

**Centro de Investigación y de Estudios Avanzados  
del Instituto Politécnico Nacional**

Unidad Monterrey

*Determinar un método de medición de impulsos nerviosos en un  
modelo in vivo y su relación con el protocolo de comunicación  
del Sistema Nervioso Central.*

**Tesis que presenta:**

Joel Humberto Sánchez Paz

**Para obtener el grado de Maestro en Ciencias en:**

Ingeniería y Física Biomédicas

**Director de tesis:**

Dr. José L. Leyva Montiel

**Co-director de tesis:**

Dr. Bruno A. Escalante Acosta

*Apodaca, Nuevo León*

*Agosto, 2012*

# Agradecimientos

Quiero agradecer al CONACYT por el apoyo para poder estudiar la maestría así como al Cinvestav Unidad Monterrey y su personal académico-administrativo. A Diana Vargas por su apoyo y amistad, a Don Nabor por ser muy responsable y hacer muy ameno los viajes, a Amelia por su apoyo en el laboratorio, a mis sinodales el Dr. Daniel y el Dr. Jesús por sus consejos y sugerencias con mi tesis y al Dr. Bruno Escalante por su ayuda, apoyo y opciones que siempre me brindaba pero sobre todo por hacerme ver lo maravilloso y gratificante que es dedicarse a la ciencia. A mi asesor, el Dr. José Luis, por impulsarme para no quedarme con lo obvio sino siempre indagar más y a Abraham Álvarez por la asesoría en mi estancia en Guadalajara.

A mis compañeros de la maestría por ser como una segunda familia aquí en Monterrey en especial a Pamela, Diego, Ivan, Rocio, Claudia, Eli Macías y sobre todo a Ludivina y Linda, a esas dos grandes amigas con las que compartí tanto buenos como malos momentos durante esta maestría.

A mi familia por siempre apoyarme e impulsarme a no rendirme en cada nueva aventura que emprendo en mi vida. En especial dedico este esfuerzo a mis padres, a mi madre Felipa por sus noches de desvelo preocupándose por mí y mi padre Joel un ser humano ejemplar y con un corazón enorme, gracias a ellos he llegado hasta donde estoy hoy en día. De igual forma a mi hermana mayor Viviana, por ser no solo una hermana sino también como una segunda madre. A mis hermanitos, mi futura doctora Catalina, mi maestra Sandra y mi futuro ingeniero Rudy, los quiero mucho.

De igual forma dedico esta tesis a mi compañera, mi alegría, mi fortaleza, el ser que nunca dejó que me venciera y apesar de las dificultades y la distancia supo brindarme su apoyo incondicional, a ti mi amor Claudia Ramírez, mil gracias.

A todos, gracias totales.

# Índice

<b>Abreviaturas</b>	<b>VI</b>
<b>Resumen</b>	<b>VII</b>
<b>Abstract</b>	<b>VIII</b>
<b>1. Introducción</b>	<b>1</b>
<b>2. Marco teórico</b>	<b>7</b>
2.1. Protocolo de Comunicaciones . . . . .	7
2.1.1. Sistema Público Telefónico . . . . .	7
2.1.2. Red de Internet . . . . .	11
2.1.3. Similitudes entre las redes . . . . .	13
2.2. Sistema de Registro VitalSys . . . . .	14
2.2.1. Características del Vitalsys . . . . .	14
2.2.2. Electrónica del Sistema VitalSys . . . . .	18
<b>3. Hipótesis</b>	<b>21</b>
<b>4. Objetivos</b>	<b>21</b>
<b>5. Metodología</b>	<b>22</b>

5.1. Modificaciones al Sistema de Registro . . . . .	22
5.2. Equipo de Medición . . . . .	23
5.3. Preparación del animal . . . . .	23
5.4. Experimentos . . . . .	26
5.5. Determinación del número de fibras nerviosas . . . . .	28
<b>6. Resultados</b>	<b>30</b>
6.1. Primeras observaciones . . . . .	30
6.2. Duración de las Espigas . . . . .	33
6.3. Tiempo entre Espigas . . . . .	34
6.4. Tiempo de respuesta al estímulo . . . . .	37
6.5. Reconstrucción de la Información . . . . .	38
<b>7. Discusión y Conclusiones</b>	<b>42</b>
<b>8. Trabajo a Futuro</b>	<b>43</b>
<b>Referencias</b>	<b>44</b>



# Índice de figuras

1.	Transmisión del impulso nervioso en el axón (izquierda) y su representación gráfica (derecha) [1]. . . . .	2
2.	Eje sensitivo (izquierda) y eje motor (derecha) del sistema nervioso [1].	2
3.	Modelo simplificado del sistema nervioso. . . . .	4
4.	Registros de dos diferentes zonas del cerebro en ratas. . . . .	5
5.	Sistema Telefónico mundial. . . . .	8
6.	Circuito telefónico local. . . . .	9
7.	Formato ESF T1. . . . .	9
8.	Formato E1. . . . .	10
9.	Red de Internet. . . . .	11
10.	Mensajes en la Red de Internet. . . . .	12
11.	Arquitectura del sistema VitalSys . . . . .	14
12.	Ejemplos de una señal con distintos filtros activados. . . . .	16
13.	Ejemplos de una señal con diferentes escalas. . . . .	17
14.	Ejemplos de una señal con marcadores. . . . .	18
15.	Tarjeta VitalSys. . . . .	18
16.	Esquema del Front End del sistema VitalSys. . . . .	19
17.	Modificación al electrodo. . . . .	22
18.	Preparación del animal. . . . .	24

19.	Cirugía para exponer el nervio femoral. . . . .	25
20.	Animal con electrodos . . . . .	26
21.	Ejemplo del Withdrawal Reflex. . . . .	27
22.	Tipo de secuencias. . . . .	30
23.	Fibras nerviosas del registro. . . . .	31
24.	Respuesta prolongada. . . . .	32
25.	Tiempos promedios de espigas por estímulo y tipo de secuencia. . . . .	33
26.	Histograma de tiempos entre espigas. . . . .	35
27.	Ejemplo del tiempo entre espigas. . . . .	36
28.	Tiempo de Respuesta. . . . .	37
29.	Reconstrucción de señales. . . . .	38
30.	Reconstrucción de EPI y EPD. . . . .	39
31.	Sincronía a partir de 1 espiga. . . . .	40
32.	Sincronía a partir de 1 espiga, con menor tiempo entre esta y el mensaje. . . . .	40
33.	Sincronía a partir de 2 espigas. . . . .	41
34.	Solo mensaje. . . . .	41

# Índice de tablas

1.	Elementos de la red nerviosa desde el punto de vista de ingeniería . . .	4
2.	Intervalos de tiempo de la duración de las espigas . . . . .	34

# Abreviaturas

SNC	Sistema Nervioso Central	SPN	Secuencia Positivo-Negativa
RNC	Red Nerviosa Conmutada		
SP	Sorting Spikes		
PCA	Principal Component Analysis		
ICA	Independent Component Analysis		
ISI	Inter-Spike Interval		
NEO	Nonlinear Energy Operator		
SPS	Samples Per Second		
SNR	Signal Noise Relationship		
RLD	Right Leg Drive		
EPD	Estimulo Pata Derecha		
EPI	Estimulo Pata Izquierda		
SP	Secuencia Positiva		
SN	Secuencia Negativa		

# Resumen

El Sistema Nervioso Central (SNC), detecta y controla el funcionamiento de los diferentes sistemas que componen al cuerpo humano. La información viaja a través de los nervios como potenciales de acción (espigas), los cuales son esenciales para mantener la vida y la conciencia de ser. Los potenciales de acción son importantes en investigaciones de neurociencias ya que se sabe que son usados por el cerebro para codificar la información.

En el presente trabajo se propone un método de medición e indentificación de potenciales de acción en un modelo *in vivo* en ratas, a través de la modificación de un sistema de registro para mediciones de ECG desarrollado en el Cinvestav Guadalajara y con un método de clasificación de espigas para determinar las características básicas de un protocolo de comunicación.

Esto se lleva a cabo mediante el registro y análisis de la respuesta a estímulos sensoriales realizados en la parte anterior de la extremidad inferior derecha e inferior izquierda de ratas. Los parámetros que son analizados son: tiempo de duración de las espigas, tiempo de separación entre espigas y el tiempo de respuesta al estímulo.

Los resultados muestran que el dispositivo es capaz de registrar la respuesta al estímulo utilizado y mediante el método de clasificación es posible obtener registros claros evitando así falsa información.

# Abstract

The Central Nervous System (CNS), sense and control the operation of different systems that make up the human body. Information travels through the nerves as action potentials (spikes) which are essential for maintaining life and awareness. Action potentials are important in investigations of neuroscience since it is known that are used by the brain to encode information.

In this thesis we propose a method for measuring and identifying of action potentials in an in vivo model in rats, through the modification of a registration system for ECG measurements developed at CINVESTAV Guadalajara and a method of classification of spikes to determine the basic characteristics of a communication protocol.

This is accomplished by recording and analyzing the response to stimuli sensitive made in the front of the right lower limb and lower left of rats. The parameters analyzed are: duration of the spikes, separation time between spikes and stimulus response time.

The results show that the device is capable of recording the response to the stimulus used and by the method of classification is possible to obtain clear records avoiding false information.

# 1. Introducción

El Sistema Nervioso Central (*SNC*), detecta y controla el funcionamiento de los diferentes sistemas que componen al cuerpo humano. En este contexto la red nerviosa es el sistema de comunicaciones que permite el intercambio de información entre sensores, procesadores y actuadores.

La información viaja por los nervios, a través de los axones, en forma de impulsos eléctricos de origen electroquímico. Estos impulsos se generan a partir de un intercambio iónico de sodio y potasio que generan un cambio súbito del potencial de membrana de negativo a positivo.

La membrana recibe un estímulo (*campo eléctrico*) haciéndola permeable a iones  $Na^+$ , los cuales se difunden al interior de la célula a través de los canales  $Na^+$ , sensibles al voltaje, cargándola positivamente pasando de un estado de reposo polarizado de  $-90mV$  a un estado activo de despolarización con un pico máximo de  $+30$  a  $+35mV$ . En una segunda etapa los canales de  $Na^+$  comienzan a cerrarse lentamente a la par de que los canales de  $K^+$  se abren difundiendo hacia el exterior iones  $K^+$ , restableciendo el potencial de membrana a valores negativos. Dado que debe existir un equilibrio en los niveles de iones (*intra y extra celular*), la bomba de  $Na^+-K^+$  se encarga de sacar iones  $Na^+$  e introducir iones  $K^+$  en una relación de  $3 : 2$  respectivamente, para que de esta manera regrese a su estado inicial de reposo polarizado, ver figura 1.

Cabe resaltar que el sentido de la propagación del impulso nervioso tiene una única dirección, a partir del sitio donde se crea, el cual va desde un punto origen hasta un punto destino y esto se debe principalmente al efecto del período refractario. Dicho período es el tiempo que debe transcurrir para que un estímulo umbral sea capaz de producir un nuevo potencial de acción.

Este manejo de la información puede tener dos vías de envío por medio de dos tipos de nervios; los aferentes que permiten llevar la información producida por las termi-

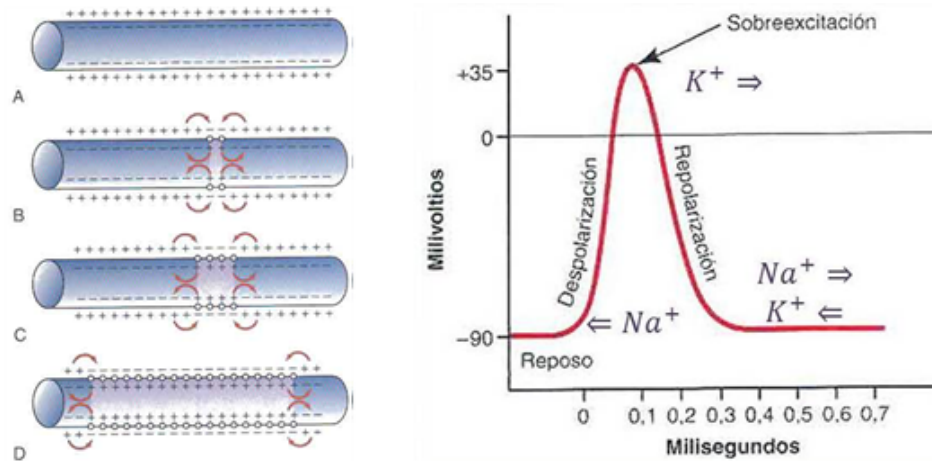


Figura 1: Transmisión del impulso nervioso en el axón (izquierda) y su representación gráfica (derecha) [1].

nales sensitivas instaladas en los órganos hacia los centros de decisión, médula espinal y cerebro. Y los nervios eferentes que permiten llevar la información producida en los centros de decisión a los mecanismos que actúan sobre los órganos para controlar su funcionamiento, por ejemplo: la contracción de los músculos esqueléticos, la contracción de la musculatura lisa en vísceras, y la secreción de sustancias químicas activas producidas por las glándulas exocrinas y endocrinas, ver figura 2, [1].

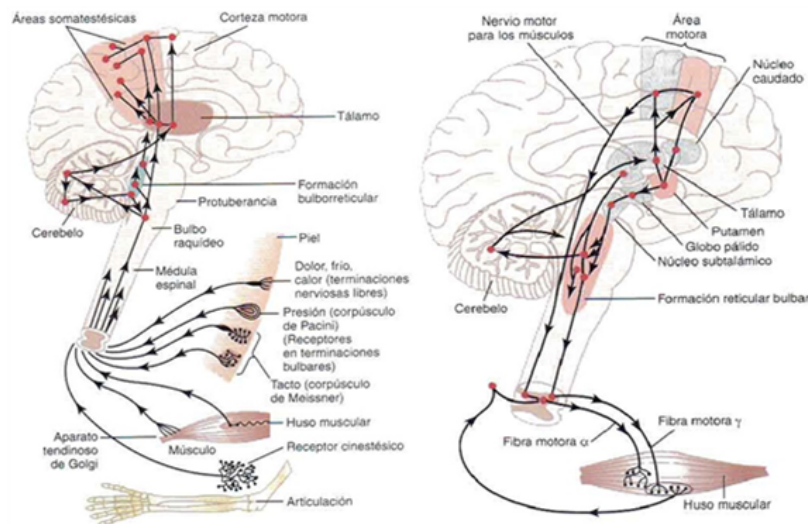


Figura 2: Eje sensitivo (izquierda) y eje motor (derecha) del sistema nervioso [1].



Desde el punto de vista de ingeniería podemos ver entonces al sistema nervioso como un sistema de comunicaciones complejo con un mecanismo inteligente de direccionamiento que permite el intercambio de información entre 2 o más partes. Un paralelismo entre la red nerviosa y una red de comunicaciones moderna se presenta en la tabla 1.

<b>Sistema Nervioso Central</b>	<b>Función</b>
<b>Cerebro</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Procesa información y realiza cálculos complejos</li> <li>- Toma decisiones y presenta un comportamiento</li> <li>- Centro de memoria; aprende y recuerda</li> <li>- Supervisa el funcionamiento del organismo</li> <li>- Genera los comandos de control de alto nivel</li> </ul>
<b>Médula Espinal</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Co-procesa los comandos de alto nivel generados por el cerebro</li> <li>- Genera los controles locales de bajo nivel</li> <li>- Enruta las señales nerviosas a su destino</li> </ul>
<b>Nervios</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Canal de comunicación que transporta información entre las partes</li> <li style="padding-left: 20px;">1. Unidireccional con diferentes velocidades de comunicación</li> <li style="padding-left: 20px;">2. En configuración serie y paralelo</li> </ul>
<b>Ganglios</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Redireccionamiento de mensajes</li> <li>- Regeneración de señales</li> </ul>
<b>Neuronas</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Neuronas Inhibidoras; checan dirección destino con objeto de aceptar o rechazar el mensaje</li> <li>- Neuronas Sensoras; transforman los estímulos sensoriales en señales eléctricas y las envía a la sección correspondiente del cerebro para su proceso</li> </ul>

- Neuronas Motoras; reciben el mensaje del cerebro y médula espinal causando la contracción muscular
--

Tabla 1: Elementos de la red nerviosa desde el punto de vista de ingeniería

Entonces las componentes que integran al sistema nervioso pueden verse como se muestra en la Figura 3. La Red Nerviosa Conmutada (*RNC*) hace referencia al sistema nervioso compuesto por espina dorsal, ganglios y los nervios. Este es, probablemente, responsable del co-procesamiento de comandos de alto nivel producidos por el cerebro, multiplexando y enrutando señales a través del nervio a su destino final. Sin embargo, el sistema *RNC* no es el objetivo de este proyecto.

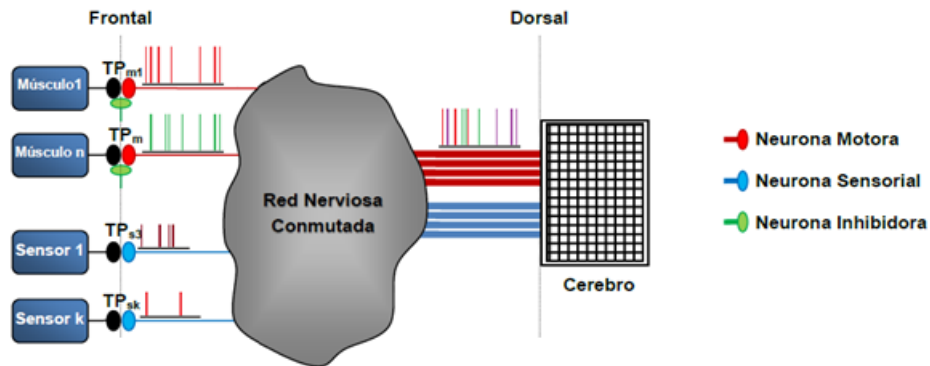


Figura 3: Modelo simplificado del sistema nervioso.

Las lesiones y enfermedades del sistema nervioso central interrumpen la transmisión de impulsos y por tanto la comunicación entre el cerebro y los nervios periféricos provocando trastornos en la comunicación. A pesar de esto el sistema tiene la capacidad de re-direccionamiento de la información por otras rutas de la red neuronal para que el mensaje llegue a su destino [2]. Esto propicia el desarrollo de sistemas de registro que sean capaces de identificar y comprender su complejo funcionamiento [3, 4, 5].

Para medir la actividad en un nervio se requiere de dispositivos que sean capaces de amplificar señales muy pequeñas ( $\sim 20mV$ ), que tenga un factor de acomplamiento de impedancia bajo, electrodos que sean fáciles de instalar además de adaptables a

un medio que puede contaminar la medición con ruido eléctrico [6, 8] afectando así la relación señal a ruido ( $SNR$ ) [9].

Es así como diversos grupos de investigación han enfocan sus mediciones usando electrodos con sitios únicos de registro [10] o con sitios múltiples [11] ya sea en áreas particulares o sitios más generales [12, 13], tal como lo hacen neurofisiologos al hacer mediciones de EEG utilizando arreglos de electrodos micrométricos.

De acuerdo con *Wood y colaboradores* [14], el análisis de potenciales de acción, o espigas, es esencial para los sistemas de investigación en neurociencias ya que el cerebro codifica la información en tasas de disparo de las neuronas (*por ejemplo, el número de potenciales de acción, o espigas, en un intervalo de tiempo*), tal como se muestra en la figura 4 donde podemos observar la actividad de dos diferentes zonas del cerebro de una rata.



Figura 4: Registros de dos diferentes zonas del cerebro en ratas.

Estas tasas de disparo deben encerrar la relación de ciertos eventos a realizar por los organismos. Sin embargo, la clasificación de espigas (*Sorting Spikes o SS*) es un gran reto debido a varios factores, tales como similitudes en la forma de los registros y las tasas de disparo, superposición de las espigas para disparos simultáneos, así como diferencias en las señales obtenidas para las mismas áreas en momentos diferentes.

Debido a la electrónica utilizada, que añade ruido electrico ambiental, los investigadores se ven obligados a utilizar algoritmos de extracción de características que incluyen Análisis de Componentes Principales ( $PCA$ ) [16], Algoritmos Bayesianos [17], Análisis

de Componentes Independientes (*ICA*) [18], algoritmos basados en Intervalos Inter Espigas (*ISI*) [19] y en los últimos años se ha dado la aplicación de operadores de energía no lineales (*NEO*) [15], entre otros.

Con el desarrollo experimental de este trabajo se hizo uso de una herramienta, estado del arte, que utiliza una electrónica de mayor precisión y que contiene los filtros básicos para eliminar el ruido ambiental de  $60Hz$  y las componentes de baja frecuencia. Esto nos da mediciones prácticamente sin ruido, listas para su clasificación y análisis científico.

Situados en el contexto de esta tesis el resto del trabajo se encuentra organizado de la siguiente manera: en el Capítulo II se presenta el marco teórico en cual se basa esta tesis, haciendo referencia al protocolo de comunicaciones así como al sistema de registro. En el Capítulo III y IV se habla de la hipótesis y objetivos de este trabajo respectivamente. En el En el Capítulo V se muestra la metodología seguida en el desarrollo del trabajo, así como los resultados obtenidos en el Capítulo VI para terminar con algunos puntos de discusión y conclusión en el Capítulo VII y el trabajo a futuro en el Capítulo VIII.

## **2. Marco teórico**

En este capítulo se introducen las características de un par de protocolos de comunicación ampliamente usados, así como el sistema de registro a modificar.

### **2.1. Protocolo de Comunicaciones**

Para los sistemas de comunicación modernos como la red de internet y el sistema telefónico público mundial, que cuentan con miles de millones de usuarios, los humanos nos hemos dado a la tarea de crear los estándares y los protocolos de comunicación que permiten la interoperabilidad de las redes y que garantizan la interconexión entre los usuarios.

En este capítulo presentamos dos redes de comunicaciones donde cada uno de los usuarios está conectado con cada uno de los miles de millones de usuarios en el planeta; el sistema público telefónico y el sistema de internet.

#### **2.1.1. Sistema Público Telefónico**

El sistema público telefónico es la red de datos más grande y antigua que los humanos hemos construido y conecta a cada usuario con los más de 5,000 millones de otros usuarios distribuidos en el planeta.

El servicio automatizado de interconexión entre usuarios inició en los Estados Unidos de América (EUA) y pronto se adoptó en los demás países del planeta. Se adoptó parcialmente porque cada país inventó o adaptó su manera propia (protocolo de comunicación) de interconectar a sus usuarios.

Los protocolos de comunicación más usados en el mundo son el tipo T1 y el tipo E1, el primero lo comparten, con pequeñas diferencias EUA, Canadá, Japón y otros

países y el segundo es el estándar Europeo que también lo comparten algunos países de América latina como México.



Figura 5: Sistema Telefónico mundial.

Ambos estándares comparten la misma longitud de palabra de 8 bits para representar la amplitud de voltaje producida por la voz al pasar por el micrófono del aparato telefónico. Ambos comparten la cantidad de palabras enviadas por segundo, 8000, es decir 64,000 bits por segundo.

También comparten parte del protocolo de comunicación, es decir, al levantar el teléfono el usuario de origen recibe un tono de invitación a marcar, luego el marcaje es realizado por teclas que producen tonos que la central telefónica traduce a números, después esa información es transportada por la red telefónica hasta el destino final donde otra central telefónica produce un sonido en el teléfono del usuario final para indicarle que tiene una llamada en la línea. Al mismo tiempo esta última central le regresa al usuario inicial un tono indicándole que el usuario está libre y que está siendo alertado de la llamada. Si el usuario está ocupado, esta última regresa un tono de ocupado al usuario inicial indicándole que su llamada no puede ser completada. Cuando el usuario final escucha sonar el teléfono, este puede conocer el número del usuario que está intentando comunicarse con él antes de contestar.

Los protocolos de comunicación cambian cuando las llamadas (datos) son transportados entre los diferentes tipos de centrales telefónicas; locales, de larga distancia e internacionales (que traducen los diferentes protocolos de comunicación).

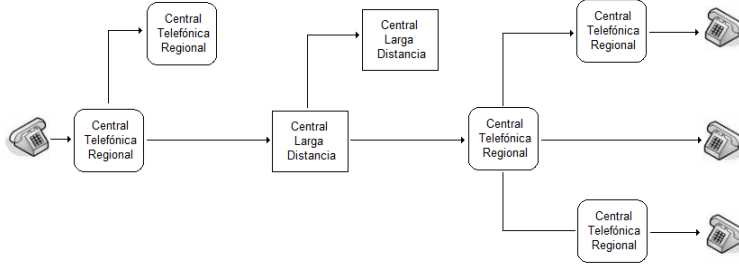


Figura 6: Circuito telefónico local.

Por ejemplo en el sistema Americano T1, un canal de comunicaciones se compone de 24 espacios de tiempo ( $ET$ ) de 8 bits cada uno más un espacio de tiempo de 1 bit ( $F$ ). El sistema transporta 24 usuarios ( $1,536kbits$ ) más un bit  $F$  de propósito múltiple ( $8Kbit$ ). Cada  $125\mu s$  se toma una nueva muestra de cada usuario y se construye un nuevo conjunto de datos de 24 usuarios [22].

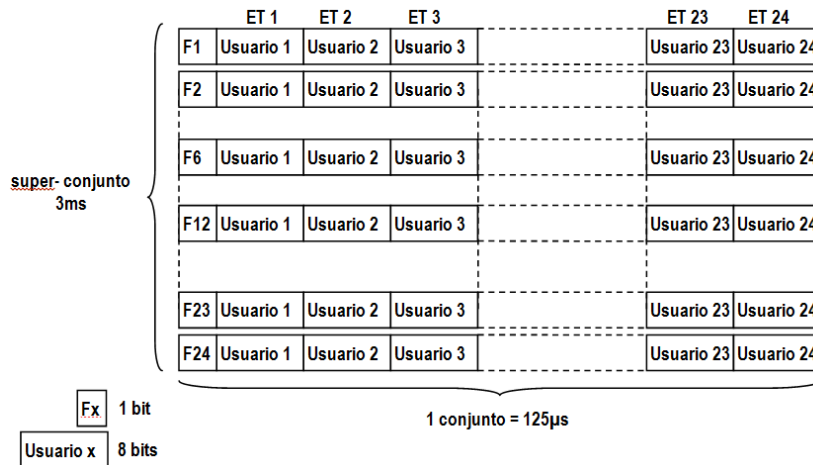


Figura 7: Formato ESF T1.

Las centrales telefónicas manejan super-conjuntos de datos donde cada super-conjunto consta de 24 conjuntos de 24 usuarios.

En el protocolo de comunicaciones, el bit F tiene diferentes funciones, por ejemplo en las posiciones 4, 8, 12, 16, 20, y 24 es usado como un patrón de sincronía. En las posiciones 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21 y 23 es usado para transmitir mensajes para tareas de mantenimiento de la red. Y las posiciones 2, 6, 10, 14, 18, y 22 es usado

para detectar errores de transmisión [23].

Al inicio de la conexión, el espacio dedicado al usuario carga información sobre el número marcado y la identidad del que está llamando, es decir, su número telefónico.

Durante el establecimiento de la llamada y durante el tiempo de la llamada, este protocolo de comunicación, le roba a cada usuario el bit menos significativo en los paquetes 1, 6, 12 y 24 para transmitir la señalización entre los usuarios; teléfono descolgado, teléfono colgado, llamando, ocupado, en espera, etc.

Todas estas tareas están sincronizadas por un reloj maestro único que permite que el intercambio de datos no se vea vaciado o desbordado en ningún punto de la red. Si la sincronización se pierde, la red colapsa.

El formato Europeo E1 acomoda 32 espacios de tiempo de 8 bits, 30 espacios están dedicados a transportar los datos de 30 llamadas telefónicas, el espacio de tiempo 0 está dedicado a la sincronización de los conjuntos y a transportar mensajes de mantenimiento y el espacio de tiempo 16 está dedicado a transportar la señalización de las llamadas telefónicas. El conjunto trabaja a 2,048 Kbit/sec [24].

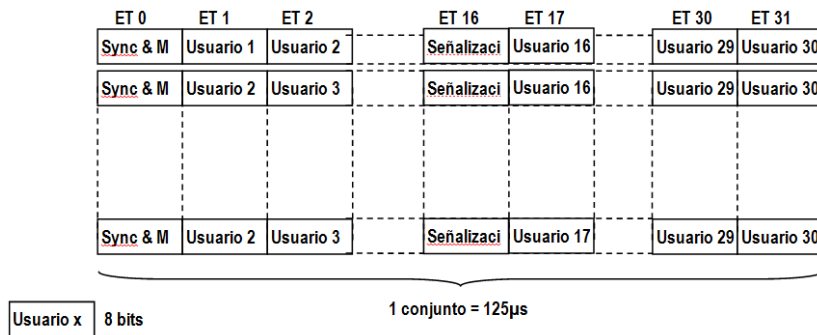


Figura 8: Formato E1.

El sistema E1 es una copia mejorada del sistema T1 y no requiere de formar superconjuntos para operar eficientemente. Sin embargo también requiere de un reloj de sincronización único para mantener el balance de entrada-salida en la transmisión de datos.



Las redes telefónicas están diseñadas para transportar información con un alto coeficiente de confiabilidad, es equivalente a decir que se permite 1 error en un año de operación.

### 2.1.2. Red de Internet

La red de internet (*montada sobre la infraestructura del sistema público telefónico*) es una red de transmisión de datos adaptada para transportar tráfico diverso; voz, datos, video y contenidos multimedia.

En la red de internet los usuarios se ven como nodos de una red con múltiples nodos de interconexión. Por lo tanto, para comunicar un usuario con otro existe un número casi infinito de caminos en la red. La información, a diferencia del sistema telefónico, no siempre toma el mismo camino durante una conexión. A este tipo de métodos de comunicación se le llama datagrama.

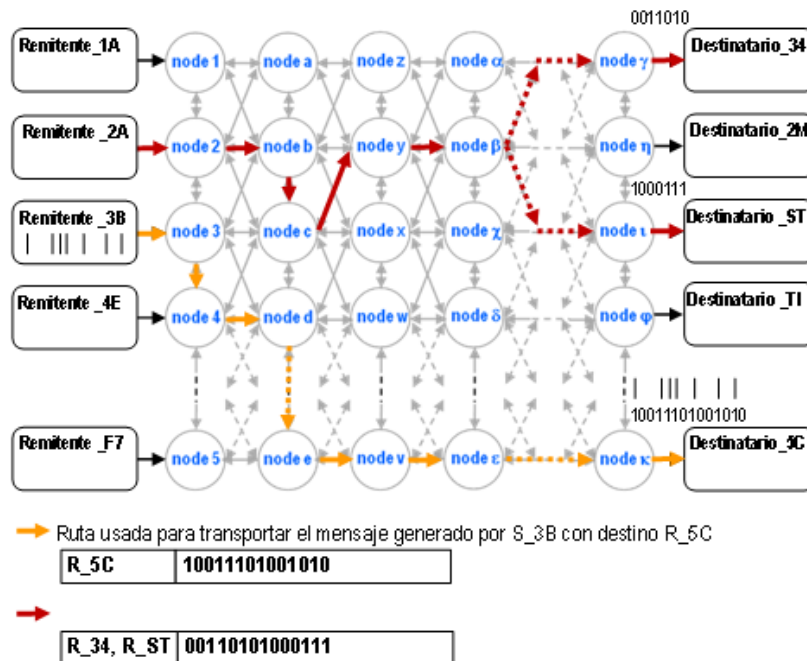


Figura 9: Red de Internet.

Los usuarios (computadora, servidor, ruteador, impresora, proyector, etc.) se identifican con una dirección de 128 bits que corresponde a un dominio jerárquico en la red, la cual define su ubicación en el espacio. Los humanos manejamos estas direcciones a través nombres alias para hacer más fácil su comprensión.

La comunicación se maneja por mensajes y no por espacios de tiempo. En el protocolo de comunicación (*Internet Protocol, IP*) un mensaje está constituido por un encabezado y por la información del usuario que puede contener cientos o miles de bytes ( $1 \text{ byte} = 8 \text{ bits}$ ).

El encabezado contiene información que es usada por el sistema de ruteo para llevar el mensaje a su destino final y contiene: la versión del protocolo IP, tipo de servicio, número de bytes de la información que se transporta, número del paquete, tiempo de vida (número de nodos que puede recorrer antes de ser eliminado), dirección del remitente y dirección del destinatario.

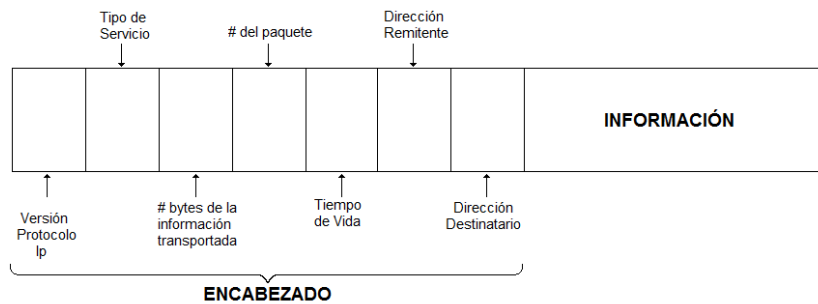


Figura 10: Mensajes en la Red de Internet.

A diferencia de la red telefónica, la red de internet no está diseñada para garantizar confiabilidad y ni siquiera le asegura al usuario que sus mensajes van a llegar al destino, la red está diseñada bajo el principio del mejor esfuerzo.

Los mensajes se transmiten con el reloj básico del sistema donde se crean y la red los sincroniza a los diferentes relojes fundamentales de las subredes por donde son transportados.

### 2.1.3. Similitudes entre las redes

Cualquier red que haya inventado el hombre tiene las siguientes características mínimas:

- Forma física de conectar a los usuarios
- Forma física de transportar la información
- Esquema de identificación de los usuarios
- Reloj básico
- Sincronización de la red
- Protocolo de comunicación
  - Negociación del enlace
  - Información mínima requerida para establecer el enlace (identidad del remitente e identidad del destinatario)
  - Codificación usada para transportar la información
  - Mecanismo para detectar errores

De la misma manera el sistema nervioso central debe contar con las mismas características, aún cuando fue inventado por la naturaleza hace ya varios millones de años.

En una red neuronal los usuarios son las neuronas, la forma de conectar a los usuarios es por datagrama, la forma física de conectar a los usuarios es por nervios usando señales electroquímicas, el reloj básico lo define la célula nerviosa correspondiente y su unidad básica está limitada por la duración del potencial de acción y la codificación es por pulsos modulados en el tiempo.

El trabajo presentado aquí presenta los primeros resultados orientados a descubrir el protocolo de comunicación del sistema nervioso central.

## 2.2. Sistema de Registro VitalSys

En el desarrollo de las mediciones en los experimentos realizados en este trabajo, se utilizó el sistema de registro VitalSys. Este es un sistema electrónico para mediciones Electrocardiográficas (*ECG*), el cual captura y procesa en tiempo real tres señales recogidas sobre la superficie del cuerpo.

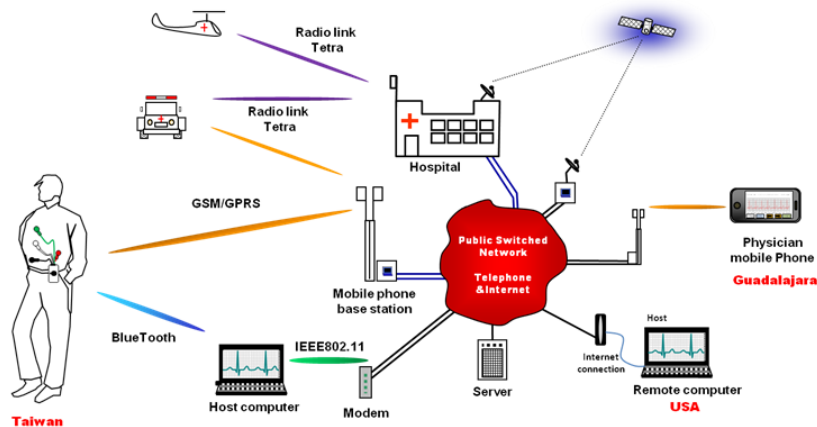


Figura 11: Arquitectura del sistema VitalSys

El sistema VitalSys es un dispositivo inteligente que vigila el desempeño del corazón en los humanos y que tiene la infraestructura de telecomunicaciones necesaria para alertar a los especialistas cuando se detecta un mal funcionamiento, tal como se ejemplifica en la figura 11.

### 2.2.1. Características del Vitalsys

El sistema está diseñado para medir los parámetros fundamentales de un electrocardiograma, es decir, amplitudes de voltaje, períodos de tiempo y forma de las señales,

onda P, complejo QRS y onda T.

A partir de los parámetros fundamentales, VitalSys calcula la frecuencia y ritmo cardiaco y puede hacer diagnósticos preliminares sobre enfermedades y padecimientos:

- Arritmias
- Problemas de conducción y
- Síndrome de Pre-Excitación.

La electrónica contenida del VitalSys tiene las siguientes características:

- Tres canales de captura de señales
- Amplificación programable de  $100x$  a  $4000x$
- Rango de voltaje de  $50\mu V$  por paso de cuantización
- Frecuencia de muestreo programable de 100 a 2000 muestras por segundo (*sps*)
- $64Mb$  de Memoria
- Batería de Li-Ion de  $3.7V$ , con duración de  $24hrs$  de registro de señales
- Temperatura de operación de  $0^{\circ}C$  a  $50^{\circ}C$
- Dimensiones de  $3.5cm$  x  $8cm$  y  $50gr$  de peso

El sistema ofrece 3 tipos de filtrado que se pueden encender o apagar en tiempo real:

- **Filtros de DC** - Estos Filtros eliminan frecuencia respiratoria y cualquier otro factor que mueva la línea basal.

- **Filtros de 60Hz** - Estos Filtros eliminan el ruido generado por líneas eléctricas cercanas al equipo cuando se toma el registro.
- **Filtros de Ruido** - Estos Filtros eliminan ruido muscular y de alta frecuencia.

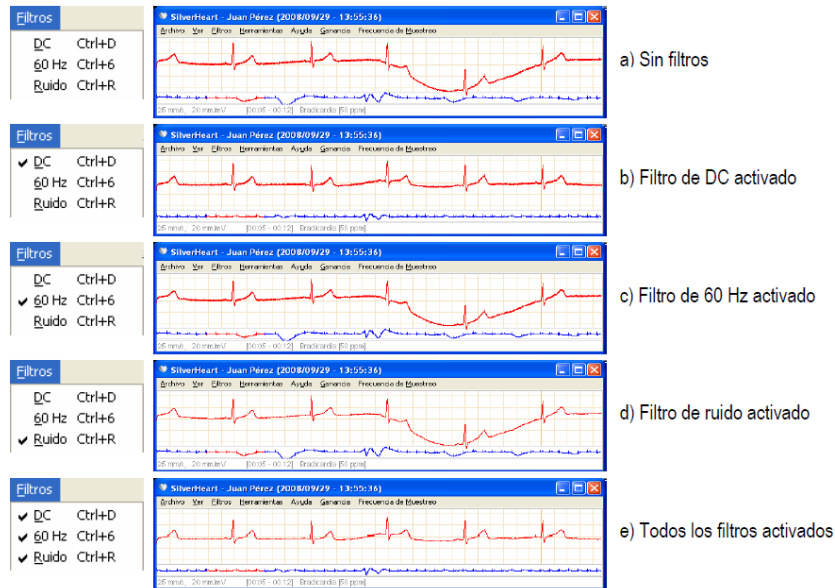


Figura 12: Ejemplos de una señal con distintos filtros activados.

Este sistema ofrece comunicación a través de 2 puertos:

- Interfaz de comunicación por Bluetooth
- Interfaz de comunicación por puerto USB

El puerto de comunicación Bluetooth elimina el uso de cables largos entre la PC y la medición del experimento, esto permite disminuir en gran medida el ruido eléctrico de  $60\text{Hz}$  de los dispositivos electrónicos.

La interfaz con el usuario, SylverHeart, permite manipular la información de manera que el usuario puede escalar, en 2 ejes, la imagen en el tiempo y en amplitud:

- **Escala Horizontal** con pasos de  $25\text{mm/s}$ ,  $50\text{mm/s}$ ,  $75\text{mm/s}$ ,  $100\text{mm/s}$  y  $200\text{mm/s}$ .

- **Escala Vertical** con pasos de  $10\text{mm/mV}$ ,  $20\text{mm/mV}$ ,  $50\text{mm/mV}$ ,  $75\text{mm/mV}$  y  $100\text{mm/mV}$ .

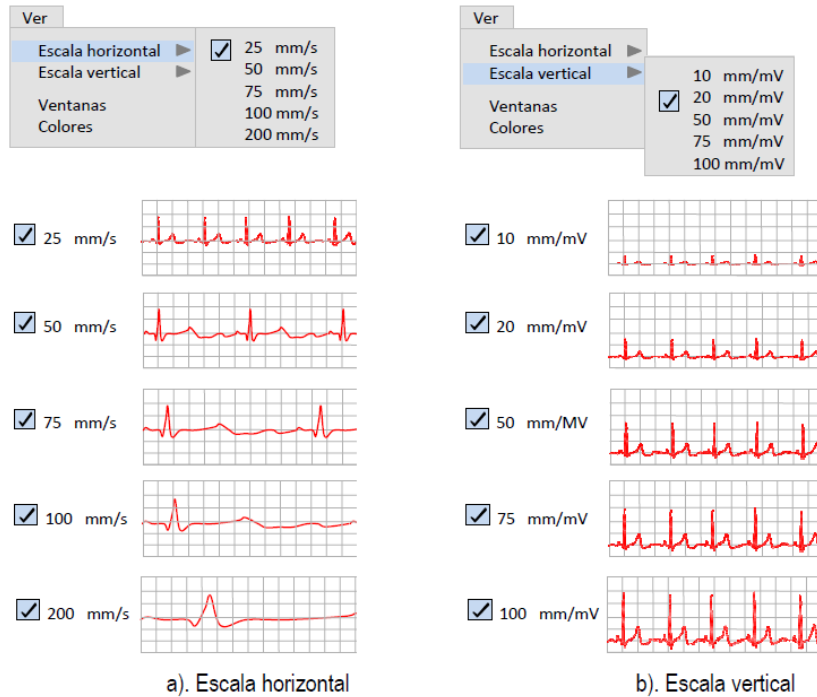


Figura 13: Ejemplos de una señal con diferentes escalas.

La interfaz de usuario del VitalSys permite que el usuario pueda hacer mediciones temporales sobre las señales capturadas. Para esto, el usuario cuenta con dos marcadores los cuales puede colocar sobre las señales a medir. El primero de ellos, de color naranja, se coloca haciendo click izquierdo en cualquier área de las señales y el segundo, de color morado, se coloca haciendo click derecho. Cuando se han colocado los dos marcadores, aparecerá la distancia (en tiempo) entre los dos marcadores en la barra inferior de información.



Figura 14: Ejemplos de una señal con marcadores.

### 2.2.2. Electrónica del Sistema VitalSys

El sistema VitalSys está construido con dispositivos comerciales del Estado del Arte, es decir, de lo último que se ha creado en dispositivos electrónicos basados en tecnología de Texas Instruments.

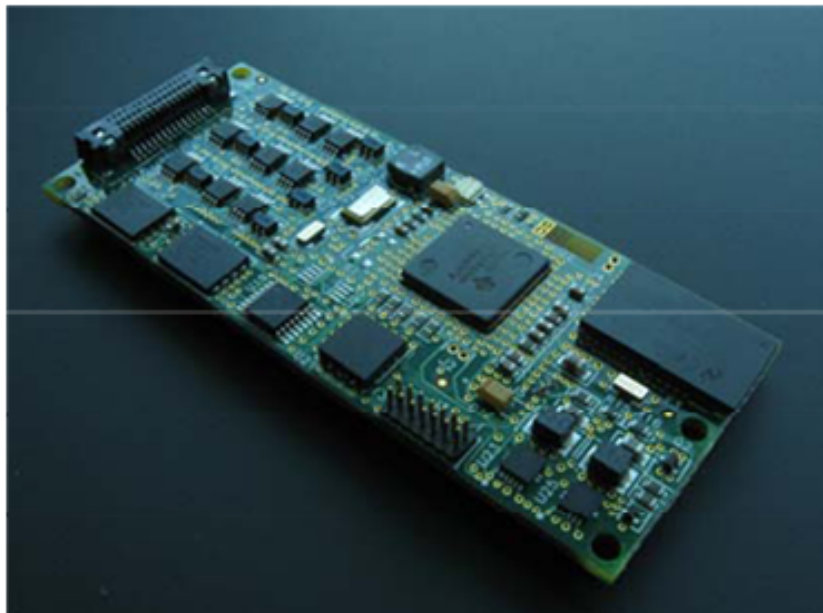


Figura 15: Tarjeta VitalSys.

La arquitectura electrónica contiene un *Front End* de circuitería analógica que se



encarga de capturar las señales eléctricas sobre la superficie del cuerpo, de amplificarlas, filtrarlas y convertirlas en un dato binario de 16 bits para su posterior procesamiento.

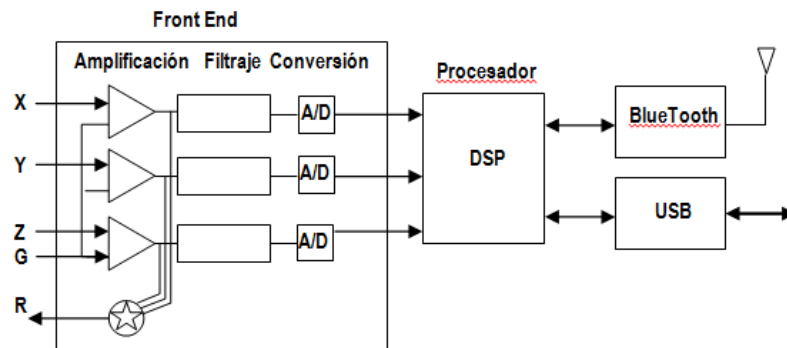


Figura 16: Esquema del Front End del sistema VitalSys.

El control de los dispositivos de la tarjeta y el procesamiento de las señales se lleva a cabo con el Procesador Digital de Señales *TMS320VC5509A* de Texas Instruments que tiene las características:

- Punto fijo
- Reloj de  $108MHz$
- Ciclo de instrucción  $9.26ns$
- Una/dos instrucciones ejecutadas por ciclo
- Multiplicadores duales, hasta 240 millones de multiplicaciones y acumulaciones por segundo
- 2 Unidades aritméticas y lógicas

El sistema VitalSys cuenta con un puerto de comunicaciones USB que está diseñado en base al dispositivo *LMX9838* de Texas Instruments. El dispositivo cumple con la norma USB 2.0 y tiene las siguientes características:

- Radio operando a 2.4 GHz
- Soporta 7 enlaces al mismo tiempo
- Protocolos L2CAP, RFCOM, SDP

### 3. Hipótesis

La Red Neuronal debe cumplir una serie de normas, estándares y protocolos de comunicación a través de mensajes direccionados en los nervios entre un remitente y el(los) receptor(es).

### 4. Objetivos

Caracterizar la forma de los mensajes eléctricos que transmiten información a través de los nervios modificando un sistema de registro de señales biológicas desarrollado en el Cinvestav Guadalajara. Para tal efecto se plantearon los siguientes objetivos particulares:

- Adecuar un sistema de registro para mediciones de ECG a registros de impulsos nerviosos.
- Realizar mediciones en ratas directamente en el nervio femoral registrando la respuesta a estímulos sensoriales.
- Analizar y obtener ciertas características de las mediciones como: tiempo de duración de las espigas, tiempo entre las espigas y tiempo de respuesta al estímulo.
- Proponer un modelo que describa la dinámica de los registros.

## 5. Metodología

En esta sección se muestra la metodología desarrollada para la captura de los potenciales de acción en experimentos *in vivo* en un modelo animal.

### 5.1. Modificaciones al Sistema de Registro

Se usan electrodos de aguja, F-E2-48, de la marca Grass Tech los cuales se modificaron de tamaño, pasando de  $1.3\text{cm}$  a aproximadamente  $0.3\text{cm}$ , y de forma dándole un aspecto de gancho; esto debido a que por la longitud que tenían era complicado colocarlos sobre el nervio de tal manera que no hicieran contacto con tejidos adyacente y se evite componentes de ruido en las mediciones, ver figura 17.

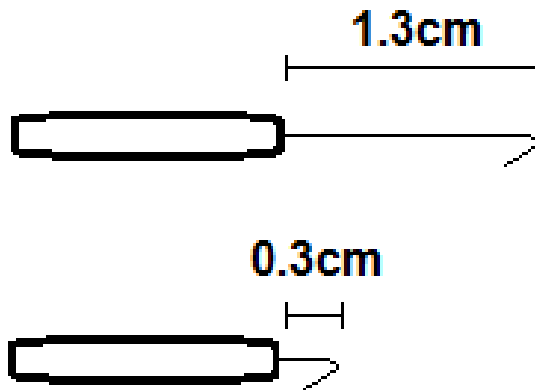


Figura 17: Modificación al electrodo.

Se usa un par de electrodos en configuración diferencial que proveen de un potencial a un circuito amplificador operacional de entrada. Estos electrodos se encuentran referenciados a una tierra flotante del dispositivo.

## 5.2. Equipo de Medición

Para el registro de las mediciones se usó el equipo VitalSys y la interface de usuario, *SilverHeart*, con la siguiente configuración:

- Frecuencia de muestreo de 500sps
- Ganancia Unitaria
- Filtro de DC activado
- Filtro de 60Hz activado

Las mediciones obtenidas se guardaban en paquetes de datos comprimidos con la extensión .chX, estos archivos pueden ser visualizados y analizados mediante un código realizado en matlab.

## 5.3. Preparación del animal

Para las mediciones se usaron ratas macho de la cepa Wistar de 7 a 8 semanas de edad (*con un peso mayor a 290gr*). Se decidió esta edad ya que en animales más pequeños el desarrollo de la cirugía y la calidad de los experimentos era deficiente.

El animal fue anestesiado inyectándole pentobarbital (63mg/kg) en la entrepierna con un angulo de 90 grados. Luego fue colocado y sujetado de las extremidades en una tabla de operaciones, tal como se aprecia en la figura 18.



Figura 18: Preparación del animal.

Se realizó una pequeña cirugía en la extremidad inferior izquierda (o derecha) dejando expuesto el nervio femoral y aislándolo del músculo y los tejidos adyacentes, mediante un par de tubos plásticos, pero sin ser retirado del animal, ver figura 19. Este procedimiento permite que la señal nerviosa no se contamine con el ruido eléctrico muscular de los tejidos adyacentes.

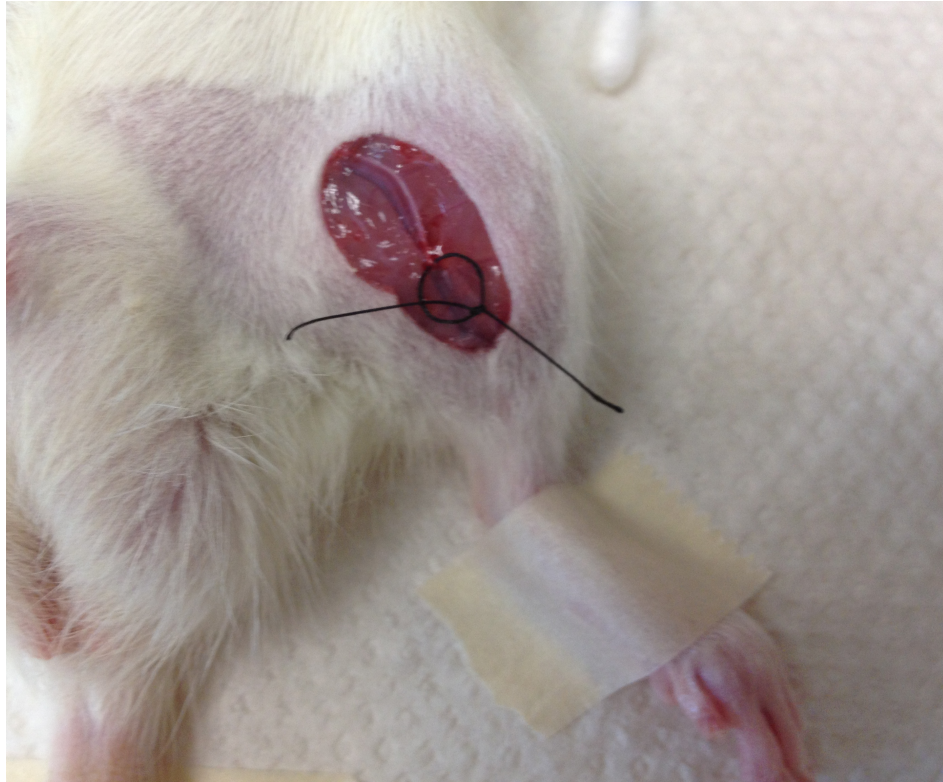


Figura 19: Cirugía para exponer el nervio femoral.

Finalmente se colocaron un par de electrodos en forma de gancho en el nervio expuesto para registrar la actividad eléctrica que pasa por éste, ver figura 20. De igual manera se colocó un electrodo, subdermalmente, en la parte anterior de la extremidad inferior en la cual se generaba el estímulo, a manera de tener un control del momento en el que se impartía el estímulo. Esto igual nos sirvió para establecer el tiempo de respuesta a dicho estímulo.

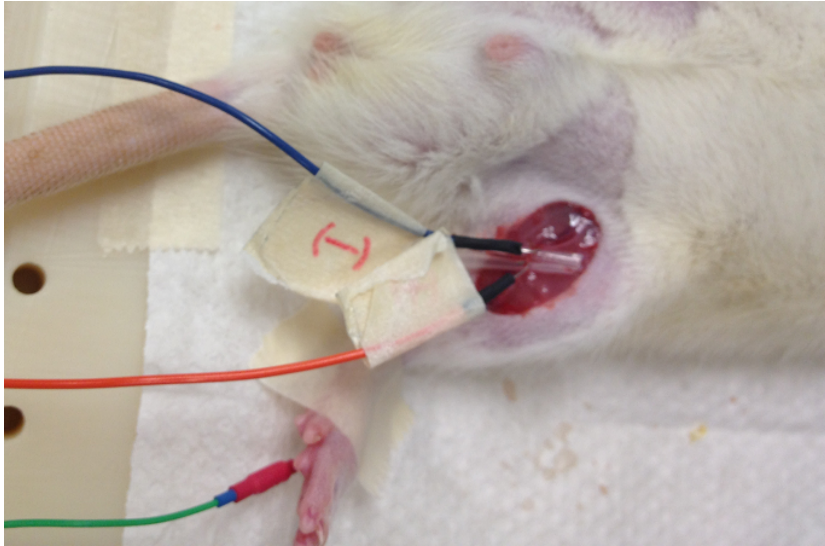


Figura 20: Animal con electrodos

#### 5.4. Experimentos

Se estableció un experimento el cual consistía de dos partes, una medición control (*1 min de duración*) en la que se registra la actividad eléctrica que pasa por el nervio de forma natural (*basal*) mientras que el animal está anestesiado y otra que consistía en registrar la actividad eléctrica en respuesta a la estimulación de terminales sensoriales mediante un estímulo mecánico [20] en la parte anterior de la extremidad inferior derecha e izquierda (*2 min de duración*).

Dentro de la duración del experimento se aplicó el protocolo de estimulación que consistía de:

- 10 segundos sin estimulación capturando la actividad eléctrica que pasa por el nervio.
- Posterior a esto, por 2 segundos, se estimula con unas pinzas las terminales sensoriales.
- Así sucesivamente se repetía este proceso hasta completar el tiempo total del



experimento.

Se eligió este tiempo de reposo entre cada estímulo, ya que se observó que era tiempo suficiente para que la señal regresara a su nivel basal y así se evitó que se mezclara una respuesta con otra. Se da un tiempo de reposo de 5 minutos entre cada medición.

Este tipo de estímulos se basa en el concepto de *Withdrawal Reflex*, el cual consiste en un estímulo sobre las terminales sensitivas de la piel que viaja interconectándose a través de nervios aferentes hasta la médula espinal en donde por medio de interneuronas el mensaje respuesta es direccionado a nervios eferentes hasta sus inervaciones en los músculos generando así una contracción respuesta. Todo esto queda mejor representado en la figura 21.

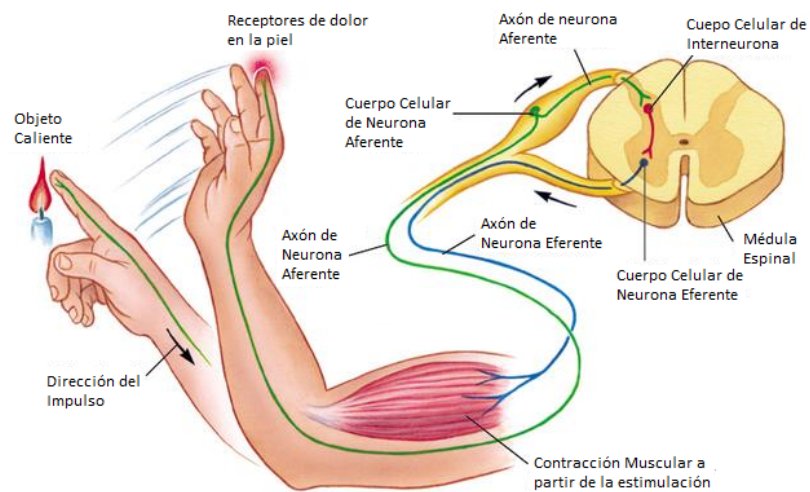


Figura 21: Ejemplo del Withdrawal Reflex.

Las mediciones tienen los siguientes objetivos:

- Capturar los patrones de espigas que pasan por los nervios femorales de los animales
- Analizar y verificar que los patrones tienen un formato temporal finito

- Obtener información suficiente para proponer un modelo básico del protocolo de comunicación del sistema nervioso central

Una vez que se obtuvo los resultados y para observar si existía diferencias significativas, se les realizó un análisis estadístico. Se escogió una prueba estadística para muestras pequeñas ( $n \leq 30$ ) **t-student**.

## 5.5. Determinación del número de fibras nerviosas

Se realizó una tinción de hematoxilina eosina para cortes congelados del nervio en el que se registraba la respuesta al estímulo, esto para tratar de determinar el número de fibras nerviosas de las que se estaba obteniendo las señales.

Para tal efecto, se hizo un corte del nervio donde se registraba la respuesta al estímulo y se congeló a  $-80^{\circ}C$ . Posteriormente, se hicieron cortes histológicos de  $7\mu m$  de grosor y se colocaban en un portaobjetos para realizar la tinción, cuyo desarrollo se describe a continuación:

- Se cubrió con 2 gotas de solución de hematoxilina por 3 minutos al corte histológico
- Luego se lavó en agua para eliminar excesos y se pasó rápidamente por alcohol ácido (*500mL de Etanol al 70 %, 5mL de HCL concentrado*)
- Se lavó nuevamente en agua y se secó bien
- Se cubrió el corte con 2 gotas de eosina por 2 minutos
- Se retiró el exceso sacudiendo el portaobjetos
- Luego se pasó por alcohol al 70 % (muy rápidamente), al 95 % (rápidamente) y al 100 % (1 minuto)
- Posteriormente, se sumergió en xilol 5 minutos para después sacarlo y secarlo

- Y por último se le colocó un poco de xило líquido al portaobjetos y un cubreobjetos para ser visto al microscopio

## 6. Resultados

### 6.1. Primeras observaciones

Los registros se obtuvieron de 10 ratas de la cepa Wistar con un peso promedio de 320gr (*entre 7 y 8 semanas de edad*), teniendo en cuenta para cada una de estas los siguientes grupos de medición:

- **Control.-** Mediciones sin estímulo alguno durante 1 min.
- **Estímulo Pata Derecha (EPD).-** Registrando en el nervio femoral de la pata izquierda, se estimula en la pata derecha por un tiempo de 2s cada 10s por un período total de 2min.
- **Estímulo Pata Izquierda (EPI).-** Registrando en el nervio femoral de la pata izquierda, se estimula en la misma pata por un tiempo de 2s cada 10s por un período total de 2min.

Analizando las mediciones resultantes observamos ciertos comportamientos de las respuestas a los estímulos, se identificaron tres tipos de secuencias características: **Secuencias Positivas (SP)**, **Secuencias Negativas (SN)** y **Secuencias Positivo-Negativas (SPN)**. Estos tipos de secuencias se presentaban tanto en las mediciones con estimulación en la extremidad derecha como en la izquierda.

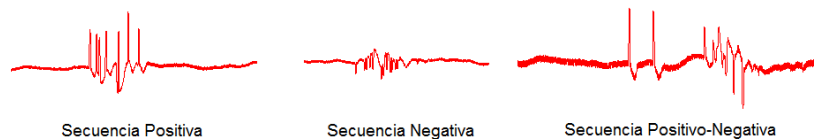


Figura 22: Tipo de secuencias.

Es por eso que se consideraron ciertos sub-grupos de las mediciones con estimulación:

- *EPD con Secuencia Positiva*

- *EPD con Secuencia Negativa*
- *EPD con Secuencia Positivo-Negativa*
- *EPI con Secuencia Positiva*
- *EPI con Secuencia Negativa*
- *EPI con Secuencia Positivo-Negativa*

De acuerdo con *Yang y colaboradores* [21], para clasificar las espigas es necesario cuantificar la información obtenida por muestras individuales de espigas, es decir, las muestras que vemos pueden ser consecuencia de más de una fuente y es necesario separarlas. Para poder saber esto se realizó una tinción de hematoxilina eosina y con ayuda de un microscopio con unidad de fluorescencia Marca Olympus *BX51* se obtuvo imágenes para poder observar y saber aproximadamente cuantas fuentes se estaban tomando en los impulsos.



Figura 23: Fibras nerviosas del registro.

Como se puede observar en la imagen, los registros obtenidos son tomados de tres fibras nerviosas que por lo visto se tratan del nervio femoral (*fibra nerviosa 1*) y un par de derivaciones (*fibra nerviosa 2 y 3*). Esta puede ser la causa de que se tengan registros de secuencias positivas y negativas, ya que este conjunto de fibras pueden estar formadas por vías aferentes y eferentes.

El tiempo promedio de duración de la respuesta al estímulo generado fue de aproximadamente  $596ms \pm 168ms$  para *EPD* y de  $604ms \pm 166ms$  para *EPI* (con  $n = 10$  y  $p > 0.05$ ). Sin embargo, se observó que algunas respuestas eran demasiado largas, superando el tiempo de estimulación de 2 segundos.

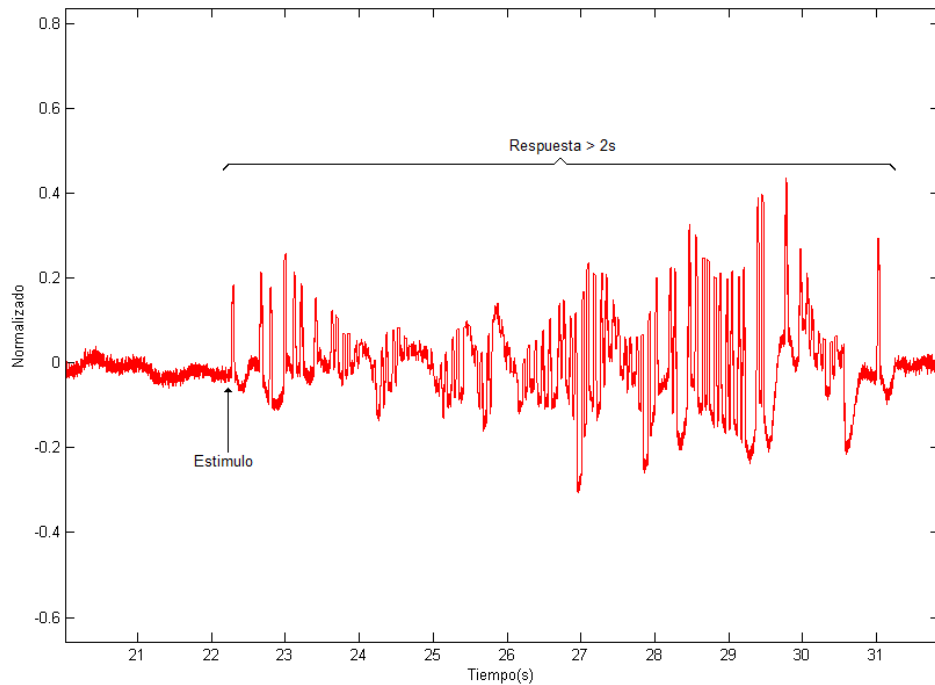


Figura 24: Respuesta prolongada.

Esto se atribuyó al grado de anestesia que pueda presentar el animal, ya que se observó que cuando comenzaba a pasar el efecto de la anestesia y aumentaba su grado de conciencia se aumentaba el tiempo de la respuesta. Sin embargo, el tiempo de duración de las espigas no se veía afectado y no presentaron diferencias significativas entre los *EPD* y los *EPI*.

## 6.2. Duración de las Espigas

Se determinó la duración promedio de las espigas para cada uno de los estímulos con sus respectivas secuencias observadas en las mediciones. A continuación se muestran el promedio de la duración de dichas secuencias.

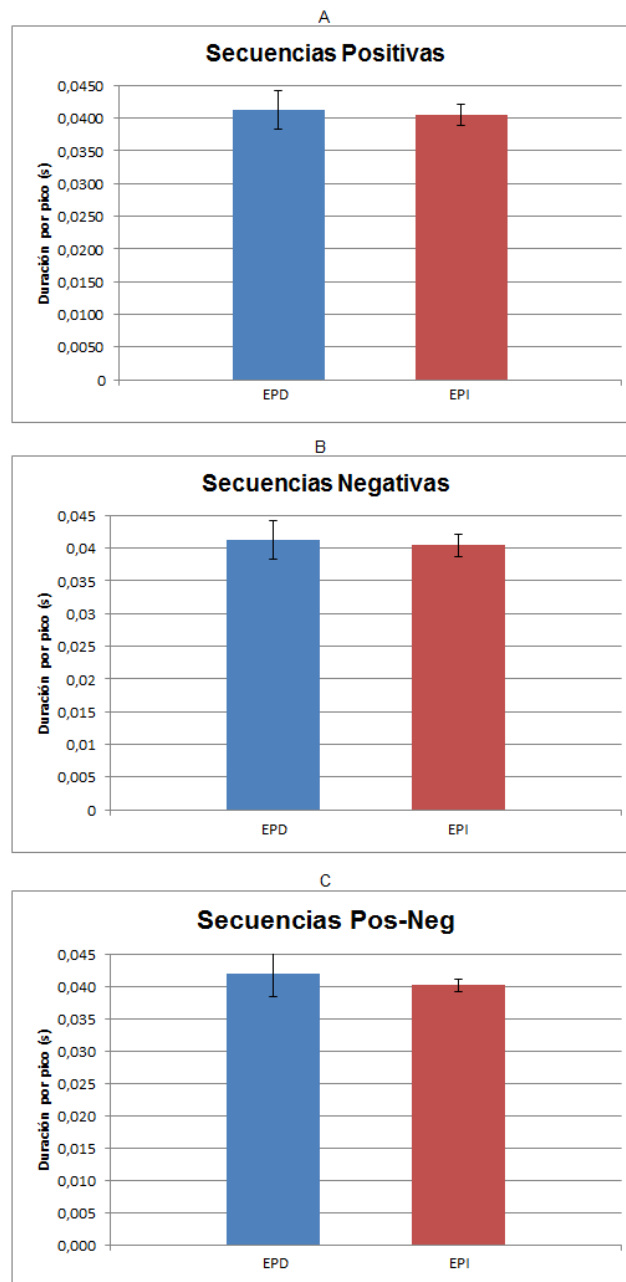


Figura 25: Tiempos promedios de espigas por estimulo y tipo de secuencia.

En la figura 25 podemos ver que sin importar en que extremidad se diera el estímulo, la duración de las espigas no presenta diferencias significativas teniendo una duración promedio de alrededor de  $40ms$  (para  $n = 10$ ). En la siguiente tabla se resumen la duración promedio para los diferentes tipos de secuencias observadas y la estimulación de ambas extremidades.

	<b>EPD</b>	<b>EPI</b>
<b>SP</b>	$41.3ms \pm 2.96ms$	$40.4ms \pm 1.61ms$
<b>SN</b>	$41.2ms \pm 3ms$	$40.5ms \pm 1.71ms$
<b>SPN</b>	$42.1ms \pm 3.69ms$	$40.2ms \pm 1.02ms$

Tabla 2: Intervalos de tiempo de la duración de las espigas

El tiempo de muestreo de  $2ms$  del sistema de medición introduce una incertidumbre de  $\pm 1ms$ . Por esta razón, para nuestro análisis tomamos  $40ms$  como el tiempo de duración de los potenciales de acción.

### 6.3. Tiempo entre Espigas

Para la relación de tiempos entre las espigas se obtuvo un rango característico los cuales se presentaron en todas las mediciones, algunos eran frecuentes en espigas contiguas y otros en espigas más separadas como si hicieran alusión a un apartado con respecto a otro dentro de una misma respuesta.



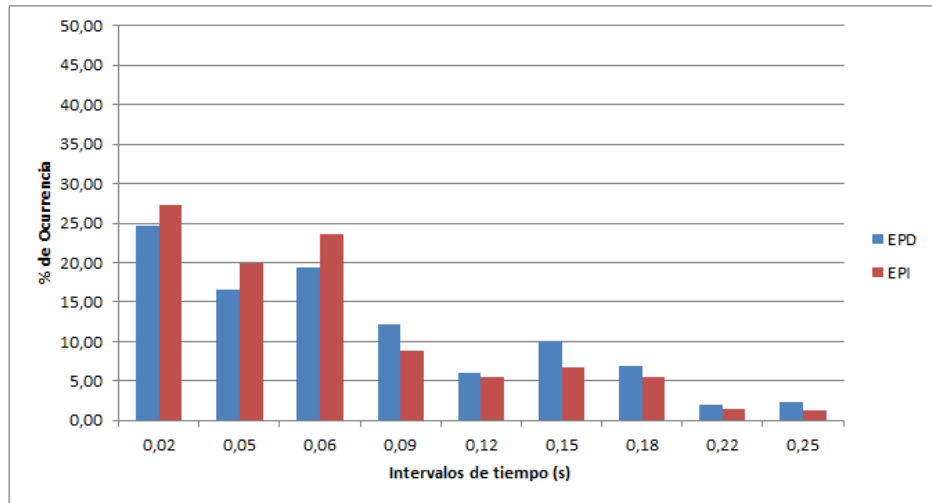


Figura 26: Histograma de tiempos entre espigas.

En la figura 26 se muestra un histograma con el rango característico de tiempos entre espigas que se obtuvo, el cual iba de  $20ms$  hasta los  $250ms$  y de estos los de mayor presencia, tanto en *EPD* como en *EPI*, fueron  $20ms$ ,  $50ms$  y  $60ms$ . A partir de dicho rango se podría proponer un modelo que presente similitudes con los protocolos de comunicación telefónico y de internet, estableciendo este comportamiento de la respuesta como un conjunto de mensajes con paquetes de datos codificados que son transmitidos, formando así tres sub-grupos del rango de tiempos entre espigas.

- Por paquete de datos:  $20ms$ ,  $50ms$ ,  $60ms$  y  $90ms$
- Entre paquete de datos:  $120ms$ ,  $150ms$  y  $180ms$
- Entre mensajaes:  $220ms$  y  $250ms$

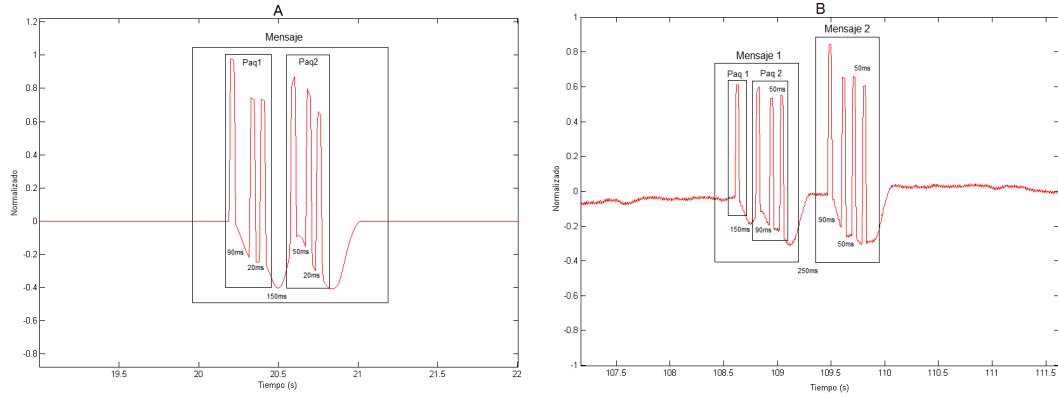


Figura 27: Ejemplo del tiempo entre espigas.

La figura 27 muestra un par de ejemplos de la forma de organización en los que se podría codificar los mensajes a partir de las espigas registradas en las respuestas al estímulo. En la imagen **A** vemos un único mensaje, el cual contiene un par de paquetes de datos separados por uno de los patrones de tiempo entre paquete de datos ( $150ms$ ), de igual forma se observa que las componentes de cada paquete de datos se encuentra separada por los patrones de tiempo establecidos para paquetes de datos ( $20ms$ ,  $50ms$  y  $90ms$ ).

En la imagen **B** vemos un par de mensajes separados por uno de los patrones de tiempo establecidos para mensajes ( $250ms$ ). El mensaje 1 se compone de un par de paquetes de datos separados por un patron de tiempo entre paquetes ( $150ms$ ) y las componentes de cada paquete de datos se encuentra separada por los patrones de tiempo establecidos ( $50ms$  y  $90ms$ ). Lo mismo podemos observar para el mensaje 2 con un solo paquete cuyos componentes igual muestran separación con los patrones de tiempo establecidas ( $50ms$  y  $90ms$ ).

Podemos observar igual en la imagen, que la duración de la respuesta en **A** es menor a la de **B** con lo que se puede establecer que la cantidad de mensajes que pueden ser observados en una respuesta va ser directamente proporcional a la duración de la misma.

## 6.4. Tiempo de respuesta al estímulo

Mediante un segundo canal, se registra el momento en el cual se da el estímulo sensorial y con esto se puede sacar la relación del tiempo de respuesta que se obtuvo en las mediciones.

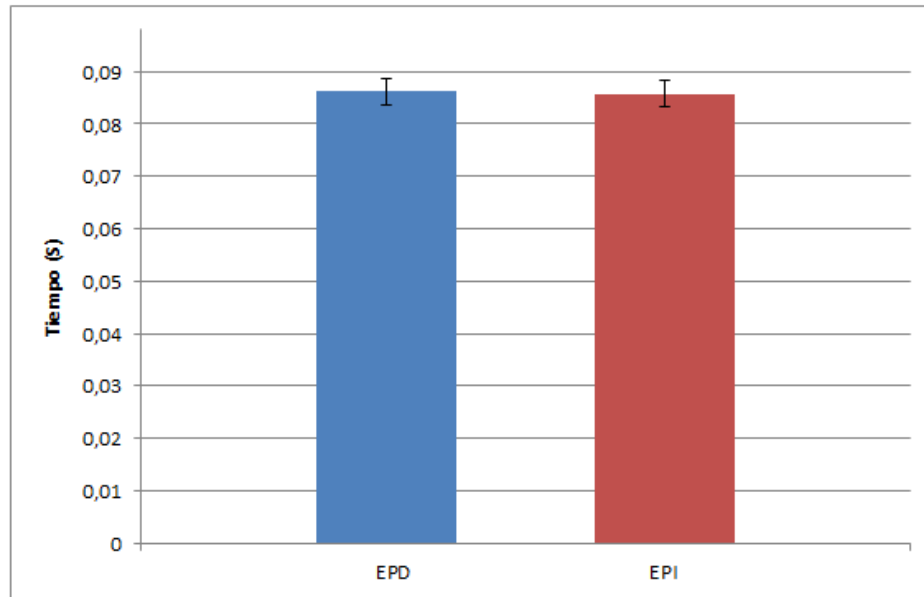


Figura 28: Tiempo de Respuesta.

En la figura 28 se muestra el promedio de los tiempos de respuesta tanto para los estímulos en la extremidad inferior derecha como para la inferior izquierda siendo estos de  $86.2ms \pm 2.8ms$  y  $85.8ms \pm 2.7ms$  ( $p > 0.05$ ), respectivamente.

Como se observa para ambos tipos de estímulos, las diferencias son mínimas con lo cual se puede concluir que no existe diferencia significativa en cuestiones de tiempo de respuesta entre un estímulo y otro.

## 6.5. Reconstrucción de la Información

Conforme el experimento transcurre, la respuesta del nervio cambia. Al inicio el nervio produce potenciales de acción bien definidos y conforme el tiempo transcurre el voltaje disminuye considerablemente. Esto se debe al proceso de adaptación sensorial, el cual es un ajuste de la capacidad sensorial que se produce cuando un ser vivo se acostumbra a un estímulo cambiando así su marco de referencia. Sin embargo, el cambio solo se produce en la amplitud de voltaje y se mantiene la relación de los patrones de tiempos.

Para llevar a cabo la recopilación de la información se procedió a reconstruir de forma manual el patrón de los potenciales de acción, ver figura 29. La reconstrucción respeta de manera íntegra los tiempos de aparición de los potenciales de acción.

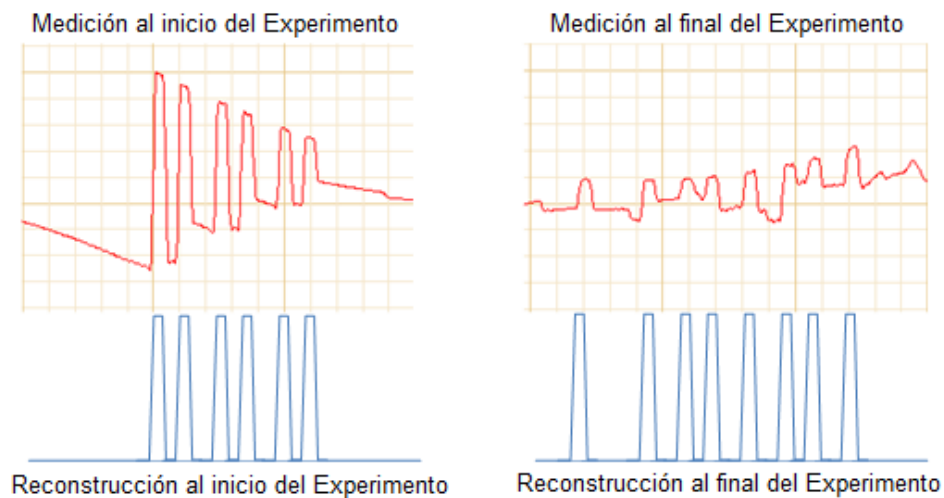


Figura 29: Reconstrucción de señales.

Teniendo esta reconstrucción se observa que los registros obtenidos en los experimentos tienen ciertas características de organización que se van repitiendo con cierta periodicidad. En la figura 30 se muestra como se van obteniendo los registros respuesta en una de las pruebas realizadas tanto para la EPD y la EPI.

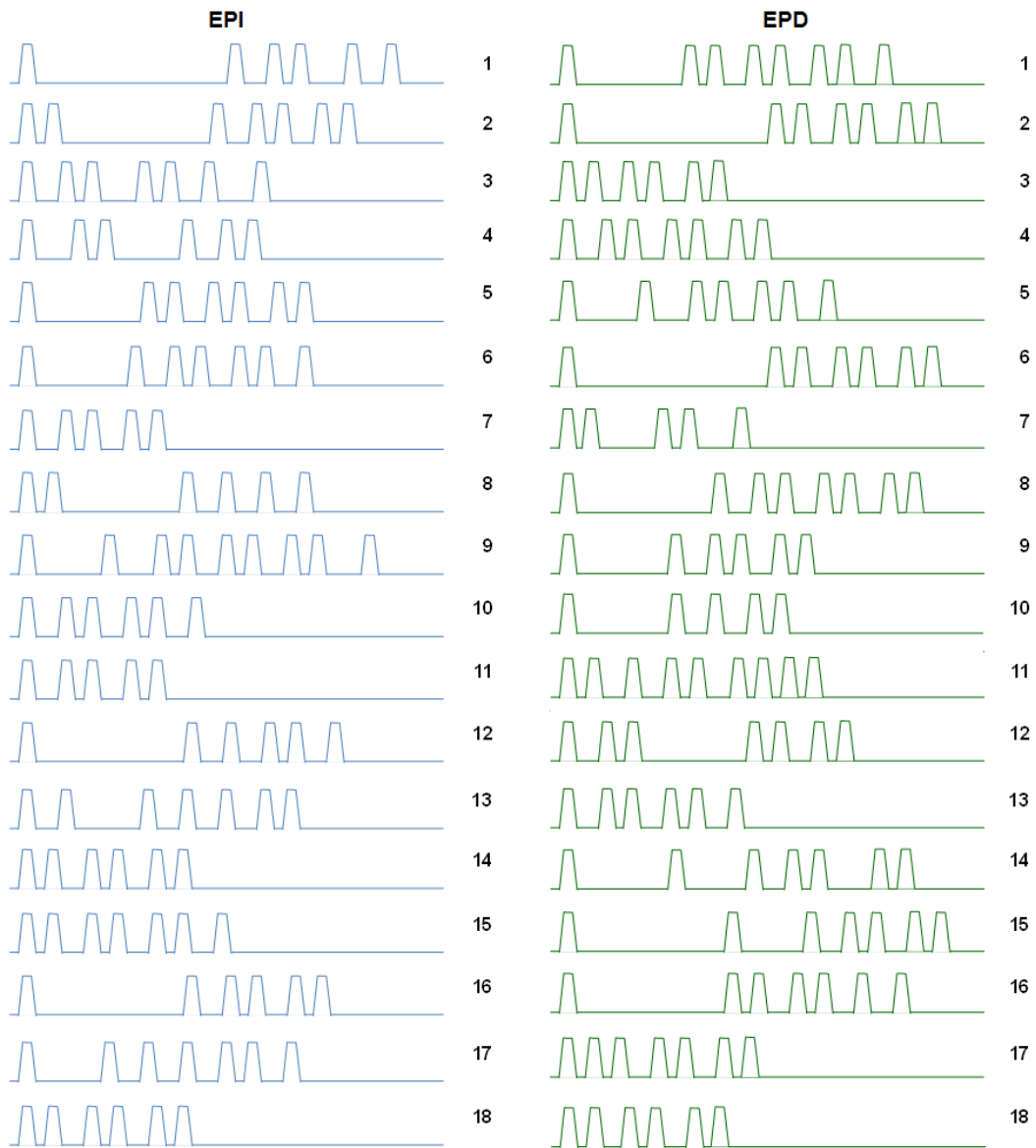


Figura 30: Reconstrucción de EPI y EPD.

Como se observa en la reconstrucción existen respuestas que tienen un patrón marcado como es el caso de la respuesta 1, 5, 6, 7, 9, 12, 16, 17 para los EPI y las respuestas 1, 2, 5, 6, 8, 9, 10, 14, 15 y 16 para los EPD. En estos patrones podemos observar como se genera, al principio de la respuesta, una primera espiga que podría verse que cumple una labor de sincronización del mensaje y como después de esta el desarrollo del mensaje se va dando en pares de espigas las cuales van separadas con los patrones de

tiempo establecidos para paquetes de datos (20ms, 50ms, 60ms y 90ms), ver figura 31.

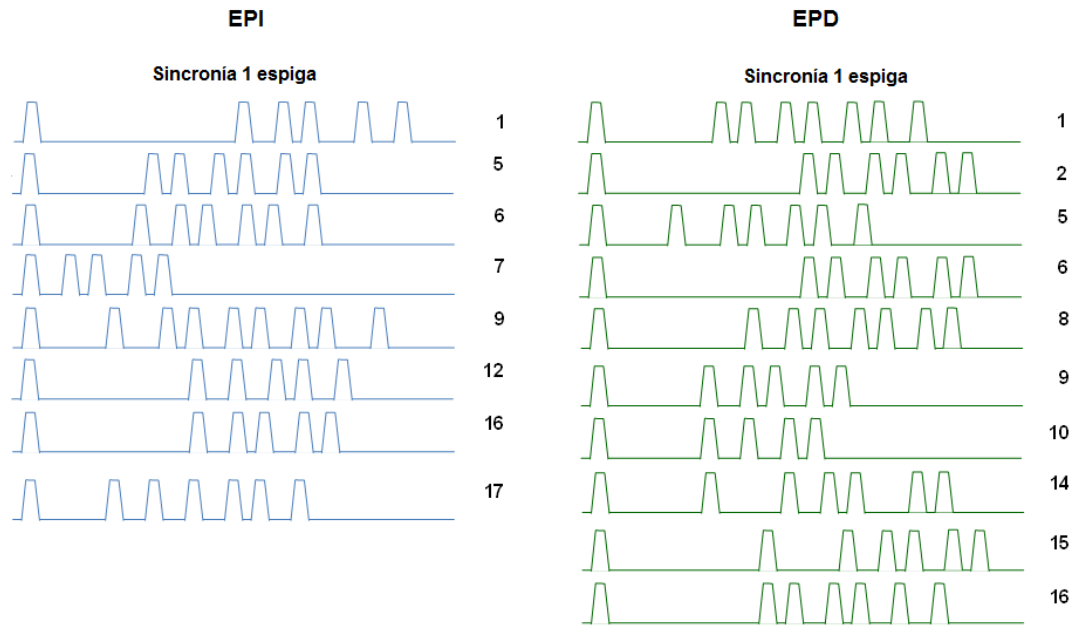


Figura 31: Sincronía a partir de 1 espiga.

Por otra parte también se puede apreciar un segundo patrón que es el que presentan las respuestas 3, 4, 10 y 11 para los EPI y las respuestas 4, 12, y 13 para los EPD. En estos los patrones son muy parecidos al primero con la diferencia de que el tiempo entre la espiga de sincronización y el mensaje es más corto, esto podría deberse a una respuesta más rápida del animal dado el nivel de conciencia que pueda tener, ver figura 32.

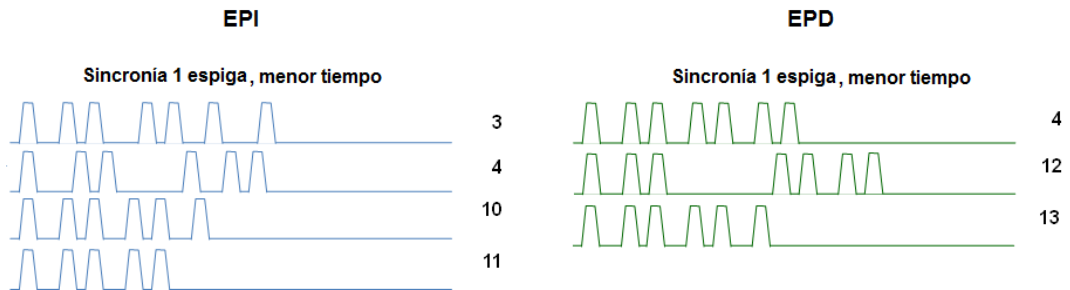


Figura 32: Sincronía a partir de 1 espiga, con menor tiempo entre esta y el mensaje.

De igual manera, se identifica un tercer patron el cual se observa en las respuestas 2, 8, y 13 para los EPI y las respuestas 7 y 11 para los EPD. En este patron se puede observar que la posible sincronización del mensaje se produce a partir de un par de espigas para que posteriormente a esto se de el desarrollo del mensaje por pares de espigas, ver figura 33.

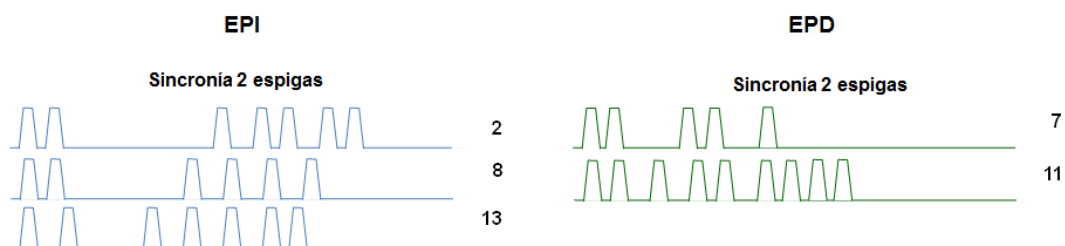


Figura 33: Sincronía a partir de 2 espigas.

Por último, se observó un patron en el cual solo se observaba pares de espigas como si hiciera alusión solo al mensaje de respuesta y se presenta en las respuestas 14, 15 y 18 para los EPI y las respuestas 3, 17 y 18 para los EPD, ver figura 34.

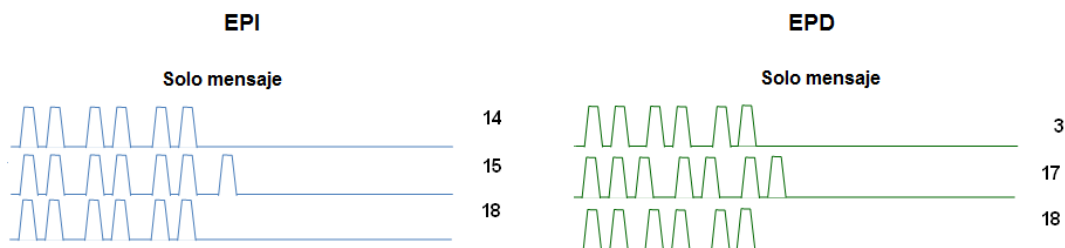


Figura 34: Solo mensaje.

A partir de este análisis, se podría pensar entonces que si existe un cierto protocolo y estándar que siguen las respuestas a los estímulos de los registros obtenidos en nuestros experimentos. Una opción, y trabajo a futuro, sería repetir esta clase de experimentos con un estímulo más controlado, en cuestiones de magnitud, para observar si estos patrones se unifican y se obtiene un único patron que describa la respuesta al estímulo impartido en el nervio femoral.

## 7. Discusión y Conclusiones

Como pudimos observar, las modificaciones realizadas al dispositivo y el método implementado de medición, permitieron registrar señales de impulsos nerviosos sobresaliendo los siguientes puntos:

- Los 3 tipos de secuencias observadas (**SP**, **SN**, **SPN**) pueden ser consecuencia de las diversas vías, aferentes y eferentes, que pueden estar presentes en la zona del nervio donde se realizó la medición.
- En las mediciones realizadas se observó que al menos existían 3 fibras nerviosas. Sin embargo, podrían existir más y se requeriría de una tinción más profunda para saber si existen más de las detectadas.
- El tiempo de duración de la respuesta al estímulo se ve influenciado por el nivel de anestesia en el animal siendo directamente proporcional al grado de conciencia que tenga.
- La duración de las espigas no se ve afectado por el grado de conciencia del animal, ya que en todas las mediciones, tanto EPD como EPI, no tuvo una variación significativa.
- Se propuso un modelo de organización de la transmisión de las respuestas al estímulo a partir de los tiempos de separación entre espigas y en donde la cantidad de mensajes en las respuestas va a estar determinada por el tiempo de duración de la misma.

Es precisamente este modelo propuesto el que nos hace suponer que los impulsos nerviosos transmitidos en respuesta al estímulo puede que tengan una organización, basada en patrones de tiempo, parecida a la que se implementa en los protocolos de comunicación telefónicos y de internet.



## 8. Trabajo a Futuro

Dentro del trabajo pendiente estaría incrementar la resolución del sistema (lo cual ya se encuentra en proceso). Una vez teniendo esto se podría implementar el dispositivo en el análisis de las características de las espigas de una forma más sensible, ya que como se mencionó en este trabajo se podría pensar que las respuestas a los estímulos son enviados en esta forma de mensajes o trenes de espigas cumpliendo ciertos requerimientos de acuerdo al tipo de respuesta (protocolo).

También sería recomendable afinar la manera de impartir el estímulo haciéndolo más controlable y preciso para observar si las respuestas son parecidas entre sí y de esta forma encontrar una relación estímulo respuesta, ya que la mayoría de los grupos de investigación basan sus trabajos solo en detección y reproducción sin darle un análisis más profundo a esta relación.

De igual manera, se puede modificar la forma de aislar el nervio haciendo una especie de canal sobre el cual se colocara al electrodo y a su vez colocar en este al nervio sobre el cual se vaya a registrar la respuesta al estímulo.

## Referencias

- [1] A.C. Guyton, J.E. Hall, "Textbook of Medical Physiology", *Elsevier Saunders*, 11 edition, 2006.
- [2] K. A. Moxon, "Brain-Control Interfaces for Sensory and Motor Prosthetic Devices", *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, Vol.6, pp. 3445-3448, 2001.
- [3] A. Rodríguez, J. Ruiz, J. Rodríguez, M. Delgado, A. Vázquez, "A Power Efficient Neural Spike Recording Channel with Data Bandwidth Reduction", *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 2011.
- [4] M. Ying, S. Lee, M. Ghovanloo, "In Vivo Testing of A Low Noise 32-Channel Wireless Neural Recording System", *31st Annual International Conference of the IEEE EMBS*, Minneapolis, Minnesota, USA, September, 2009.
- [5] S. Farshchi, A. Pesterev, E. Guenterberg, I. Mdy, J. Judy, "An Embedded System Architecture for Wireless Neural Recording", *Proceedings of the 3rd International IEEE EMBS Conference on Neural Engineering*, Kohala Coast, Hawaii, USA, May, 2007.
- [6] N. S. Dias, A. F. Silva, P. M. Mendes, J. H. Correia, "Non-Invasive Iridium Oxide Biopotential Electrodes", *IECON 35th Annual Conference of IEEE*, pp. 1899-1904, 2009.
- [7] P. Griss, P. Enoksson, H. K. Tolvanen-Laakso, P. Merilinen, S. Ollmar, "Micromachined Electrodes for Biopotential Measurements", *Journal of Microelectromechanical System*, Vol.10, No.1, March, 2001.
- [8] P. Griss, H. K. Tolvanen-Laakso, P. Merilinen, G. Stemme, "Characterization of Micromachined Spiked Biopotential Electrodes", *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, Vol.49, No.6, June, 2002.

- [9] L. Wentai, C. Moo Sung, Y. Zhi, K. Hyunchul, "Design of Advanced Neuroscience Platform", *31st Annual International Conference of the IEEE EMBS*, Minneapolis, Minnesota, USA, September, 2009.
- [10] D. Barthélemy, H. Leblond, S. Rossignol, "Characteristics and Mechanism of Locomotion Induced by Intraspinal Microstimulation and Dorsal Root Stimulation in Spinal Cats", *Journal Neurophysiology*, Vol.97, pp. 1986-2000, March, 2007.
- [11] K. A. Moxon, S. C. Leiser, G. A. Gerhardt, K. A. Barbee, J. K. Chapin, "Ceramic-Based Multisite Electrode Arrays for Chronic Single-Neuron Recording", *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, Vol.51, No.4, April, 2004.
- [12] V. K. Mushahwar, D. F. Collins, A. Prochazka, "Spinal Cord Microstimulation Generates Functional Limb Movements in Chronically Implanted Cats", *Experimental Neurology*, Vol.163, pp. 422-429, 2000.
- [13] J. K. Chapin, K. A. Moxon, R. S. Markowitz, M. A. Nicolelis, "Real-time Control of a Robot Arm Using Simultaneously Recorded Neurons in the Motor Cortex", *Nature Neuroscience*, Vol.2, No.7, July, 1999.
- [14] F. Wood, M. J. Black, C. Vargas, M. Fellows, J. P. Donoghue, "On the Variability of Manual Spike Sorting", *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, Vol.51, No.6, June, 2004.
- [15] Z. Yang, Q. Zhao, W. Liu, "Improving Spike Separation Using Waveform Derivatives", *Journal of Neural Engineering*, Vol.6, No.4, 2009.
- [16] M. Lewicki, "A Review of Methods for Spike Sorting: The Detection and Classification of Neural Action Potentials", *Network: Comput. Neural Syst*, pp. 53-78, 1998.
- [17] M. Lewicki, "Bayesian Modeling and Classification of Neural Signal", *Adv Neural Inf Process Syst*, No.6, pp. 590-597, 1994.

- [18] S. Takahashi, Y. Sakurai, “Real time and Automatic Sorting of Multi-Neuronal Activity for Sub-Millisecond Interaction in Vivo”, *Neuroscience*, Vol.134, pp. 301-315, 2005.
- [19] M. Delescluse, Ch. Pouzat, “Efficient Spike-Sorting of Multi-State Neurons Using Inter-Spike Interval Information”, *Journal of Neuroscience Methods*, Vol.150, pp. 16-29, May, 2005.
- [20] T. Araki, T. Hamamoto, M. Kurosawa, A. Sato, “Response of Adrenal Efferent Nerve Activity to Noxious Stimulation of the Skin”, *Neuroscience Letters*, Vol. 17, pp. 131-135, 1980.
- [21] Z. Yang, Q. Zhao, W. Liu, “Spike Feature Extraction Using Informative Samples”, *Adv. Neural Inf Process Syst*, Vol.21, pp. 1865-1872, 2009.
- [22] AT & T pub 54016 (esf) Estandar.
- [23] Synchronous frame structures used at 1544, 6312, 2048, 8448 and 44 736 btis/s hierarchical levels, *ITU-T Recomendation G704*, Oct, 1998.
- [24] Introduction to E1/2.048Mb/s, *Sunrise Telecom Incorporated*, 2001.