictal son muy escasas.

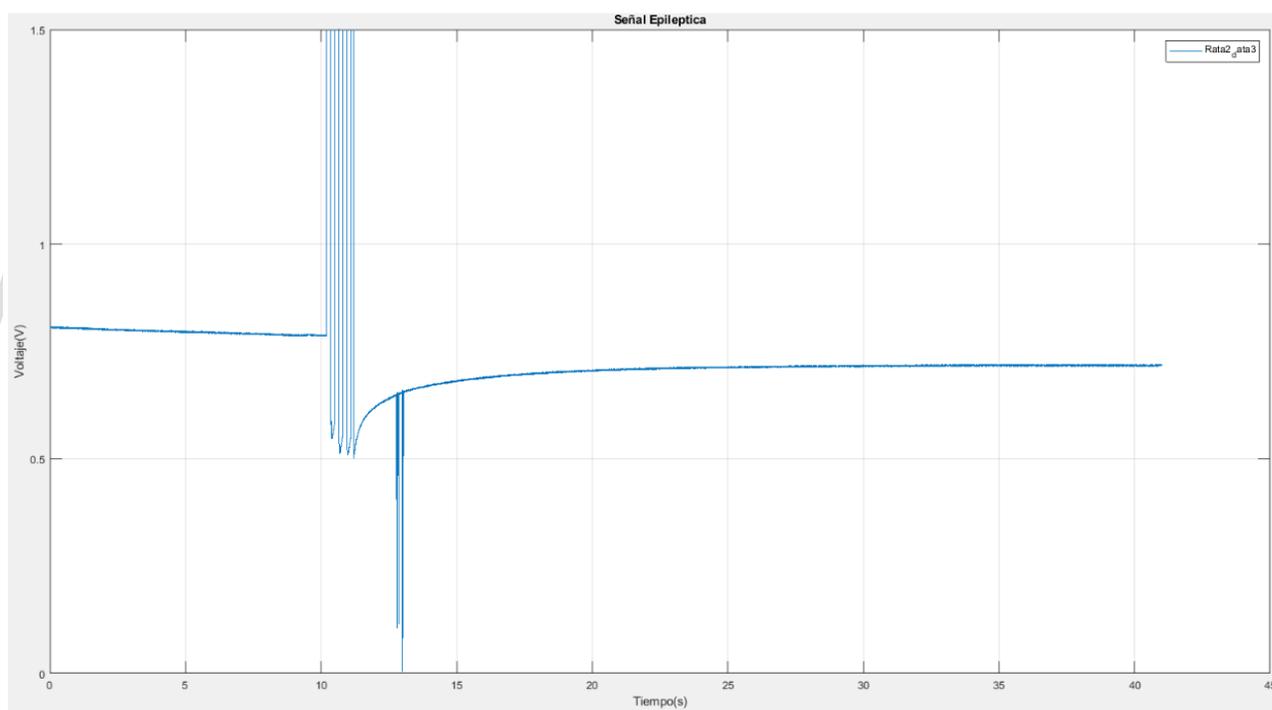
Se infiere por la corta duración de las ondas post descarga y lo que definió el especialista como onda post ictal, influye en la deficiencia de la red neuronal para ser aplicada. Aun

cuando se logró entrenar bajo parámetros aceptables, la cantidad de muestras utilizada en post descarga y post ictal es mucho menor a las obtenidas de señal base.

De todos modos, se realizó la evaluación de las ondas con la red neuronal con la finalidad de estudiar su funcionamiento.

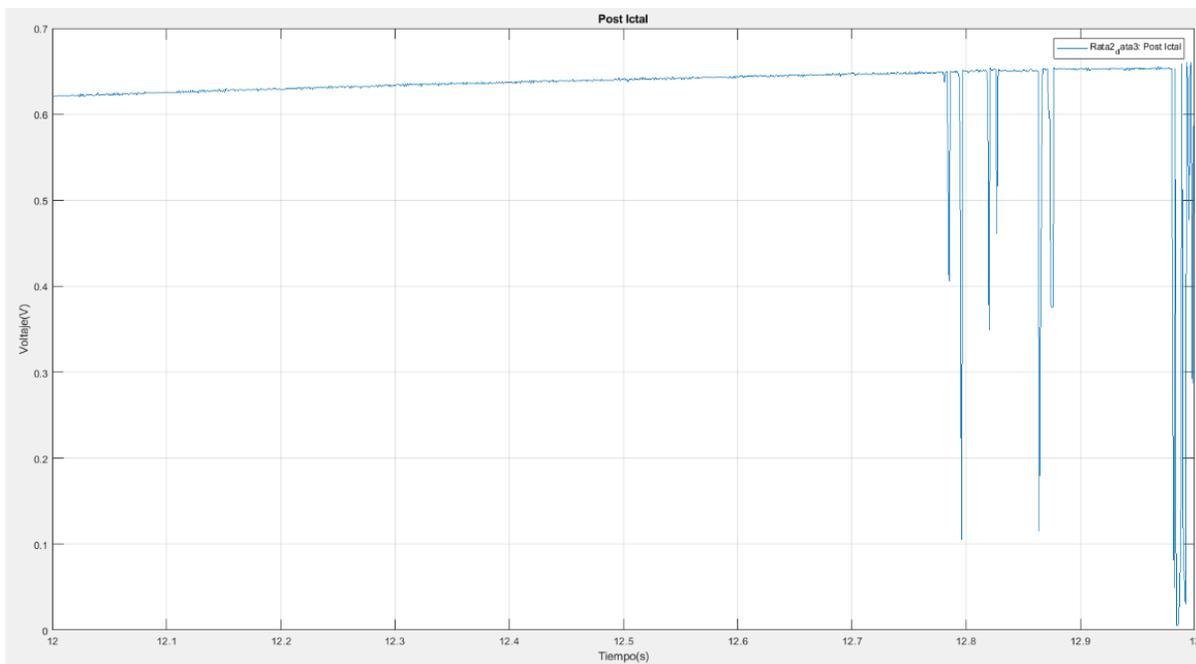
4.4 RESULTADOS EN LA EVALUACIÓN Y DEFINICIÓN DE LA FASE POST EPILÉPTICA

Como fue mencionado anteriormente, se seleccionó la data tres (3) de la rata 2 para realizar las pruebas de la red neuronal. El registro de dicha data se muestra en la gráfica 4.7:



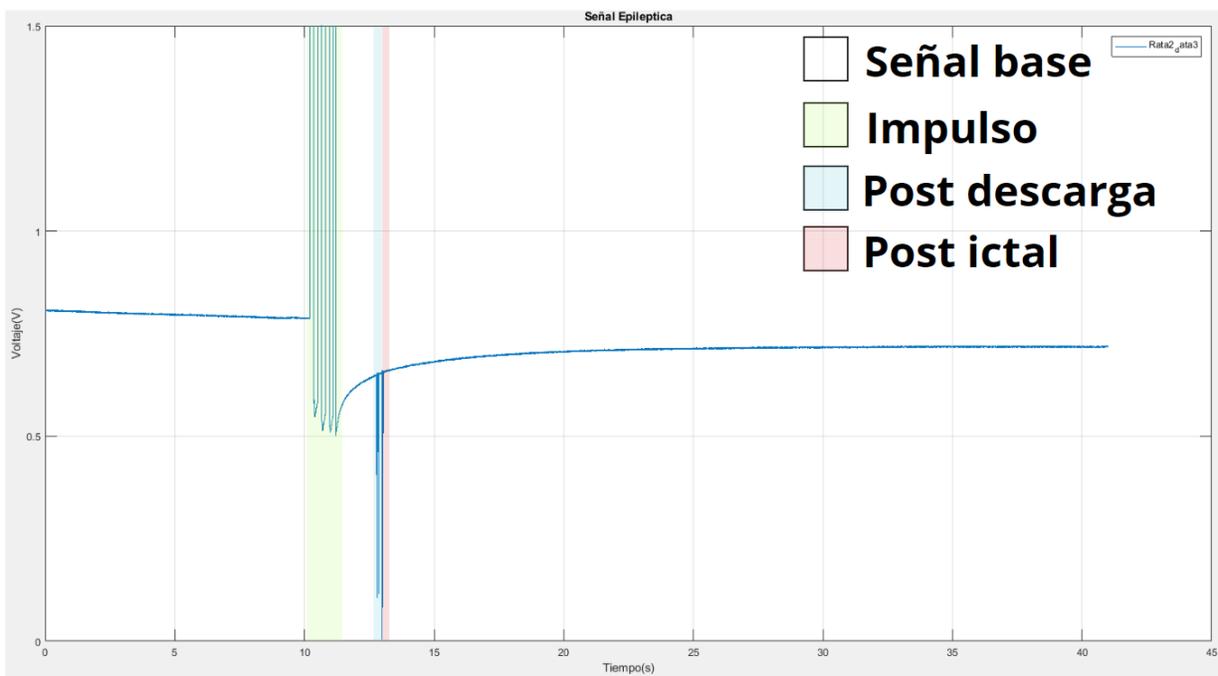
Gráfica 4.7 Registro de los biopotenciales (Rata 2 – Data 3)

Se implementó el algoritmo para evaluar el patrón de ondas cerebrales en ratas Wistar obteniendo como resultado la onda mostrada en la gráfica 4.8, evidenciando un acertamiento de la onda post ictal. No obstante, la clasificación de la onda corresponde en su mayoría a la onda de post descarga.

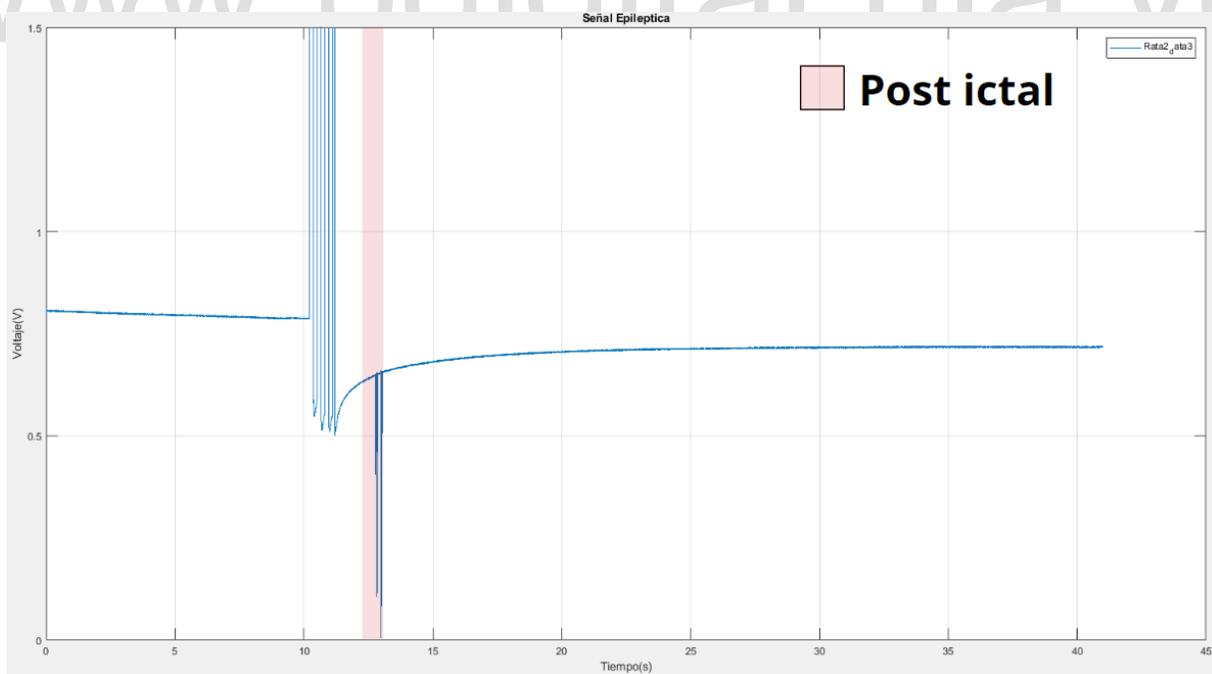


Gráfica 4.8 Evaluación de la onda post ictal

Esto se puede demostrar observando la gráfica 4.9, en la que se identifica, por el especialista Pedro Pieruzzini, las etapas de señal base, impulso, post descarga y post ictal del registro tres (3) de la rata 2. Al comparar con la gráfica 4.10, donde se resalta la onda identificada por la red neuronal como onda post ictal, se comprueba que la red neuronal evalúa y determina la onda post ictal, sin embargo, la duración de la onda post descarga es tan corta, que la red neuronal la incluye dentro de la clasificación. Esto puede mejorar al obtener mayor cantidad de muestras de las etapas post descarga y post ictal para el entrenamiento de la red neuronal.



Gráfica 4.9 Identificación de etapas en el registro de los biopotenciales (Rata 2 – Data 3)



Gráfica 4.10 Onda post ictal identificada por la red neuronal

Por lo tanto, se afirma que, a efectos de futuras investigaciones, no se recomienda utilizar dicha red neuronal debido a la poca base de datos que se obtuvo para su entrenamiento. Aun así, se concluye que la metodología y los algoritmos aplicados pueden servir de base para alcanzar a desarrollar una red neuronal con la suficiente capacidad de detectar una onda post ictal.

Por otro lado, se hace mención del inconveniente presentado por la ruptura del electrodo activo en la población que tenía como finalidad registrar las ondas para la etapa final correspondiente a la evaluación y definición de la onda post ictal. Por tal razón, se decidió utilizar la data tres (3) de la rata 2 de la base de datos, como registro único para dichas pruebas, significando que no es posible concluir que la red neuronal entrenada es competente para evaluar y definir nuevos registros.

De igual manera, se determinó que no es viable efectuar la definición de las ondas post ictales en vista a que el objetivo de esta última etapa, era reconocer las características que describen a la fase post epiléptica, sin embargo, ya que no es factible reconocer dicha onda con la red neuronal, ejecutar la definición representaría resultados erróneos.

Para finalizar, es importante mencionar que se esperaba en este grupo de experimentos conseguir los hallazgos de [1], en cuanto a lo que se refiere la adquisición de ondas, donde luego de numerosas estimulaciones, las ratas Wistar se encontraron en un estatus epiléptico favorable, y es de allí que se planteó la meta de esta investigación. Sin embargo, las condiciones experimentales son diferentes, y haciendo referencia a los inconvenientes presentados, se obtuvo ratas muy poco susceptibles a generar estatus epiléptico por lo que los registros adquiridos no eran apropiados para identificar la onda post ictal.

Cabe destacar que, a pesar de todos los inconvenientes experimentales ocurridos, los métodos propuestos se consideran los más idóneos para alcanzar el reconocimiento de la onda post ictal ya que considerando los pocos registros obtenidos, se obtuvo un reconocimiento parcial de la fase post ictal.

CONCLUSIONES

La idea principal de este trabajo fue presentar una propuesta que permitiera analizar las ondas del proceso experimental de *Kindling* mediante redes neuronales artificiales para reconocer las ondas post epilépticas y que, además, se pudiese identificar si es posible o no, emular el mecanismo propio del cerebro que reestablece el asincronismo luego de una crisis epiléptica, si se lograba definir la onda post ictal. A pesar de obtener como resultado un reconocimiento parcial de la onda post ictal, dicha onda no podrá ser usada para emular el mecanismo propio del cerebro, sin embargo, la propuesta se considera el camino correcto para identificar la onda post ictal.

En virtud de llevar adelante todos los objetivos fue necesario indagar profundamente en el estado del arte de los procesos experimentales para la inhibición de la epilepsia y los estudios realizados en el laboratorio de Fisiología de la Conducta en esta área, cuyo propósito represento el conocimiento de la base teórica necesaria para comprender las metas y desarrollar la metodología acorde para poder ejecutar esta investigación, encontrando la metodología más idónea para obtener la onda post ictal.

Aunado a esto, la identificación y eliminación de los factores de interferencia electromagnéticas fue llevado a cabo exitosamente, permitiendo contribuir a un mejor desempeño en los sistemas eléctricos y electrónicos, y a obtener las mediciones con los requerimientos esperados, siendo indispensable para investigaciones de esta índole.

Por otra parte, se logró el propósito de elaborar un software que permitiera de manera confiable y cómoda para un usuario, controlar las variables de estimulación y registrar las señales eléctricas en el proceso experimental del *Kindling*, siendo este un importante aporte para los diversos experimentos que se llevan a cabo en el laboratorio de Fisiología de la Conducta.

Ahora bien, revisando las investigaciones experimentales, sobre todo en el campo de la biomédica, son susceptible a encontrarse con un gran número de dificultades y situaciones desfavorables. Como ocurrió con todos los factores que influyeron en la escasa base de datos obtenida, que impidió, posiblemente, alcanzar una respuesta positiva a la detección de la onda post ictal. No obstante, se logró la implementación de un modelo basado en redes neuronales para clasificar, procesar y analizar señales epilépticas, utilizando como base de datos las muestras registradas de la actividad cerebral en ratas Wistar.

Es conveniente destacar que el procesamiento de las ondas de validación a pesar de no reconocer completamente a la fase post ictal, la reconoce parcialmente, esto ocurrió debido a los pocos datos de entrenamiento, y aunque no corresponde a la onda que puede ser utilizada para la emulación del mecanismo endógeno del cerebro, apunta a que si puede ser un camino para obtener la clasificación y luego lograr la definición de la onda post ictal.

Finalmente, con lo expresado anteriormente, y a pesar de las complejidades presentadas, se concluye que el desarrollo del proyecto cumplió con los objetivos planteados, logrando brindar herramientas de gran ayuda para los profesionales del área biomédica que será el punto de partida para continuar la investigación de la epilepsia que se lleva a cabo en el laboratorio de Fisiología de la Conducta, de la Universidad de Los Andes.

RECOMENDACIONES

En función de obtener avances en la investigación para definir de la onda post ictal se recomienda:

- Estandarizar el estado de las ratas, como mantener: la misma edad, el mismo peso, la misma alimentación, etc.
- Diseñar un sistema de electrodos que permita la conexión del sistema de adquisición con la rata mucho más cómoda y segura, garantizando una buena conexión.
- Diseñar un dispositivo que pueda controlar la corriente según la impedancia de la rata para ampliar la investigación del método del *Kindling* y verificar los parámetros más apropiados según las características de las ratas.
- Entrenar la red neuronal con el procedimiento descrito en este proyecto utilizando una base de datos más amplia haciendo énfasis en las ondas de post descarga y post ictal, para obtener una red neuronal con mayor precisión.
- Monitorear periódicamente la ubicación del electrodo realizando histologías al cerebro de las ratas para asegurar que las coordenadas corresponden a la ubicación de la amígdala basolateral.
- Mejorar la adhesión de los electrodos en la corteza cerebral con la finalidad de evitar rupturas o solturas de los electrodos durante los experimentos.
- Diseñar una interfaz de usuario que pueda ser implementada para controlar el proceso de preprocesamiento, entrenamiento y evaluación de la red neuronal de manera más amigable para un usuario fuera del ámbito de la ingeniería.

REFERENCIAS

- [1] R. González, *Diseño e implementación de un sistema automatizado para la estimulación y registro eléctrico cerebral en ratas basados en el modelo de Kindling*, Mérida: Trabajo de Grado no publicado. Universidad de Los Andes, 2017.
- [2] Zavala-Tecuapetla, C. López-Meraz y María-Leonor, «Modelos experimentales de epilepsia en ratas en desarrollo,» *eNeurobiologia*, vol. 2, n° 2, p. 16, 2011.
- [3] M. C. Herrera y M. Velasco, «Estimulación eléctrica y epilepsia,» *Ciencia*, 2005.
- [4] C. V. Torres, J. Pastor, E. G. Navarrete and R. G. Sola, "Estimulación cerebral profunda talámica para la epilepsia resistente," *Neurol*, vol. 53, no. 2, 2011.
- [5] C. Niebles and J. A. A. Díaz, "Y después del estatus convulsivo?," *Acta Neurol Colomb*, vol. 27, pp. 62-67, 2011.
- [6] B.-M. E., "Vagus nerve stimulation for the treatment of epilepsy," *Lancet Neurol*, vol. 1, p. 82, 2003.
- [7] «Organización Mundial de la Salud,» 20 Junio 2019. [En línea]. Available: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/epilepsy#:~:text=Datos%20de%20la%20enfermedad&text=La%20proporci%C3%B3n%20estimada%20de%20la,epilepsia%20en%20todo%20el%20mundo..> [Último acceso: 2021].
- [8] E. Salabert, «WebConsultas. Revista de salud y bienestar,» 6 Agosto 2019. [En línea]. Available: <https://www.webconsultas.com/curiosidades/por-que-se-utilizan-ratones-en-el-laboratorio#:~:text=Aunque%20no%20son%20los%20C3%BAnicos,infecci%C3%B3n%20o%20una%20intoxicaci%C3%B3n%20experimental..> [Último acceso: 2022].
- [9] F. Arias, El proyecto de investigación: Introducción a la metodología científica, 6ª ed., EPISTEME, 2012, pp. 31-34.
- [10] S. M, V. K, C. E, M. AG y B. P, «Deep brain and cortical stimulation for epilepsy,» *Cochrane Database of Systematic Reviews*, n° 7, 2017.
- [11] E. E. Benarroch, "La amígdala," *Neurology*, pp. 31-42, 2015.
- [12] J. R. Hilera and V. J. Martínez, *Redes neuronales artificiales. Fundamentos, modelos y aplicaciones*, Madrid: RA-MA, 1995.
- [13] A. B. Pratiwi, A. Damayanti y Miswanto, «Electroencephalography epilepsy classifications using hybrid cuckoo search and neural network,» de *AIP Conference Proceedings 1862*, 2017.
- [14] N. Yalcin, G. Tezel y C. Karakuzu, «Epilepsy diagnosis using artificial neural network learned by PSO,» *Turkish Journal of Electrical Engineering & Computer Sciences*, vol.

- 23, pp. 421-432, 2015.
- [15] P. Khanwani, S. Sridhar and Mrs.K.Vijaylakshmi, "Automated Event Detection of Epileptic Spikes using Neural Networks," *International Journal of Computer Applications*, vol. 2, no. 4, 2010.
- [16] «Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades,» 30 Mayo 2018. [En línea]. Available: <https://www.cdc.gov/epilepsy/spanish/basicos/convulsiones.html>. [Último acceso: 2022].
- [17] J. Varela-Benítez, J. Rivera-Delgado, J. Espina-Hernández and J. d. I. Rosa-Vázquez, "Electrodo capacitivo de alta sensibilidad para la detección de biopotenciales eléctricos," *Revista mexicana de ingeniería biomédica*, vol. 36, no. 2, 2015.
- [18] J. C. M. Cardona, «Sistema de adquisición de biopotenciales para entornos académicos,» 2013.
- [19] J. F. G. Martínez, "Bioseñales," 2011.
- [20] «DACER,» 2020. [En línea]. Available: <https://www.dacer.org/entendiendo-al-cerebro-potenciales-de-accion-y-sinapsis/>. [Último acceso: 2022 Marzo 18].
- [21] Z. D. D. Gajic, S. D. Gennaro y F. Gustafsson, «Classification of EEG signals for detection of epileptic seizures based on wavelets and statistical pattern recognition,» *Biomedical Engineering: Applications, Basis and Communications*, vol. 26, nº 2, 2014.
- [22] M. Juan, "Sistema de adquisicion de biopotenciales para entornos academicos.," 2013.
- [23] G. Alfaro, «Biomedica e instrumentación,» 29 Agosto 2012. [En línea]. Available: <https://sites.google.com/site/biomedicaeinstrumentacion/biopotenciales>. [Último acceso: 3 Marzo 2022].
- [24] A. F. M. Sánchez, «Diseño e implementación de un sistema de adquisición,» Ciudad de México, 2020.
- [25] A. F. García, «Psicología-Online,» 27 Enero 2022. [En línea]. Available: <https://www.psicologia-online.com/amigdala-cerebral-que-es-ubicacion-partes-y-funciones-6129.html>. [Último acceso: 5 Marzo 2022].
- [26] A. Torres, "Hipocampo," Kenhub, 2022.
- [27] O. C. Mimenza, "Amígdala cerebral: estructura y funciones," *Psicología y Mente*, Barcelona.
- [28] N. R. Carlson, *Fisiología de la conducta*, Madrid: Pearson Education, S.A., 2014.
- [29] E. M. Prager, H. C. Bergstrom, G. H. Wynn and M. F. M. Braga, "The Basolateral Amygdala GABAergic System in Health and Disease," *J Neurosci Res*, vol. 94, no. 6, pp. 548-567, 2016.
- [30] "Vivir con Epilepsia," 2022. [Online]. Available: <https://vivirconepilepsia.es/diagnostico-tratamiento-epilepsia>. [Accessed 21 Marzo 2022].
- [31] "Mayo Clinic," 2022. [Online]. Available: <https://www.mayoclinic.org/es-es/diseases-conditions/epilepsy/symptoms-causes/syc-20350093>. [Accessed 21 Marzo 2022].

- [32] «National Instruments,» [En línea]. Available: <https://www.ni.com/es-cr/shop/data-acquisition.html>. [Último acceso: 4 Marzo 2022].
- [33] K. Soundarapandian and M. Berarducci, "Analog Front-End Design for ECG Systems Using Delta-Sigma ADCs," Texas Instruments, 2010.
- [34] P. C. Calvo, A. Escobar and C. Pinedo, "Interferencia electromagnética en equipos médicos debida a equipos de comunicación inalámbrica," *Fac. Ing. Univ. Antioquia*, vol. 46, pp. 90-100, 2008.
- [35] C. I. B. Cueva, Diseño de la jaula de Faraday y puesta a tierra del laboratorio de alta tensión de la ESPOL., Guayaquil, 1988.
- [36] Ó. A. M. Herrerías, «Jaula de Faraday,» Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, [En línea]. Available: <https://www.uaeh.edu.mx/scige/boletin/prepa4/n10/r3.html>. [Último acceso: 22 Marzo 2022].
- [37] "National Instruments," [Online]. Available: <https://www.ni.com/es-cr/shop/labview.html>. [Accessed 18 Noviembre 2021].
- [38] "The MathWorks, Inc.," 2022. [Online]. Available: https://la.mathworks.com/help/matlab/learn_matlab/product-description.html. [Accessed 18 Noviembre 2021].
- [39] B. M. d. Brío and A. S. Molina, Redes neuronales y sistemas difusos, Madrid: Ra-Ma, 2002.
- [40] «National Instruments Corp.,» 2022. [En línea]. Available: <https://www.ni.com/es-cr/support/model.usb-6009.html>. [Último acceso: 2022 Marzo 29].
- [41] M. Semeria, "Los tres teoremas: Fourier - Nyquist - Shannon," Serie Documentos de Trabajo No. 582 Universidad del CEMA, Buenos Aires, 2015.
- [42] M. E. Monetal and F. Lolas, "Epilepsia Experimental y Plasticidad Neuronal: el Efecto "Kindling"," *Investigación Clínica*, vol. 20, no. 4, pp. 237-249, 2009.
- [43] S. F. Lian, Y. L. Wang and F. Z. Shaw, "Development of Seizure Monitoring and Control Systems for Epileptic Animal Models," in *Biomedical Electronics Translation Research Center*, Taiwan, 2014.
- [44] M. D. Jiménez, "Modelos experimentales de Kindling para el estudio de la epilepsia," Madrid, 2014.
- [45] O. v. B. u. Halbach, K. Schulze and D. Albrecht, "Amygdala-Kindling Induces Alterations in Neuronal Density and in Density of Degenerated Fibers," *Hippocampus*, vol. 14, pp. 311-318, 2004.
- [46] H. F. B. S . Kaura, A. .. M. J. .. Young, M. J. .. Croucher and P. D. Hughes, "Effect of Amygdaloid Kindling on the Content and Release of Amino Acids from the Amygdaloid Complex: In Vivo and In Vitro Studies," *Neurochemistry*, vol. 65, pp. 1240-1249, 1995.
- [47] Z. Ghotbedin, M. Janahmadi, J. Mirnajafi-Zadeh, G. Behzadi and S. Semnianian, "Electrical low frequency stimulation of the kindling site preserves the

electrophysiological properties of the rat hippocampal CA1 pyramidal neurons from the destructive effects of amygdala kindling: The basis for a possible promising epilepsy therapy," *Brain Stimulation*, pp. 1-9, 2012.

- [48] B. Humphreys, "ConvertTDMS (v10)," GitHub, 2022.
- [49] A. Blenkmann, N. v. Ellenrieder and S. Kochen, "Evaluación de sLORETA para la resolución del problema inverso en ECoG utilizando modelos de poblaciones neuronales fisiológicamente plausibles," in *RPIC* , 2011.
- [50] K. M. Wassum and A. Izquierdo, "The basolateral amygdala in reward learning and addiction," *Neurosci Biobehav*, vol. 57, pp. 271-283, 2015.
- [51] M. Torras, I. Portell and I. Morgado, "La amígdala: implicaciones funcionales," *Neurol*, vol. 33, pp. 471-476, 2001.
- [52] P. I. Viñuela and I. M. G. León, *Redes de neuronas artificiales. Un enfoque práctico*, Madrid : Pearson, 2004.

www.bdigital.ula.ve

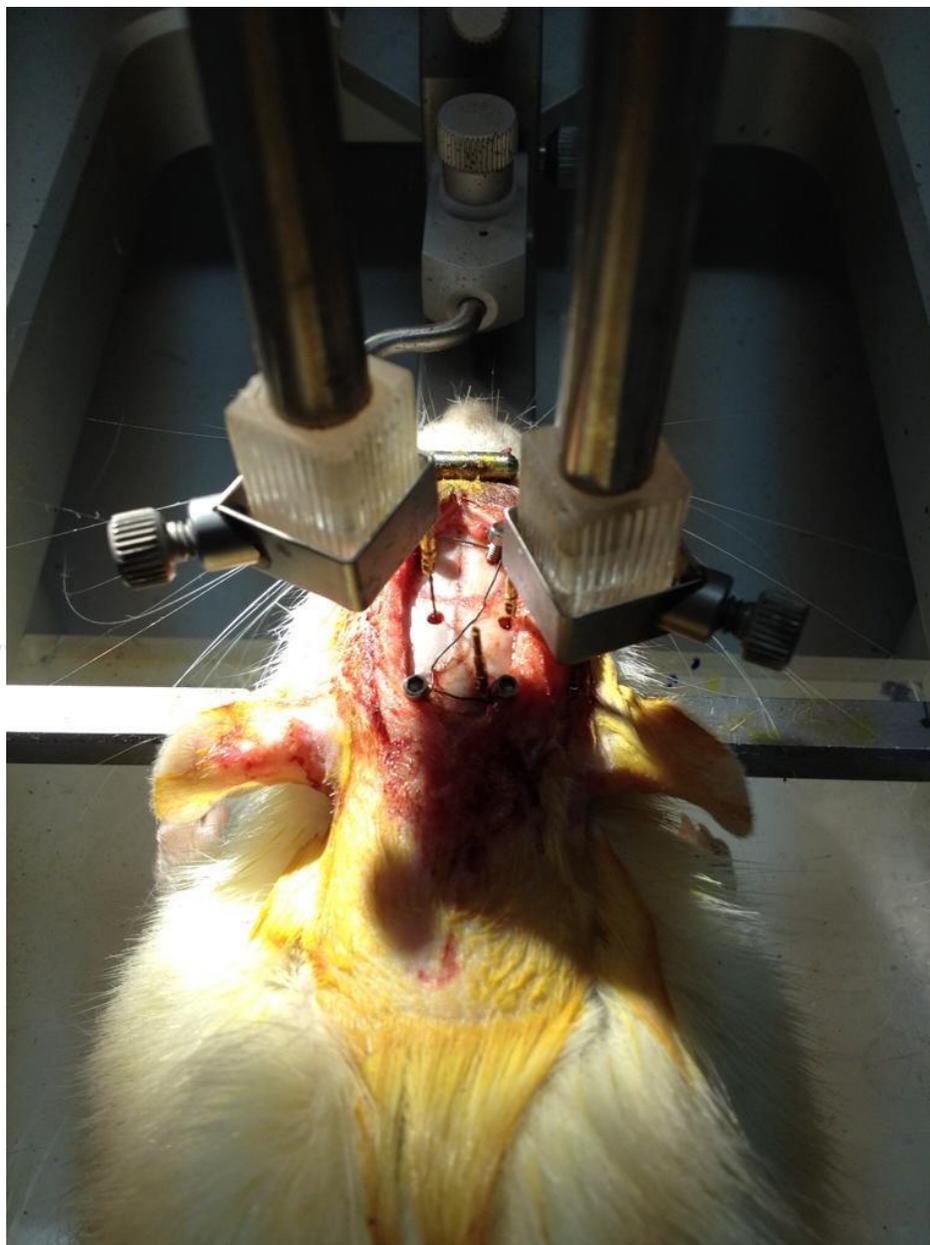
ANEXOS



Anexo 1



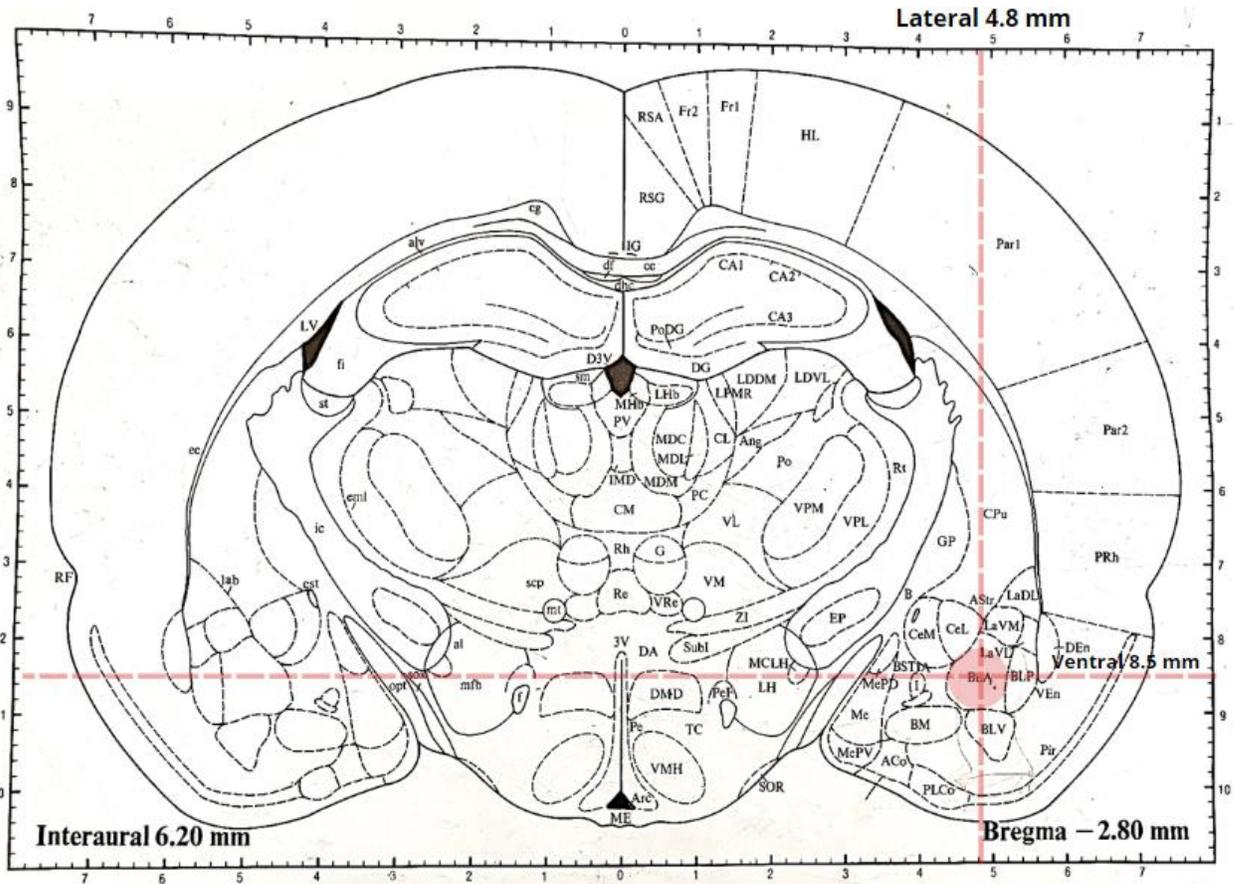
Anexo 2



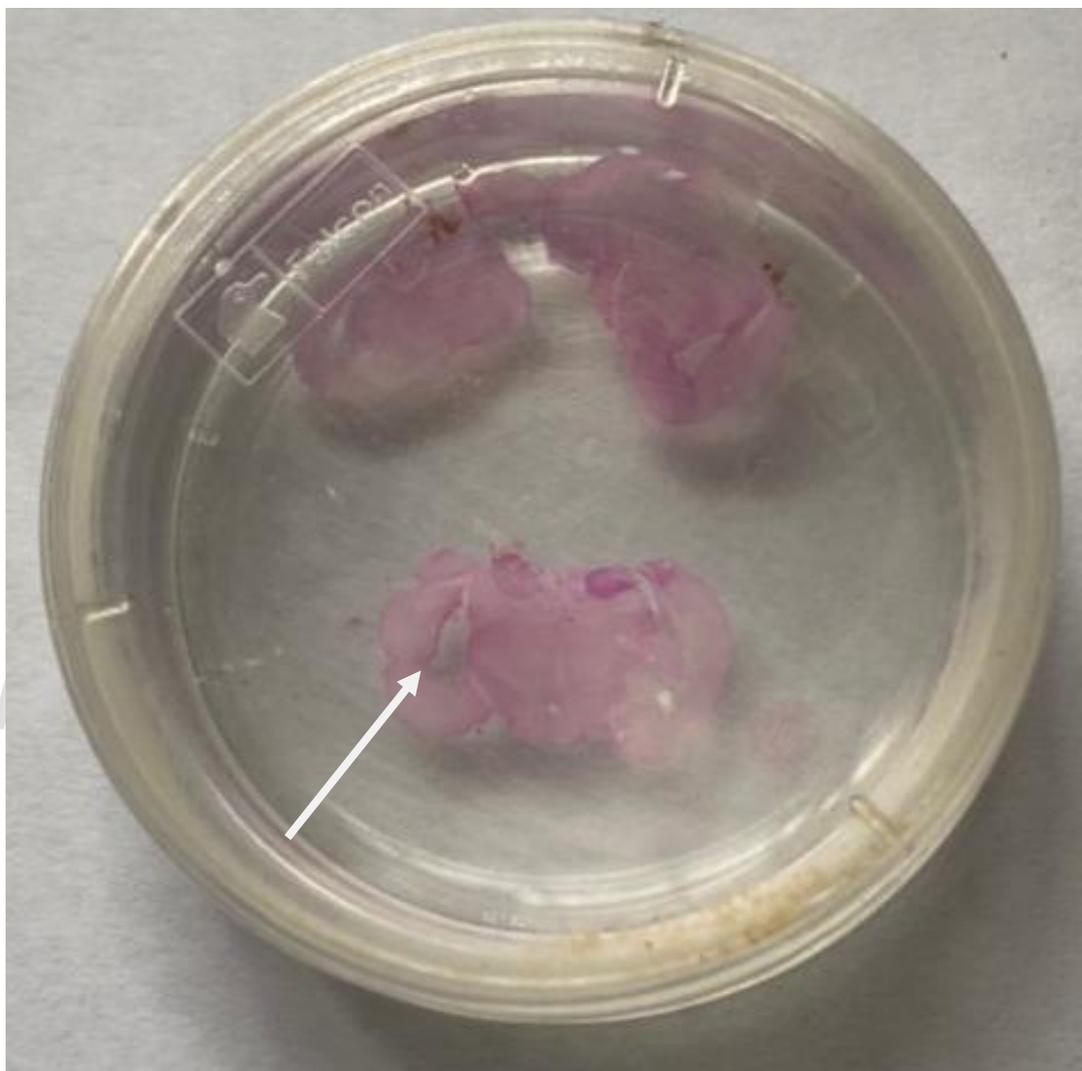
Anexo 3



Anexo 4



Anexo 5



Anexo 6