



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



ESCUELA TÉCNICA
SUPERIOR INGENIEROS
INDUSTRIALES VALENCIA

TRABAJO FIN DE GRADO EN INGENIERÍA BIOMÉDICA

**ESTUDIO DE LA CONECTIVIDAD
FUNCIONAL Y EFECTIVA ENTRE EL
HIPOCAMPO Y LAS CORTEZAS
ENTORRINAL Y PREFRONTAL DE RATA A
TRAVÉS DE LA EVALUACIÓN DE LA
SINCRONIZACIÓN DEL RITMO THETA DE
REGISTROS ELECTROFISIOLÓGICOS IN
VIVO**

AUTOR: CARLOS ANTEQUERA SÁNCHEZ

TUTOR: DAVID MORATAL PÉREZ

COTUTOR: VÍCTOR JOSÉ LÓPEZ MADRONA

Curso Académico: 2017-18

AGRADECIMIENTOS

Me gustaría aprovechar esta ocasión para recordar y agradecer a todas y cada una de las personas que han hecho posible la realización de este trabajo como culmen a mi formación y mi realización personal:

A mis amigos por ser pilar fundamental en el esfuerzo diario y en la superación, con especial mención a Fernando por soportarme cada día en esta etapa, a Laura por hacer todo más llevadero y a Ana y Lucía por ayudarme en mis últimos pasos.

A todos los docentes que a lo largo de mi vida me han hecho cultivar mis mejores cualidades, han creído en mí y han guiado mi camino hasta aquí.

A Víctor y a David que me han dado la oportunidad de trabajar en un campo apasionante como es la neurociencia.

A mi familia por apoyarme en cada error y en cada acierto, por darme la posibilidad de elegir mi destino y sobre todo quererme.

A mi primo y mi tío por acogerme en esta etapa, por quererme como un hermano y un hijo y por enseñarme que la clave para superar una adversidad es la unión.

A mis abuelos, por cuidarme y valorarme de manera incondicional, por ser ejemplo de humildad y trabajo.

A mi tía. Sin ti no sería quien soy ahora mismo, ni podría haber elegido mi mejor opción, porque me enseñaste a luchar y disfrutar incluso cuando no hay luz.

RESUMEN

La comprensión del funcionamiento de nuestro cerebro es uno de los grandes retos planteados por la humanidad en el siglo XXI. Prueba de ello son los grandes proyectos impulsados por Europa (*Human Brain*) o Estados Unidos (*BRAIN*), así como la multitud de estudios que surgen cada día describiendo el comportamiento de regiones concretas, bajo ciertas restricciones.

Siguiendo con las investigaciones sobre plasticidad neuronal realizadas en colaboración con el Instituto de Neurociencias de Alicante, se pretende estudiar la actividad eléctrica en el hipocampo de la rata. Esta estructura cerebral está fuertemente vinculada a la función de la memoria del ser humano y se ha demostrado su importante participación en la memoria espacial en roedores.

El objetivo de este trabajo es el estudio de la sincronización entre el hipocampo y las cortezas entorrinal y prefrontal, principales estructuras cerebrales de entrada y salida al circuito del hipocampo. Ello se llevará a cabo a través de la medición y evaluación de los desfases entre componentes independientes, obtenidos a partir de señales electrofisiológicas *in vivo* de varios sujetos anestesiados. Además, se estudiará la evolución de este desfase en el tiempo y su variación con respecto a parámetros de interés de nuestras señales.

Las señales a analizar son potenciales de campo local o LFPs (del inglés, *local field potential*), las cuales representan la actividad promedio del grupo de neuronas situadas alrededor de nuestro electrodo, cuyas contribuciones a la señal final dependen de las distancias a este. Estas señales pueden ser descompuestas en varios ritmos, como el ritmo gamma (30-100 Hz) o el theta (4-8 Hz). Se cree que el primero corresponde a procesos locales, al presentar una mayor frecuencia, y el segundo corresponde a comunicación entre regiones alejadas mediante la sincronización entre ellas, debido a su menor frecuencia y su mayor amplitud, factores que facilitan esta sincronización.

El ritmo theta en el hipocampo ha sido objeto de investigación durante décadas el siglo pasado, en búsqueda de su relación con alguna función o comportamiento. En el presente trabajo se pretende evaluar la sincronización en theta dentro de este circuito (entorrinal-hipocampo-prefrontal), caracterizando su comportamiento basal, sus implicaciones en las características de la señal (por ejemplo, potencia en theta y gamma del LFP) y cómo cambia en distintas condiciones.

Palabras clave: ACI; conectividad funcional; conectividad efectiva; corteza entorrinal; corteza prefrontal; correlación; desfase; hipocampo; LFP; PLP; potencia; ritmo theta; ritmo gamma.

RESUM

La comprensió del funcionament del nostre cervell és un dels grans reptes plantejats per la humanitat en el segle XXI. Prova d'això són els grans projectes impulsats per Europa (*Human Brain*) o Estats Units (*BRAIN*), així com la multitud d'estudis que sorgixen cada dia descrivint el comportament de regions concretes, davall certes restriccions.

Seguint amb les investigacions sobre plasticitat neuronal realitzades en col·laboració amb l'Institut de Neurociències d'Alacant, es pretén estudiar l'activitat elèctrica en l'hipocamp de la rata. Esta estructura cerebral està fortament vinculada a la funció de la memòria del ser humà i s'ha demostrat la seua important participació en la memòria espacial en rosegadors.

L'objectiu d'este treball és l'estudi de la sincronització entre l'hipocamp i les corfes entorrinal i prefrontal, principals estructures cerebrals d'entrada i eixida al circuit de l'hipocamp. Això es durà a terme a través del mesurament i avaluació dels desfasaments entre components independents, obtinguts a partir de senyals electrofisiològics *in vivo* de diversos subjectes anestesiats. A més, s'estudiarà l'evolució d'este desfasament en el temps i la seua variació respecte a paràmetres d'interés dels nostres senyals.

Els senyals a analitzar són potencials de camp local o LFPs (de l'anglès, *local field potential*), les quals representen l'activitat mitjana del grup de neurones situades al voltant del nostre elèctrode, les contribucions de les quals al senyal final depenen de les distàncies a este. Estos senyals poden ser descompostes en diversos ritmes, com el ritme gamma (30-100 Hz) o el theta (4-8 Hz). Es creu que el primer correspon a processos locals, al presentar una major freqüència, i el segon correspon a comunicació entre regions allunyades per mitjà de la sincronització entre elles, a causa de la seua menor freqüència i la seua major amplitud, factors que faciliten esta sincronització.

El ritme theta en l'hipocamp ha sigut objecte d'investigació durant dècades el segle passat, a la recerca de la seua relació amb alguna funció o comportament. En el present treball es pretén avaluar la sincronització en theta dins d'este circuit (entorrinal- hipocampo-prefrontal) , caracteritzant el seu comportament basal, les seues implicacions en les característiques del senyal (per exemple, potència en theta i gamma del LFP) i com canvia en distintes condicions.

Paraules clau: ACI; connectivitat funcional; connectivitat efectiva; corfa entorrinal; corfa prefrontal; correlació; desfasament; hipocamp; LFP; potenciació a llarg termini; potència; ritme theta; ritme gamma.

ABSTRACT

One of the 21st century main objectives is the comprehension of how our brain works. Projects like “Human Brain”, supported by Europe, or “BRAIN”, supported by USA, and also many papers published every day explaining the behavior of some region under particular restrictions are proof of that.

Following latest studies about neuronal plasticity carried out in collaboration with the Neuroscience Institute of Alicante, rat hippocampus electrical activity will be studied. This structure is highly related to memory function of human being and its important role in spatial memory in rodents has been also proved.

The main purpose of this work is to study the synchronization between hippocampus, entorhinal cortex and prefrontal cortex. Both are principal brain structures of input and output in hippocampus circuit. That is going to be carried out through the measurement and assessment of temporal delays between independent components, obtained from electrophysiological *in vivo* records from several asleep subjects. Moreover, we are going to study temporal evolution of that delay and its variation in relation to other signals parameters.

The signals that we are going to assess are local field potentials (LFPs), which represent the average activity of groups of neurons placed around each electrode. Their contributions to the final signal depend on the distance between each neuron and the electrode. These signals could be split in many rhythms like gamma rhythm (30-100 Hz) or theta rhythm (4-8 Hz). It is thought that the first one is related to local processes due to its higher frequency, and the second one is related to communication between far regions by synchronization, due to its lower frequency and higher amplitude, factors that make the synchronization easier.

Last century, many researchers has been focused on hippocampus theta rhythm, searching for its relationship with any function or behavior. The aim of this work is to assess the synchronization of theta rhythm inside this memory circuit (entorhinal-hippocampus-prefrontal), describing its basal behavior, how it affects signal's features.

Keywords: correlation; delay; effective connectivity; entorhinal cortex; functional connectivity; gamma rhythm; hippocampus; ICA; LTP; LFP; power; prefrontal cortex; theta rhythm.

ÍNDICE

DOCUMENTOS CONTENIDOS EN EL TFG

- Memoria
- Presupuesto



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA

MEMORIA

ÍNDICE DE LA MEMORIA

0 OBJETIVOS DEL TRABAJO	17
1 INTRODUCCIÓN	18
1.1 El sistema nervioso.....	18
1.2 Las neuronas	19
1.3 El impulso nervioso	20
1.4 La sinapsis	22
1.5 El hipocampo	22
1.6 Potenciación a largo plazo	25
1.7 Neurociencia computacional	26
1.8 Conectividad cerebral.....	27
1.9 Potenciales de campo local.....	28
1.10 Oscilaciones cerebrales	28
2 MATERIAL Y MÉTODOS	30
2.1 Hardware: instrumentos de medida	30
2.1.1 Electrodo Michigan.....	30
2.1.2 Sistema de registro multicanal PGA64.....	30
2.1.3 MC_CARD.....	30
2.2 Software.....	30
2.3 Análisis de componentes independientes	31
2.5 Índice de sincronización	35
2.6 Potencia	37
2.8 Técnicas estadísticas	38
2.8.1 ANOVA	38
2.8.2 Comparaciones múltiples.....	41
2.9 Animales	43
3 RESULTADOS	45
3.1 Sujetos individuales.....	45
3.1.1 Sincronización	45
3.1.2 Potencia	51
3.1.3 Correlación	56
3.2 Promedios.....	61
3.2.1 Sincronización	61
3.2.2 Potencia	63
3.2.3 Correlación	64

3.3 Estadística	65
3.3.1 Sincronización	65
3.3.2 Potencia	66
4 DISCUSIÓN	70
4.1 Sujetos	70
4.2 Promedio.....	70
4.3 Estadística	71
5 CONCLUSIONES	73
6 LÍNEAS FUTURAS	74
7 BIBLIOGRAFÍA	75

0 OBJETIVOS DEL TRABAJO

Con el auge de la aplicación de las tecnologías de la computación al campo de la neurociencia se ha observado un considerable aumento de las características analizables en las distintas señales que se obtienen. El procesado digital y las herramientas tan potentes con las que se cuenta hoy día permiten el análisis en profundidad de estas señales y el desarrollo de nuevos parámetros y modelos que permiten explotar las capacidades de computación actuales promoviendo la neurociencia hacia un campo menos ortodoxo y más técnico.

El objetivo principal del presente trabajo consiste en evaluar el comportamiento de un nuevo parámetro propuesto para la medición de la sincronización entre registros eléctricos de distintas regiones cerebrales.

Como objetivos secundarios y relacionados con el principal, se pretende comprobar la evolución de la potencia en los registros donde se prueba el índice de sincronización propuesto, así como la relación de la evolución de la potencia con la evolución de este indicador mediante medidas de correlación.

Se pretende también dotar a los resultados de potencia y sincronización de significancia estadística mediante la aplicación de test ANOVA y comparaciones múltiples.

Por otro lado, los distintos resultados obtenidos acerca del comportamiento del parámetro de sincronización y su relación con otros parámetros pretende servir de base comparativa para futuros estudios realizados en sujetos ante distintas condiciones.

1 INTRODUCCIÓN

1.1 El sistema nervioso

El sistema nervioso es un conjunto de órganos que permiten a los seres vivos estar conectados con su realidad, tanto con el ambiente que les rodea como con su propio organismo. Este conjunto de órganos está especializado en la captación de información, el procesamiento de la misma y la elaboración y difusión de respuestas acordes a esta. Para la elaboración de estas respuestas, el sistema nervioso cuenta con el control sobre el resto de órganos y sistemas del organismo.

Los cambios que excitan el sistema nervioso son llamados estímulos y la información recogida a partir de ellos aferencias sensitivas. Una vez excitado, durante el proceso conocido como integración, el sistema nervioso procesa estas aferencias, las interpreta y elabora una respuesta para activar músculos o glándulas. Finalmente, emite esta respuesta mediante las eferencias motoras. (Marieb, 2008)

Anatómicamente, este sistema está compuesto de varias partes entre las que se pueden diferenciar el encéfalo, la médula espinal y los nervios. El sistema nervioso a su vez puede dividirse en dos partes de acuerdo a clasificación estructural, el sistema nervioso central (SNC) y el sistema nervioso periférico (SNP). El SNC está formado por el encéfalo y la médula espinal y es el encargado de realizar las funciones de percepción, procesamiento de información y elaboración de respuestas. Por otro lado, el SNP se encarga principalmente de conectar el SNC con el resto de los órganos y sistemas.

Otra división común es la clasificación funcional del SNP, de acuerdo a la cual puede ser dividido en división aferente y división eferente. La división aferente comprende a todos los nervios que transportan los impulsos desde los receptores sensitivos hacia el SNC (entrada) y la división eferente transporta todos los impulsos que se emiten desde el SNC (salida) hasta los órganos efectores.

Volviendo a la división anatómica, el encéfalo está dividido en los hemisferios cerebrales, el diencefalo, el tronco encefálico y el cerebelo. Concretamente, una parte de este trabajo se ha centrado en el cerebro, el cual está formado por los dos hemisferios cerebrales, izquierdo y derecho. Cada hemisferio está formado por tres regiones: una corteza de sustancia gris, la sustancia blanca y los núcleos basales. Estos hemisferios se dividen en lóbulos según los huesos craneales por los que son cubiertos, teniendo así los lóbulos frontales, temporales, parietales y occipitales.

Gracias a la estimulación eléctrica cortical o las nuevas técnicas de imagen funcional es posible conocer la región del cerebro encargada en el desempeño de una determinada función. En décadas pasadas se procedía a la estimulación eléctrica de la corteza cerebral de pacientes despiertos por el cual eran sometidos a pequeñas descargas en la zona cortical del cerebro y estos experimentaban sensaciones, evocaban ideas, realizaban movimientos o incluso emitían algún sonido.

Ejemplo de este tipo de estudios fueron los trabajos de Wilder Penfield, neurocirujano estadounidense, el cual durante sus operaciones para saber qué región debía operar sometía a los pacientes a estas estimulaciones. Gracias a ello ideó un mapa sensorial y un mapa motor, donde se identifica cada región cerebral con la parte del cuerpo con la que se relaciona. Estos mapas son identificados como homúnculo de Penfield. Hoy día estas técnicas tan invasivas se sustituyen por imágenes funcionales como la tomografía por emisión de positrones (PET) o la resonancia magnética funcional.

La corteza cerebral es la parte del cerebro involucrada en las tareas cognitivas más complejas como el lenguaje, la memoria, la lógica, las emociones, la conciencia, las sensaciones y el movimiento voluntario. Parte del objeto de este trabajo se centra en la corteza prefrontal, situada en la parte anterior de la corteza del lóbulo frontal, la cual está involucrada en la actividad memorística (Hall, 2016).

1.2 Las neuronas

La unidad básica anatómico-estructural del sistema nervioso es la neurona. La neurona es un tipo de célula especializada en la transmisión de mensajes de información en forma de impulsos eléctricos. Existen varios tipos de estas células, pero en general están formadas por un cuerpo o soma, un axón y dendritas.

El soma o cuerpo neuronal, tal como muestra la figura 1, es la parte más voluminosa de la neurona y contiene al núcleo y al resto de orgánulos que desempeñan las funciones metabólicas de esta. Por otro lado, el soma neuronal está rodeado por prolongaciones, las cuales pueden ser dendritas o axones. Las dendritas son las prolongaciones que sirven de canales de entrada del impulso nervioso hacia el soma, en cambio el axón es el canal de salida del impulso nervioso hacia otra neurona o una unidad efectora. Estas prolongaciones tienen variabilidad en cuanto a su número y en cuanto a su longitud entre los distintos tipos de neuronas, aunque ninguna cuenta con más de un axón.

Por tanto, la neurona recibe impulsos nerviosos de otras neuronas a través de las dendritas y transmite el impulso nervioso a través del axón, el cual se ramifica en numerosas terminales unidas a multitud de neuronas. La mayoría de las fibras nerviosas de gran longitud se encuentran cubiertas por bandas de mielina, la cual aumenta la velocidad de transmisión del impulso nervioso por su carácter aislante. Esta banda de mielina es aportada por células de Schwann en el SNP y por oligodendrocitos en el SNC.

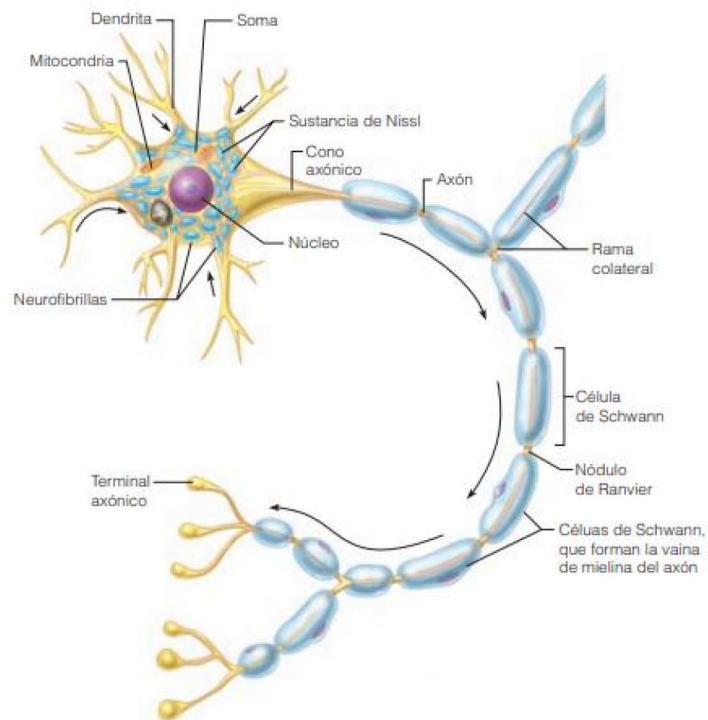


Figura 1. Neurona motora del SNP (Marieb, 2008)

1.3 El impulso nervioso

Bien es sabido que la unidad mínima de información con la que trabajan nuestras neuronas es el impulso nervioso, el cual consiste en un impulso eléctrico que viaja por nuestros circuitos neuronales. Sin embargo, ¿cuál es su origen? ¿cómo se desplaza por estos circuitos?

Los organismos de los seres vivos no solamente son química, de hecho, algunas de las funciones más importantes de los organismos vivos dependen de propiedades eléctricas como bien puede ser la función motora de nuestro corazón o la actividad de nuestro sistema nervioso. Por ello, es pertinente hablar sobre las propiedades eléctricas de nuestras células y más concretamente de las neuronas.

Las células del organismo humano y el medio extracelular cuentan con la presencia de iones (sodio, potasio, cloro, magnesio, calcio, etc.) que definen un cierto potencial en la membrana de estas. Esta membrana actúa como un condensador, ya que, al estar formada en su naturaleza bioquímica de fosfolípidos, actúa de aislante que separa dos materiales conductores (el medio intracelular y el medio extracelular, ambos bañados por, en definitiva, agua más iones).

Este potencial antes mencionado viene definido por la diferencia entre el potencial interior de la célula y el potencial externo de la misma. Por otro lado, al contar con un aislante se debe tener algún medio de regulación de entrada y salida de estos iones. En este momento es cuando entran en juego distintos mecanismos, pasivos como son los canales iónicos o los intercambiadores y cotransportadores y los activos, también llamados bombas.

Gracias a estos mecanismos los potenciales de membrana de nuestras células excitables pueden variar, obteniendo así sus peculiares funcionalidades dependientes del potencial

de membrana. Cabe mencionar que, en el caso de las células no excitables, aunque pueda parecer que estos canales iónicos pierdan sentido, tienen utilidad en el intercambio de sal y agua y la consecuente regulación del volumen celular y el pH.

Dicho esto, el potencial de una célula puede variar debido a algún tipo de excitación. Por ejemplo, el potencial de las células gustativas cambia debido a la entrada de iones provenientes de la ingesta. Dependiendo de los iones presentes excitará un tipo de célula gustativa que da lugar a su despolarización (inversión de la polaridad de su membrana), la generación del impulso nervioso consecuente y la sensación del sabor correspondiente a ese tipo de célula gustativa en el cerebro.

Por tanto, el impulso nervioso consiste en la transmisión de esta despolarización a lo largo de los circuitos neuronales. En primer lugar, un estímulo provoca un cambio en la permeabilidad de la membrana, permitiendo el flujo de ciertos iones. Esta permeabilidad ante ciertos iones viene definida por los canales iónicos, los cuales cambian su estructura proteica según el potencial de la membrana y permiten o evitan el paso de iones específicos en función de este. Además, existe un tipo de canal específico para cada ion. Al producirse el estímulo el potencial de membrana aumenta, aumentando el número de aperturas de canales específicos para ciertos iones.

Si la difusión de iones es lo bastante grande, el potencial de membrana de la célula alcanza el umbral de despolarización se produce una difusión masiva de iones y la membrana se despolariza localmente, revirtiendo la polaridad de la membrana en esta zona y desencadenando el potencial de acción.

Posteriormente, se generan pequeñas corrientes de iones paralelas a la membrana de la neurona tal como muestra la figura 2, alterando el potencial local colindante, propagando el potencial de acción. Así pues, se genera una cascada de pequeñas corrientes y despolarizaciones de la membrana neuronal. Sin embargo, tras la despolarización, la permeabilidad de los iones cambia de nuevo debido a la polaridad de la membrana y las corrientes de estos iones varía, esto sumado a la acción de algunas bombas de iones, provocan la repolarización de la membrana (vuelta al estado de reposo eléctrico de la célula). Ahora bien, ¿cómo se transmite esta corriente de una neurona a otra? Mediante la sinapsis neuronal.

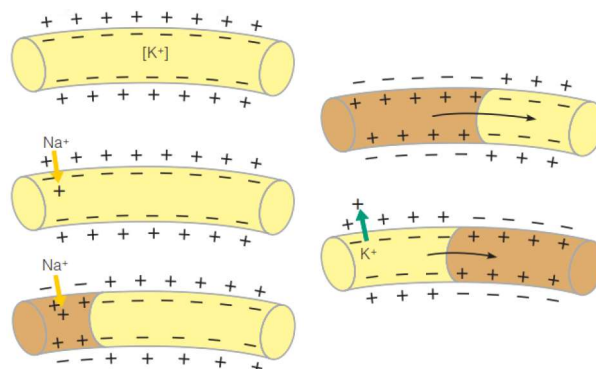


Figura 2. Impulso nervioso (Marieb, 2008)

1.4 La sinapsis

Las neuronas se encuentran unidas entre sí formando lo que se conoce como circuitos neuronales. Estas uniones son denominadas sinapsis y se pueden diferenciar dos tipos, químicas y eléctricas, aunque las más comunes son las primeras. Las sinapsis químicas están formadas por la unión de un terminal axónico y una dendrita, formando una cavidad entre membranas neuronales llamada hendidura sináptica.

El proceso que sigue el impulso nervioso es el siguiente: una vez llega al terminal axónico (una de las terminaciones del axón neuronal), la despolarización ocasiona el acercamiento hacia la hendidura sináptica de unas vesículas las cuales contienen unas sustancias llamadas neurotransmisores. Estas vesículas se fusionan con la membrana neuronal que da a la hendidura sináptica, liberando estos neurotransmisores. Posteriormente, los neurotransmisores se unen a sus correspondientes receptores situados en la membrana de la dendrita. Estos receptores al encontrarse con las sustancias complementarias abren ciertos canales iónicos variando la permeabilidad a estos y desencadenando la despolarización de la membrana de la siguiente neurona.

Finalmente, el impulso eléctrico se transmite por la segunda neurona hasta llegar a las próximas sinapsis y así sucesivamente. En la figura 3 se puede observar el proceso mencionado.

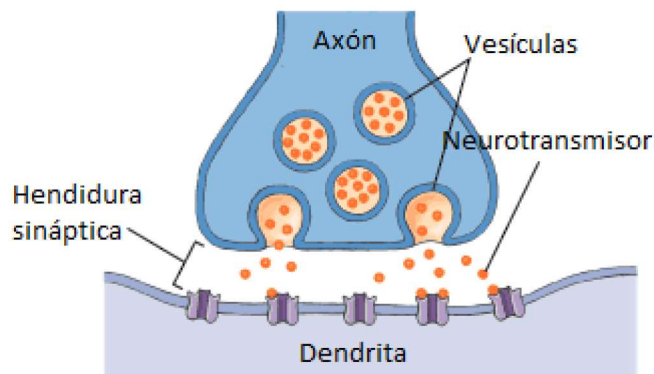


Figura 3. Sinapsis (Conway Psychology, 2010) modificado

1.5 El hipocampo

El hipocampo es una extensión de la zona temporal de la corteza cerebral. Puede ser descrito como una capa densa de neuronas organizadas en forma de S en el núcleo del lóbulo temporal. Debido a esta forma se asemeja a un caballito de mar, es por esto que se define hipocampo, del latín *hippocampus*, nombre científico con el que se designa a este animal. Se considera parte del sistema límbico, subconjunto del sistema cerebral designado como cerebro primitivo, el cual está implicado en gestionar principios como el hambre, la motivación, el humor, el placer, el apetito, la memoria, etc. (Dhikav & Anand, 2012).

El hipocampo ha sido una de las partes del cerebro más estudiadas en las últimas décadas debido entre otras cosas a que su atrofia tiene consecuencias clínicas y es una zona afectada

considerablemente en patologías neuropsiquiátricas como la enfermedad de Alzheimer o la epilepsia.

En cuanto a su anatomía, el hipocampo está dividido en dos partes: el hipocampo propiamente dicho (*Cornu ammonis*) y el giro dentado. Otra estructura a definir es la formación hipocampal, estructurada en *Cornu ammonis* (CA), giro dentado (DG, del inglés, *dentate gyrus*), subículo y corteza entorrinal (EC, del inglés, *entorhinal cortex*). El *Cornu ammonis* está dividido en CA1, CA2, CA3 y CA4. Junto al CA1 se sitúa el subículo, el cual une el hipocampo con la corteza entorrinal (Schultz & Engelhardt, 2014)(Rao, 2016).

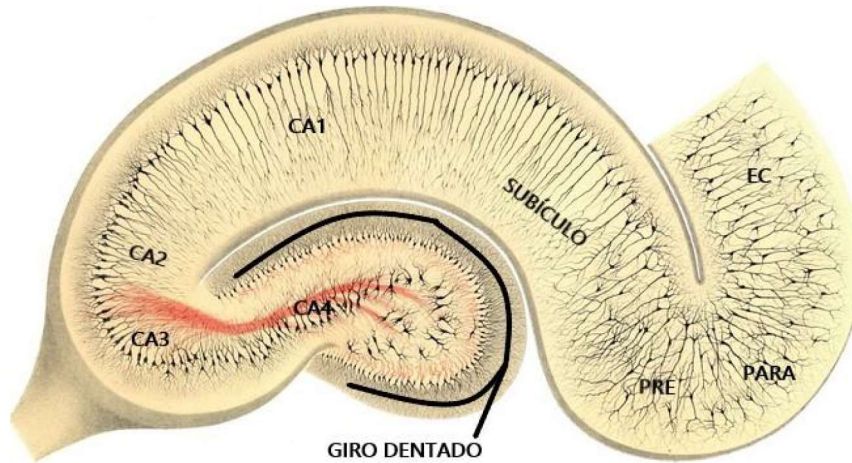


Figura 4. Formación hipocampal. Modificado de un dibujo de (Golgi. C., 1886). CA= *Cornu Ammonis*; PRE=Presubiculo; PARA=Parasubiculo; EC= *Entorhinal Cortex*.

Aunque en la figura 4 se puede apreciar que las distintas estructuras se encuentran inconexas, realmente esto no es así. En general, las estructuras del CA, giro dentado y subículo están formadas por una capa principal de neuronas, firmemente empaquetadas y fácilmente reconocibles. Esta capa corresponde a la capa que forman los somas neuronales apilados. En el CA, esta capa corresponde a neuronas piramidales. Las dendritas de estas neuronas se distribuyen en una o dos direcciones, formando las capas celulares colindantes a esta capa principal. Por otra parte, los axones de estas estructuras se conectan con distintos dominios cerebrales, teniendo tanto conexiones intrínsecas como extrínsecas, como se puede comprobar en la figura 5.

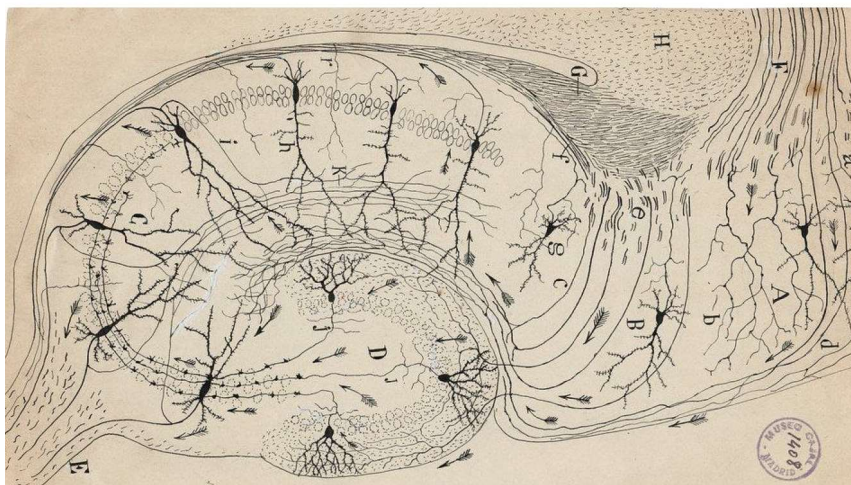


Figura 5. Formación hipocampal (Cajal, S.R., 1909)

Las relaciones principales entre estas estructuras son las que se muestran en la figura 6.

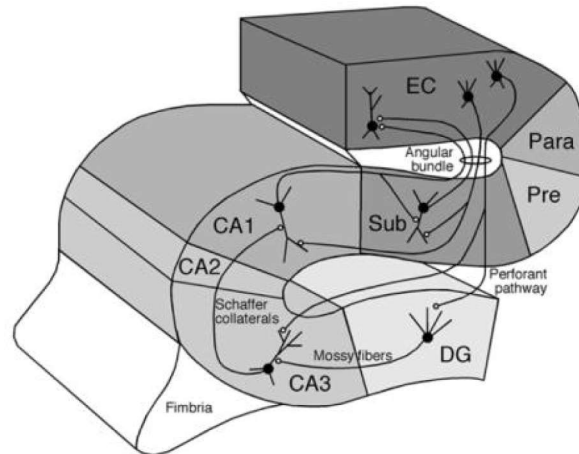


Figura 6. Ilustración esquemática de la conectividad intrínseca del sistema hipocámpico. Los grandes puntos negros representan los somas neuronales de las células principales; las líneas representan los axones que conectan las distintas subregiones, con puntos blancos pequeños que representan las sinapsis. EC = corteza entorrinal; Para = parasubículo; Pre= presubículo; Sub = subículo; DG= giro dentado (Álvarez Salvado, 2015). Adaptado de Amaral & Lavenex, 2007.

El hipocampo como tal es considerado una estructura ancestral de nuestro cerebro que difiere tanto anatómicamente como fisiológicamente de la corteza cerebral. Esta curiosa diferencia es lo que ha llevado a gran parte de la comunidad neurocientífica a estudiar esta estructura en busca de respuestas sobre la neurofisiología cerebral. Como ejemplo, el sustrato neural de la memoria fue descubierto en esta estructura, la llamada potenciación a largo plazo o *long-term potentiation (LTP)* en inglés, la cual se describe en siguientes apartados.

Cabe mencionar que la principal vía de entrada de información hacia el hipocampo es la corteza entorrinal, la cual recibe información procedente de áreas corticales y áreas sensitivas. A su vez, la principal vía de salida del hipocampo es la corteza prefrontal. Es por ello que el estudio del hipocampo ligado a la corteza entorrinal, la corteza prefrontal y otras zonas del cerebro es algo bastante común y lógico en este ámbito. Ello justifica que este estudio se centre en la interacción entre la corteza prefrontal, la corteza entorrinal y el hipocampo.

También es importante añadir que las neuronas del hipocampo generan un ritmo theta característico, el cual tiene una frecuencia baja (4-8Hz). Aunque su origen aún se apoya en varias hipótesis, bien es cierto que el hipocampo genera algunas de las mayores ondas cerebrales vistas en el electroencefalograma (EEG). Las hipótesis más populares proponen que estas ondas están relacionadas con el aprendizaje y la memoria (Dhikav & Anand, 2012). La hipótesis que gana más fuerza acerca del origen de estos ritmos se basa en la competencia entre interneuronas inhibitorias del giro dentado que proyectan sobre las neuronas granulares de esta misma estructura y las neuronas excitatorias de la segunda capa de la corteza entorrinal que también proyectan sus axones sobre el giro dentado (Buzsáki, 2002).

Uno de los circuitos neuronales a destacar en relación con esto es el circuito trisináptico. Este se inicia en la corteza entorrinal, sus neuronas proyectan hacia las neuronas del giro dentado (formando la vía perforante), estas segundas proyectan hacia las células piramidales del CA3 y finalmente mediante sus axones (colaterales de Schaffer) envían la información hasta las neuronas del CA1, que a su vez vuelven a proyectar a la corteza entorrinal. Este circuito es el

encargado de procesar la información de la memoria declarativa, la cual relaciona diferentes aferencias sensoriales, también llamada memoria consciente porque permite evocar recuerdos de forma consciente (Olivares, Juárez, & García, 2015).

Sin embargo, el hipocampo no solo está involucrado en la gestión declarativa a largo plazo, sino que también está relacionada con la memoria relacional, la espacial y espaciotemporal y la memoria de trabajo, basada en la repetición rápida y de corta duración. Por ejemplo, cuando se memoriza un número de teléfono para marcarlo segundos después (Leszczynski, 2011).

Estos distintos procesos memorísticos comparten el circuito nombrado anteriormente. En el caso de tratarse de memoria a corto plazo, la información viaja por el circuito trisináptico formando un bucle y potenciando las sinapsis de manera reiterada, codificando así el registro del recuerdo. Cuando esta información ya no es relevante, la información deja de circular por este circuito cerrado.

Para el caso de la memoria a largo plazo, el circuito es más complejo y hace uso tanto de este circuito cerrado como de las proyecciones de CA1 y CA3 a la corteza prefrontal. En este caso, la corteza prefrontal facilita un contexto significativo al recuerdo en cuestión sobre la situación en la que este se produjo. Además, la interacción entre el hipocampo y la corteza prefrontal permite la asimilación de nuevos recuerdos a estructuras de lenguaje que ya estaban formadas, llamadas esquemas (Preston & Eichenbaum, 2013). Por otra parte, hay evidencias de que, en este tipo de registros a largo plazo, la comunicación es bidireccional entre el hipocampo y la corteza prefrontal. Como se ha comentado, la corteza prefrontal añade contexto a los recuerdos, pero además el hipocampo rememora el recuerdo correspondiente a este contexto cuando el sujeto vuelve de forma presencial a este contexto (Place, Farovik, Brockmann, & Eichenbaum, 2016).

1.6 Potenciación a largo plazo

Tal como Cajal propuso en 1909 (Cajal, S.R., 1909), la funcionalidad de la memoria está íntimamente relacionada con cambios en la intensidad de las conexiones neuronales. Pero aún debieron pasar algunos años hasta definir un modelo que representase los cambios en la intensidad de las sinapsis durante los procesos de aprendizaje y memorística, concretamente hasta 1949, de la mano de Hebb (Morris, 1999), el cual propuso un modelo en el que la sinapsis se ve modificada por la coincidencia entre la actividad presináptica y postsináptica (Nicoll, 2017).

Sin embargo, no se tenían aún pruebas empíricas de la plasticidad de las sinapsis en el cerebro de mamíferos. Se tuvo que esperar otros 20 años más hasta el descubrimiento de la potenciación a largo plazo, en inglés *long-term potentiation (LTP)* (Bliss & Lømo, 1973). Paralelamente se descubrió que estimulaciones de alta frecuencia de las sinapsis hipocampales producían un incremento rápido y duradero de la intensidad de estas sinapsis que podían persistir por días. Además, Bliss y Lomo llegaron a la conclusión de que el aumento de la intensidad de la unión entre neuronas podría ser debido al aumento de la liberación de neurotransmisores o al aumento de la sensibilidad a estos por parte de la neurona postsináptica.

Por tanto, la potenciación a largo plazo resulta ser uno de los modelos celulares más atractivos para el estudio del aprendizaje y la memoria. La potenciación a largo plazo no es un mecanismo, es la consecuencia de una excitación repetitiva y continuada a lo largo del tiempo de la sinapsis

entre dos neuronas. Experimentalmente este proceso se lleva a cabo mediante la excitación eléctrica, pero la base molecular de este proceso se basa en lo siguiente:

Cuando nuestro cerebro intenta memorizar algo, se activan varias vías neuronales, como por ejemplo el circuito trisináptico comentado en el apartado de hipocampo. Durante su estimulación, se excitan los colaterales de Schaffer, axones que se conectan con las neuronas piramidales del CA1. Esta unión ha sido extensamente estudiada en el mundo de la neurociencia, entre otras cosas por esta funcionalidad. Al excitarse los colaterales de Schaffer, en las sinapsis con las neuronas de CA1 se libera un neurotransmisor llamado glutamato.

Este neurotransmisor se asocia a dos tipos de canales dependientes del mismo, es decir que se activan con la presencia de glutamato. El primer tipo deja pasar iones de sodio contribuyendo a la despolarización de la neurona postsináptica y el segundo tipo tiene alta permeabilidad a los iones de calcio, pero se encuentra bloqueado por iones magnesio.

Sin embargo, cuando la excitación de esta sinapsis es repetitiva y continuada, la liberación de glutamato a la hendidura sináptica aumenta considerablemente, fomentando la inclusión masiva de iones sodio a la neurona postsináptica, los cuales por electroestática acaban repeliendo hacia fuera los iones magnesio que bloqueaban el segundo tipo de canales. Así, los iones de calcio podrán acceder a la neurona postsináptica, activando varias cascadas en las que la neurona acaba aumentando su tamaño y aumenta el número de sinapsis por producción de factores de crecimiento y además expone más canales dependientes de glutamato a la hendidura postsináptica, intensificando la sinapsis descrita, (Carleton University, 2013).

1.7 Neurociencia computacional

La neurociencia computacional busca generar teorías sobre la función cerebral en términos del procesado de la información por parte de las estructuras que forman el sistema nervioso. Es una ciencia interdisciplinar que une campos diversos como la neurociencia, la ciencia cognitiva y la psicología con la ingeniería eléctrica, la ciencia computacional, así como las matemáticas o la física (OFCN, 2017; Churchland, Koch, & Sejnowski, 1990).

En definitiva, es la ciencia que estudia cómo el cerebro procesa la información desde distintos niveles de detalle. Históricamente, el origen de la neurociencia computacional se sitúa en el modelo matemático de Alan L. Hodgking y Andrew F. Huxley (Hodgkin & Huxley, 1952) del potencial de acción basado en la experimentación con un axón de calamar gigante. Posiblemente se considera el origen de esta ciencia debido a que los artículos científicos de la época no promovían el uso de métodos computacionales en neurociencia de manera directa. Sin embargo, el modelo de Hodgking y Huxley sigue hoy día usándose en su forma original en este campo.

El siguiente paso histórico fue dado por Wilfrid Rall, que utilizó computadores digitales en neurociencia y desarrolló una versión discretizada de la teoría de cables (uso de modelos matemáticos basados en teoría de circuitos para calcular la tensión asociada a un flujo de corriente eléctrica por axones) lo cual formó la base para algunos de los softwares más utilizados en neurociencia computacional. Su aportación es muy interesante debido a su conflicto con los neurocientíficos experimentales y su foco en el dominio espacial, ya que hasta entonces los modelos se centraban en aspectos temporales. Sin embargo, los hallazgos de Rall no tendrían el impacto esperado hasta la década de los 70, 11 años tras su primera publicación sobre la

atenuación dendrítica de la entrada sináptica y el sumatorio espacial (Rall W., 1964; Rall W., 1959). A pesar de que la neurociencia teórica iba ganando terreno a la neurociencia experimental, aún existía un escepticismo generalizado que frenaría la seria consideración de la teoría en neurociencia al mismo nivel que en otros campos como la física (De Schutter, 2008).

Tras años de publicaciones sobre distintos modelos neurales computacionales y avances en el campo, el término de neurociencia computacional apareció en la segunda mitad de la década de los 80. La aparición del propio término vino acompañada del surgimiento de estudios relacionados, como el *Computational & Neural Systems graduate programme* de Caltech, diversos cursos de verano, paquetes de software de simulación para el campo, así como el primer libro de texto sobre el tema. En fases más avanzadas la neurociencia computacional ha permitido realizar desde simulaciones de sinapsis hasta modelado de grandes redes neuronales.

1.8 Conectividad cerebral

La conectividad cerebral es el término por el cual se designa a la relación entre las distintas estructuras que forman el cerebro. Esta relación se estudia desde el nivel macroscópico, con la interacción entre dos neuronas, hasta el nivel de regiones cerebrales. La conectividad cerebral puede dividirse en tres tipos: anatómica, funcional y efectiva (Sporns O., 2007).

La conectividad anatómica o estructural hace referencia a la red de conexiones físicas o estructurales (sinapsis) que unen grupos de neuronas o elementos neuronales, así como a sus características biofísicas definidas por parámetros como la intensidad de la sinapsis o la eficacia de esta. La conectividad estructural es bastante estable en cortos periodos de tiempo, sin embargo, si se observa la evolución en largos periodos de tiempo esta conectividad está sujeta a cambios morfológicos y a la plasticidad neuronal.

Por otro lado, la conectividad funcional se basa en las dependencias estadísticas entre unidades del sistema nervioso. Grosso modo, mide la dependencia estadística entre unidades neuronales distribuidas y a veces espacialmente remotas, mediante medidas de correlación, covarianza, coherencia o relación de fase. A diferencia de la conectividad anatómica, la conectividad funcional depende del tiempo y no tanto del espacio. Cabe destacar que la conectividad funcional no implica ningún tipo de direccionalidad o causalidad en la relación a identificar (López Madrona, 2015).

Por último, la conectividad efectiva se asemeja a la suma entre la conectividad estructural y la conectividad funcional, describiendo redes neuronales y la dirección de la información que se transmite por ellas. Los efectos causales pueden ser inferidos a través de, por ejemplo, consecución temporal de causa-efecto a través de análisis de series temporales. Algunas de estas técnicas necesitan de un modelo estructural que delimite las zonas relacionadas anatómicamente. Otros modelos que usan causalidad temporal no requieren de estas especificaciones y usan medidas como la causalidad de Granger, método en auge para este tipo de medidas, o usan medidas de entropía.

En este trabajo concretamente, se va a estudiar la conectividad funcional entre las tres zonas principales de estudio (hipocampo, corteza entorrinal y corteza prefrontal), ya que estructuralmente estas zonas se encuentran conectadas y su conectividad anatómica ha sido ampliamente estudiada.

1.9 Potenciales de campo local

Para el estudio experimental del cerebro multitud de señales son utilizadas hoy en día. Concretamente en neurociencia computacional, las señales más utilizadas podrían dividirse en registros eléctricos e imágenes. En cuanto a los registros eléctricos se tienen varias metodologías, dependiendo de la posición de los electrodos de registro. Generalmente se puede diferenciar entre: electroencefalograma (EEG), mediante el cual se obtiene la actividad eléctrica cerebral a través de electrodos ubicados en la superficie cerebral; electrocorticograma (ECoG), el cual permite obtener la actividad eléctrica cerebral desde electrodos situados en la corteza cerebral, lo cual mejora la resolución espacial y temporal de la señal; y finalmente los registros profundos, que permiten obtener la actividad eléctrica cerebral desde el interior del cerebro (Martínez de Juan, J. L., 2017).

En el estudio de tejidos en laboratorio también es posible obtener registros eléctricos de una neurona o un conjunto de neuronas aisladas del resto. Sin embargo, para el estudio *in vivo* los registros eléctricos más utilizados son los mencionados anteriormente. Así pues, todos presentan una característica común y es que los registros corresponden a una señal compuesta, formada por las contribuciones de múltiples fuentes neuronales. La ponderación de estas contribuciones depende de la distancia de estas fuentes hasta el electrodo de registro.

Esta señal es lo que se denomina potencial de campo local, del inglés *local field potential (LFP)* y es definida como un compendio de todo lo que ocurre alrededor del electrodo que es colocado. Por tanto, la señal adquirida tiene multitud de soluciones, es decir, puede haber sido originada por multitud de combinaciones distintas de las neuronas de alrededor. Por ello, se debe tener sumo cuidado con la interpretación de estas señales, (Herrerias, 2016).

En el presente trabajo se utilizarán registros eléctricos obtenidos mediante electrodos intracerebrales. Por otra parte, aunque el término "local" puede llevar a confusión, debido a que se puede entender que las señales adquiridas son generadas por únicamente zonas cercanas al electrodo, estas señales son registros de numerosas fuentes de señal, las cuales pueden estar situadas sumamente cerca del electrodo o a una distancia considerable. Es por ello que numerosos artículos tratan de definir cuán local es el potencial de campo local.

1.10 Oscilaciones cerebrales

Las oscilaciones es el nombre con el que los neurocientíficos se refieren a los ritmos de la actividad neuronal. Siguiendo una definición más exhaustiva, se podría decir que una oscilación es un componente que repite su actividad a lo largo del tiempo y su fase en un determinado momento puede ser predicha a partir de su fase en un instante anterior. En registros eléctricos, el voltaje fluctúa entre un valor máximo y un valor mínimo. Cuando la variación absoluta temporal entre estos dos valores es constante se tiene una oscilación sinusoidal.

Tradicionalmente, las oscilaciones neuronales han sido clasificadas en cinco bandas frecuenciales, aunque sus rangos difieren dependiendo de la especie estudiada y el estado del sujeto, entre otros factores. Estas cinco bandas son: banda delta (1-4 Hz), banda theta (4-8 Hz), banda alfa (8-12 Hz), banda beta (15-30 Hz), gamma (30-90 Hz) y gamma alta (>50 Hz). Como se observa, algunas bandas se solapan entre sí y queda algún hueco entre ellas, por lo que no hay

una discretización absoluta del espectro frecuencial, sino que son divisiones aproximadas y variables dentro de los distintos estudios, pues cada ritmo depende de numerosas variables.

En este caso, la división corresponde a los rangos frecuenciales comúnmente observados en EEG humano. El creciente interés por el estudio de los osciladores cerebrales es debido a que teorías recientes sugieren que estas oscilaciones juegan un importante papel en la comunicación neuronal (Cole & Voytek, 2017).

Los grupos neuronales tienden a oscilar cuando son activados y estas oscilaciones constituyen modulaciones rítmicas en la excitabilidad de las neuronas que afecta tanto a la sensibilidad de entrada como a los picos de salida de las neuronas colindantes (Fries, 2005). Concretamente, las oscilaciones theta en el hipocampo son un indicador de su actividad (Buzsáki, 2002).

El origen de estas oscilaciones theta en el hipocampo, descrito anteriormente, se basa en la competencia entre interneuronas inhibitorias (provocan un descenso de la señal) y neuronas excitatorias (provocan un aumento de la señal), generando así la dinámica de fase correspondiente.

Debido a que estas dinámicas son indicadoras de la comunicación entre distintos sistemas neurales, resulta de especial interés el estudio de la sincronización de esta componente frecuencial originada en distintas partes cerebrales. Es por ello por lo que se centra el objeto de estudio en esta componente frecuencial.

Estos osciladores theta de hipocampo, son uno de los ritmos más estudiados en *LFP*. Estos tienen una forma característica, la cual se puede observar en la figura 7.

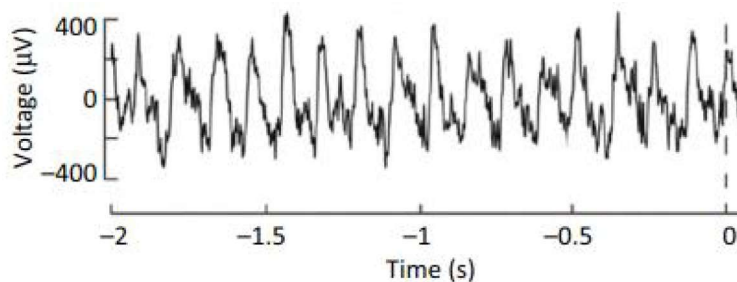


Figura 7. Osciladores theta (Cole & Voytek, 2017)

2 MATERIAL Y MÉTODOS

2.1 Hardware: instrumentos de medida

A continuación, se detalla las herramientas hardware que se utilizaron para registrar las señales con las que se trabaja:

2.1.1 Electrodo Michigan

En los últimos años gracias a los avances en la fabricación de las matrices de microelectrodos, las cuales aseguran un buen contacto tejido-electrodo, se ha intentado obtener registros consistentes de señales de pequeños grupos de neuronas sin pérdida de capacidad de estimulación y una alta resolución espacial. Los electrodos Michigan son un ejemplo de ello (Ghane-Motlagh & Sawan, 2013).

Los electrodos Michigan fueron unas de las primeras matrices de microelectrodos fabricados en silicio durante la década de los 70. En el caso de este trabajo, los multielectrodos utilizados son de la casa *Neuronexus Technologies*, teniendo un diámetro aproximado de 7 micras y 32 contactos de iridio equiespaciados 100 micras. Gracias a la estructura y disposición de estos multielectrodos, disponen de electrónica integrada, eliminando la necesidad de cables.

La ventaja que estos multielectrodos dan frente a otro tipo de hardware es que son ideales para adquirir señales en múltiples áreas, con el menor daño cerebral posible. También permiten una alta reproducibilidad y su uso está avalado en estudios previos *in vivo*. Además, su alto número de canales permite realizar análisis complejos de la señal, obteniendo la información relevante y despreciando la varianza de la señal redundante.

2.1.2 Sistema de registro multicanal PGA64

El sistema PGA64 corresponde a un amplificador de ganancia programable (PGA) de la casa *Multichannel Systems*, con un ancho de banda ajustable entre 1 y 5000 Hz. La ganancia puede modificarse desde un valor de 10 hasta 5000. Este sistema cuenta con 64 canales tanto de entrada como de salida (Multichannel Systems, 2017).

2.1.3 MC_CARD

Esta herramienta hardware corresponde a un conversor analógico-digital, también de la casa *Multichannel Systems*, que realiza la conversión a digital en tiempo real con una tasa de muestreo de hasta 50 KHz para todos los canales de entrada.

2.2 Software

La aplicación de las tecnologías de la computación al campo de la neurociencia ha supuesto un gran empuje a esta disciplina y aún más si se habla de la neurociencia computacional, gracias a posibilitar el uso de modelos más complejos y el estudio de mayor cantidad de datos. Es por ello por lo que resulta imprescindible el uso de herramientas de software para el estudio de la conectividad de diversas zonas del cerebro a partir de registros eléctricos.

La primera herramienta utilizada en el presente trabajo es MATLAB, la cual es una herramienta de software matemático que usa un lenguaje propio y ofrece un entorno propio de programación. Esta herramienta está especializada en el manejo de datos en forma de matrices y está optimizada para dicho uso. Cabe destacar que este programa cuenta con librerías

especializadas en diversos campos como el análisis de señales o el análisis de datos, siendo una de las herramientas software más utilizadas en el ambiente científico-técnico. Concretamente, la versión que se ha utilizado en este trabajo es la versión R2017b.

En el ámbito de la neurociencia y más concretamente en el ámbito de la neurociencia computacional, MATLAB se ha convertido en el software estándar. Por último, cabe mencionar que usa un lenguaje de programación de alto nivel, sencillo y que, de forma similar a otros lenguajes de alto nivel, no puede optimizar al máximo la ejecución del programa debido a que no permite al usuario determinar aspectos a bajo nivel de ejecución.

Otro programa usado en este trabajo es el GraphPad Prism, concretamente la versión 7. Este programa fue originalmente diseñado para biólogos experimentales, pero se ha extendido a otros ámbitos científicos y resulta de gran utilidad para el análisis estadístico de experimentos. Ofrece una forma intuitiva de realizar análisis estadísticos introduciendo los datos en primer lugar en tablas, con formato similar a excel, posteriormente se selecciona el tipo de análisis a realizar y sus distintas opciones, incluyendo los distintos parámetros a definir. Finalmente, el programa presenta el resultado estructurado en otra tabla y en forma gráfica, con diseño a definir entre multitud de opciones. Este programa ha sido usado en este trabajo con el objeto de obtener la significancia estadística de los resultados.

2.3 Análisis de componentes independientes

Estas siglas corresponden al análisis de componentes independientes (ICA, del inglés *independent component analysis*) el cual es un método de separación ciega de fuentes. Estos tipos de métodos son métodos de análisis de señales que consisten en que, a partir de un conjunto de señales dadas se obtienen las fuentes que las han originado, teniendo poco o nulo conocimiento sobre estas fuentes.

Como ejemplo para entender el método ICA se suele describir el llamado problema de la fiesta cóctel. Éste hace alusión a cuando se encuentra en una fiesta y no es capaz de escuchar el discurso de la persona que le está hablando, en su lugar se escucha una mezcla de lo que la persona de interés intenta decir con el resto de las conversaciones de alrededor. El ICA nos permite extraer el discurso de interés (fuente) a partir de la mezcla obtenida. Para crear una imagen mental equivalente se propone imaginar que en una habitación hay dos personas hablando al mismo tiempo y se colocan dos micrófonos que graban simultáneamente, obteniendo las señales $x_1(t)$ y $x_2(t)$, siendo x las amplitudes y t el tiempo.

Cada una de estas señales será una suma ponderada (combinación lineal) de los discursos de las personas, que se denotan por $s_1(t)$ y $s_2(t)$. Este planteamiento se podría definir como el siguiente sistema lineal:

$$x_1(t) = a_{11} \cdot s_1(t) + a_{12} \cdot s_2(t) \quad (1)$$

$$x_2(t) = a_{21} \cdot s_1(t) + a_{22} \cdot s_2(t) \quad (2)$$

Así pues, los parámetros $a_{11}, a_{12}, a_{21}, a_{22}$ dependen de los factores que afectan a la modulación de la señal, en este caso se considera la distancia de los micrófonos a las personas que están hablando. Por tanto, el problema de la fiesta cóctel consiste en obtener esas señales $s_1(t)$ y $s_2(t)$, a partir de las señales $x_1(t)$ y $x_2(t)$. Para ello, se aplica el método ICA, asumiendo que en

cada instante t , las señales $s_1(t)$ y $s_2(t)$ son estadísticamente independientes (Hyvarinen & Oja, 2000).

Las señales a utilizar en este trabajo son señales tomadas por multielectrodos, los cuales registran LFP que al fin y al cabo son combinaciones lineales de componentes cerebrales ponderadas por la distancia de la fuente hasta el electrodo. Por tanto, en conjunto el electrodo recoge información redundante, es decir, una misma fuente es representada en varios registros.

Es por ello que el ICA resulta de gran ayuda para eliminar esta información redundante y obtener las señales originales que generaron todos los registros, en base a independencia estadística. Cabe decir que la única información de la que se dispone para obtener las fuentes independientes son las señales fruto de la combinación lineal de estas fuentes independientes.

Resumiendo, a partir de un conjunto de señales x , se pretende aplicar una transformación para obtener un conjunto de señales independientes s . Todo ello, reduciendo la información mutua entre cada par de señales de x y s a 0 y aumentando todo lo posible la información mutua entre las señales de x y las de s en general.

$$x = \begin{bmatrix} x_1 \\ x_2 \\ \vdots \end{bmatrix} \rightarrow s = \begin{bmatrix} s_1 \\ s_2 \\ \vdots \end{bmatrix} : I(x_i, s_i) = 0, I(x, s) = \uparrow \quad (3)$$

En notación matricial el problema quedaría definido de la siguiente manera:

$$x = As \quad (4)$$

Siendo A la matriz que contiene los elementos a_{ij} , que definen los pesos correspondientes a cada señal fuente (s) para generar las señales mixtas (x). Para dar solución al problema se debería estimar la matriz A , calcular su inversa W y obtener el vector s :

$$s = Wx \quad (5)$$

Dicho esto, se describe el propio método y se expone un ejemplo sencillo para comprender bien el método. ICA asume que tanto las variables mixtas como las variables independientes son variables aleatorias. Además, se asume media cero de ambas variables y que la matriz A es cuadrada, es decir se tiene igual número de elementos en x y en s (tantas observaciones como fuentes independientes). El modelo ICA es un modelo generativo, lo que significa que describe cómo los datos observados (x) son generados por un proceso de mixtura de componentes (s).

El método podría dividirse en dos partes: la primera de ellas corresponde a realizar una transformación de las señales para obtener señales incorreladas, es decir, señales cuya covarianza es nula. Y la segunda parte consiste en obtener las señales independientes a partir de las incorreladas.

La obtención de señales incorreladas se realiza por medio de la aplicación de análisis de componentes principales. Esta puede ser mediada por la aplicación de descomposición en valores propios o descomposición en valores singulares. Para el caso de trabajar únicamente con dos variables mixtas y dos fuentes, para conseguir la independencia de las componentes se deberían rotar los ejes (dos) de representación hasta maximizar el criterio de independencia.

Para definir el criterio de independencia se deben considerar los siguientes principios:

- La mezcla de un gran número de variables aleatorias da lugar a una nueva variable aleatoria, más gaussiana que las variables que originan la mezcla.

- Las variables gaussianas tienen estadísticos de orden alto nulos (curtosis de variables gaussianas es nula).
- Las variables no gaussianas presentan valores positivos o negativos de curtosis.
- Como resultado, la mixtura de las señales originales siempre va a dar como resultado una variable con menor valor de curtosis con respecto a las señales originales.

Por ello, para un conjunto de dos señales, se debe encontrar el ángulo de rotación que maximice el valor de curtosis de las variables fuente estimadas. Para un conjunto de variables mayor será equivalente pero no se tiene una representación espacial que facilite su comprensión.

Este análisis de componentes independientes se aplica en este trabajo al conjunto de registros de hipocampo, obteniendo un total de 32 componentes independientes, debido a que se cuenta con el mismo número de canales en el electrodo. Sin embargo, la mayoría de componentes independientes son despreciables, pues equivalen a fuentes de ruido. Finalmente, para la mayoría de los registros se obtienen 4 componentes independientes de hipocampo y para uno de los sujetos 3.

La primera componente independiente de hipocampo, HC1, consiste en el registro de la señal eléctrica del colateral de Schaffer, el cual está constituido por las neuronas piramidales de CA3 que proyectan sobre CA1. Para la segunda componente de hipocampo, HC2, se tiene el input que se desplaza desde las neuronas de la capa 3 de la corteza entorrinal hasta CA1, pero en este caso a una capa celular distinta a la que se ha mencionado anteriormente. La tercera componente independiente de hipocampo consiste en la señal eléctrica que se dirige por la vía perforante, desde las segunda capa de corteza entorrinal a las neuronas granulares del giro dentado. Finalmente, la última componente corresponde a la señal eléctrica que se desplaza desde el hilus hacia las neuronas granulares del giro dentado.

Por otro lado, al resto de señales que son estudiadas en este trabajo no se aplica ICA, debido a que las señales en entorrinal y prefrontal son muy similares en las distintas capas que forman estas estructuras y basta coger un par de señales de cada zona mencionada para obtener una representación de la actividad eléctrica de la zona. Concretamente, para entorrinal y para prefrontal se toman los registros de las capas 2 y 3 en ambas.

En la figura 9, se puede observar la varianza de cada componente independiente asociada a la región espacial concreta.

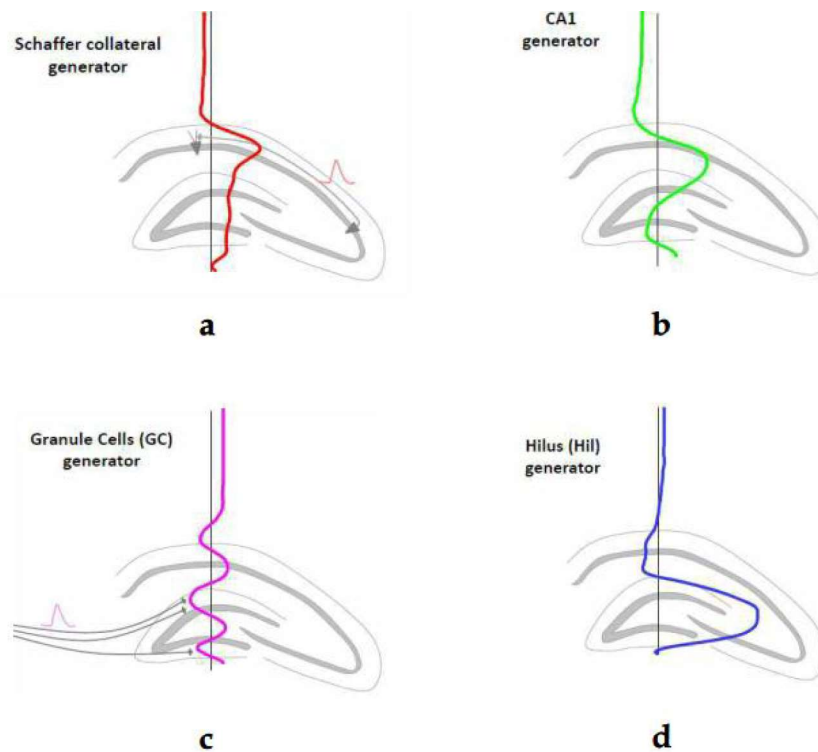


Figura 9. Loadings de las componentes independientes que señalan las correspondencias anatómicas de las mismas. Generador de Schaffer colateral (a) = HC1, generador CA1(b) = HC2, generador de las células granulares (c) = HC3 y generador del Hilus (d) = HC4 (López, 2012).

Y en la figura 10 se puede comprobar la distribución espacial de los generadores de estas señales independientes.

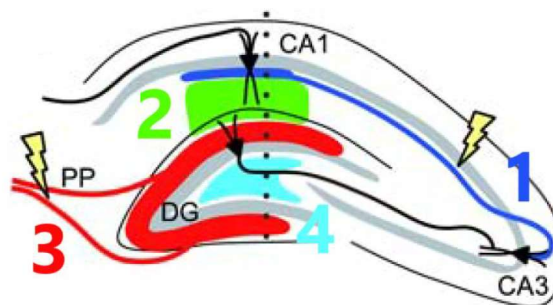


Figura 10. Disposición espacial del origen de las componentes independientes (Álvarez Salvado, 2015).

2.4 Definición de ciclos

Antes de aplicar cualquier otro análisis a las señales, el algoritmo propuesto en este trabajo calcula los picos correspondientes en la frecuencia theta de las señales facilitadas. Para ello, en primer lugar, la señal es filtrada en theta mediante un filtro con una banda de paso entre los 3 y 5 Hz, usando un filtro de uso libre obtenido del repositorio github de los autores Scott Makeig, Arnaud Delorme y Clemens Brunner (Delorme et al., 2011).

Hecho esto, se aplica la transformada de Hilbert, la cual permite obtener información por separado acerca de la amplitud de la señal y la fase de esta. La función utilizada en MATLAB

devuelve la señal analítica de la señal que se pasa como argumento. La señal analítica corresponde a una señal compleja, cuya parte real corresponde a la señal original y la parte imaginaria corresponde a la transformada de Hilbert (Marple, 1999).

Por tanto, la señal analítica corresponde a: $x_a(t) = x(t) + ix_h(t)$; siendo $x_h(t) = H\{x(t)\}$.

La parte imaginaria corresponde a una modificación de la parte real de un desfase de 90° , así pues, si se tuviese un coseno como señal original, nuestra parte imaginaria de salida correspondería a un seno.

Posteriormente, se obtiene la fase de la señal analítica mediante la función *angle* pasándole como argumento la señal analítica. En la figura 8 se muestra el resultado en comparación con la señal original, tomando como ejemplo una señal coseno.

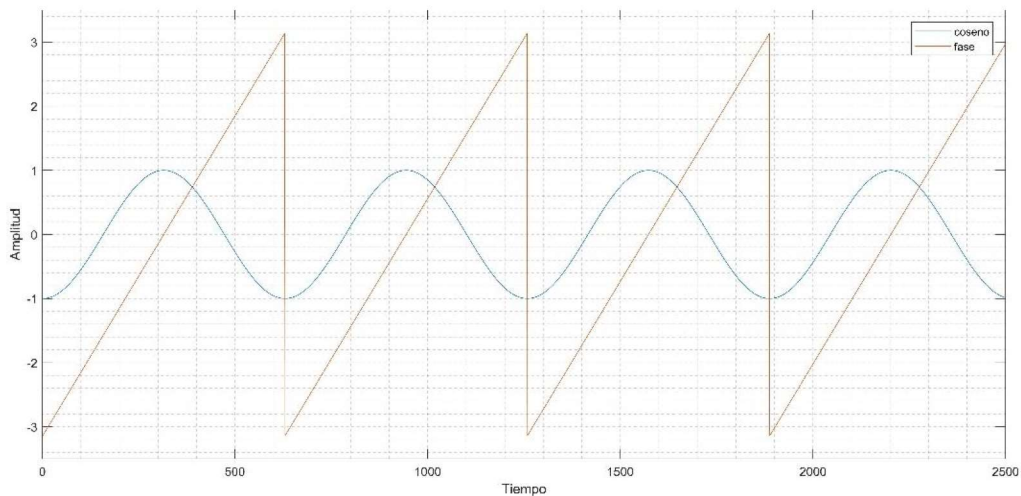


Figura 8. Señal coseno y fase de esta

Finalmente, se obtienen las muestras correspondientes a los picos de fase (máximos locales) mediante la función *findpeaks*. Así pues, tenemos como resultado las muestras que definen los puntos finales de los ciclos de la señal original. Con ello se puede focalizar en estudiar distintos parámetros de la señal en cada uno de los ciclos.

2.5 Índice de sincronización

Con el objeto de estudiar la conexión entre el hipocampo, la corteza entorrinal y la corteza prefrontal en el presente trabajo se propone el uso de un índice para la cuantificación de la sincronización entre las señales generadas en estas zonas.

Como ya se mencionó en el apartado de las oscilaciones cerebrales, teorías recientes sugieren que estos juegan un importante papel en la comunicación neuronal. Gracias a técnicas de registro y de imagen se conoce tanto la activación de grupos de neuronas como los patrones cerebrales de activación, sin embargo, no se conocen los procesos de comunicación entre los grupos neuronales y cómo su comunicación es modulada para generar los procesos cognitivos (Fries, 2005).

Una de las teorías acerca de la comunicación entre grupos neuronales es que viene apoyada por la coherencia entre las señales de los grupos que se comunican, es decir, solo los grupos de

neuronas coherentes entre sí pueden comunicarse de forma efectiva, ya que las ventanas de comunicación de entrada y salida están “abiertas” al mismo tiempo. En este trabajo se propone ir más allá, focalizando en la banda theta en lugar de todo el espectro y evaluando la sincronización.

En este caso se fija la atención en la banda theta debido a que el circuito bajo estudio es el correspondiente a la función del aprendizaje y la memoria, y años de investigación avalan que la activación de esta función está relacionada con la generación de oscilaciones theta por el hipocampo. Además de la formación hipocampal, los osciladores theta han sido observados en muchas otras estructuras como el complejo subicular, la corteza entorrinal, la corteza perirrinal, corteza cingulada y la amígdala (Buzsáki, 2002).

La gran cuestión acerca del mecanismo de comunicación neuronal es: ¿cómo se modifica la estructura de comunicación en solo cientos de milisegundos cuando la estructura anatómica se mantiene invariable? El modelo general aceptado es que una neurona envía un mensaje en forma de potencial de acción y, a través de su axón, llega a las neuronas a las que está conectada físicamente. Estas neuronas combinan todas las entradas que les llegan de distintas neuronas. Por lo tanto, es un modelo meramente anatómico-estructural. Sin embargo, las funciones cognitivas necesitan una estructura de comunicación flexible, por encima de la estructura anatómica fija. Como ya se ha comentado, en algunos artículos se propone la idea de que la comunicación neuronal entre dos grupos de neuronas depende de la coherencia entre ellas. Esto justifica la aplicación de nuestro foco en la sincronización.

En lugar de fijar la atención en la correlación de los espectros de las señales a comparar, se fijará en la diferencia entre desfases consecutivos entre dos osciladores theta, ya que la sincronización parece ser que sirve para relacionar la actividad neuronal distribuida. Esta sirve como una etiqueta al mensaje, debido a que los potenciales síncronos destacan sobre el fondo de actividad neuronal. Además, las redes corticales pueden distinguir entre eventos síncronos y asíncronos, siendo la sincronización interna útil para definir relaciones entre respuestas distribuidas con alta resolución temporal. Una de las situaciones en las que se da un alto número de disparos neuronales síncronos es durante la estimulación sensorial, algo que se da en una etapa de los experimentos de este trabajo (Singer, 1999).

Para que un mensaje se comunique de manera eficiente entre dos grupos neuronales, la salida del grupo emisor debe llegar al grupo receptor cuando este sea excitable. Para ello, deben cumplirse una serie de requerimientos: primero, las fluctuaciones de excitabilidad en el grupo receptor deben ser predecibles. En segundo lugar, el tiempo de viaje de la información entre los grupos debe asegurar la llegada síncrona del mensaje. Por último, el grupo emisor debe tener en cuenta el tiempo de viaje del mensaje para que este llegue justo cuando el grupo receptor es excitable. Para ello, en esencia, la frecuencia de los osciladores (emisor y receptor) y la fase relativa entre ellos (diferencia de fase) debe coincidir para la comunicación.

Una vez queda clara la necesidad del estudio de la sincronización entre circuitos neuronales que se comunican y más concretamente en el circuito objeto de estudio en este trabajo, se continúa explicando el índice a usar.

Este índice está basado en el desfase encontrado entre dos ondas a comparar. Estas ondas son diezmadas a 625 Hz y filtradas en theta (entre 3 y 5 Hz, considerando que son sujetos anestesiados) como preprocesado, antes del cómputo de este índice. Posteriormente, se extrae

la fase de las ondas aplicando la transformada de Hilbert y se obtiene la posición de los máximos de fase.

Una vez se tienen situados estos puntos c , se toma una señal de las dos como referencia y partiendo de la primera posición obtenida en adelante, se busca la posición más cercana de la segunda fase. Hecho esto, se calcula la diferencia de muestras entre ambos puntos y se continúa con el mismo procedimiento avanzando en posiciones en ambas señales.

Una vez se ha calculado el desfase entre los puntos definidos anteriormente, se calcula la diferencia en valor absoluto de los desfases contiguos, $\Delta\delta_{ij}(c)$. Para obtener un índice que vaya desde 0 a 1, de menos sincronizado a más sincronizado, al valor calculado se le resta el desfase máximo permitido, δ_{max} y se divide por el mismo para finalmente, cambiarlo de signo.

$$\Delta\delta_{ij}(c) = |\delta_{ij}(c) - \delta_{ij}(c - 1)| \quad (6)$$

$$SI_{ij}(c) = -\frac{\Delta\delta_{ij}(c) - \delta_{max}}{\delta_{max}} \quad (7)$$

El desfase máximo permitido δ_{max} se define en 50 muestras, que equivale a aproximadamente la mitad de un ciclo de las ondas a 5 Hz y un cuarto de ciclo de las ondas a 3 Hz, considerando la frecuencia de muestreo de 625 Hz.

2.6 Potencia

La potencia se podría definir como la amplitud promedio de una señal. La potencia promedio consiste en el promedio temporal de energía de una señal y equivale al promedio del cuadrado de la señal. La potencia de la señal es una de las características analizadas en el presente trabajo. Concretamente, se analiza en cada una de las componentes frecuenciales delta (0 – 3 Hz), theta (3 – 5 Hz), gamma (30 – 50 Hz) y gamma alta (50 – 100 Hz) de cada uno de los registros. Para ello se aplica un filtro paso banda en cada uno de los rangos de frecuencia y posteriormente se calcula su potencia usando la ecuación 1.

$$P = \frac{1}{N} \sum_1^N |x[n]|^2 \quad (8)$$

Resulta de especial interés el estudio de la potencia para observar si el índice de sincronización propuesto se relaciona de alguna forma con el valor de la potencia de la señal, es decir, si al aumentar o disminuir la potencia el índice de sincronización se correlaciona con esta variación de forma lineal o no.

2.7 Correlación

Resulta muy interesante poder estudiar la relación que existe entre dos señales. Para ello uno de los parámetros estadísticos más utilizados es la correlación. Este parámetro mide la relación lineal existente entre dos variables. Su rango de valores se extiende desde -1 a 1, donde ambos límites suponen una correlación total, negativa (valores de las señales inversamente proporcionales) y positiva (valores de las señales directamente proporcionales) respectivamente. El valor de correlación 0 supone una incorrelación total entre las variables de estudio (Callaghan, 1996).

Para señales que están perfectamente correladas, es relativamente sencillo intuir el grado de correlación, sin embargo, para señales que no lo están, es muy complejo cuantificarlo. Es por ello que Karl Pearson ideó el coeficiente de correlación que lleva su nombre y permite evaluar la dependencia entre señales de manera sencilla.

El cálculo de este coeficiente para dos señales dadas consiste en el ratio entre la covarianza de las dos señales entre el producto de sus desviaciones típicas.

$$\rho(x,y) = \frac{\sigma_{xy}}{\sigma_x \sigma_y} = \frac{\sum(x - \bar{x}) \cdot (y - \bar{y})}{\sqrt{\sum(x - \bar{x})^2 \cdot (y - \bar{y})^2}} \quad (9)$$

Así pues, para este caso se aplica la función de MATLAB llamada *corrcoef*, la cual devuelve una matriz R con los siguientes datos:

$$R(x,y) = \begin{pmatrix} 1 & \rho(x,y) \\ \rho(y,x) & 1 \end{pmatrix} \quad (10)$$

Los elementos de la diagonal de la matriz obtenida son 1 debido a que la relación lineal entre una señal y ella misma es total. Este parámetro será extraído de las señales de sincronización junto con la potencia en distintas bandas frecuenciales para observar la relación lineal entre estas.

2.8 Técnicas estadísticas

Una vez se obtienen las distintas señales y los parámetros que definen las características relevantes de estas, para obtener conclusiones apoyadas por argumentos robustos se debe recurrir a la estadística. Como bien es sabido, los científicos necesitan de los métodos estadísticos para cuantificar la fiabilidad de sus resultados. Las herramientas estadísticas que se definen a continuación son el Análisis de la Varianza (ANOVA) y las comparaciones múltiples, así como distintas correcciones que se usan durante su aplicación.

2.8.1 ANOVA

El Análisis de la Varianza es una de las herramientas estadísticas más utilizadas en la comunidad científica para la inferencia estadística. Esta herramienta constituye la técnica básica para el estudio de observaciones que dependen de varios factores y es considerada fundamental en el análisis de modelos de regresión lineal y diseño de experimentos (Romero Villafranca, R. & Zúnica Ramajo, L. R., 2005).

El ANOVA estudia el efecto de uno o más factores sobre la media de una variable. La idea general de este método consiste en descomponer la variabilidad total de los datos estudiados en varios términos, cada uno de ellos relacionados con el efecto de cada factor de variabilidad estudiado y a las posibles interacciones entre estos, más una parte residual.

La descomposición de la variabilidad de los datos quedaría así:

$$\text{Variabilidad total} = \text{Variabilidad 1}^{\text{er}} \text{ factor} + \text{Variabilidad 2}^{\text{o}} \text{ factor} + \text{Variabilidad de interaccion de los factores 1 - 2} + \text{Variabilidad residual}$$

La variabilidad total en los datos se calcula como la suma de cuadrados total (SCT), y consiste en la suma de las diferencias al cuadrado de cada dato respecto a la media de todos los datos:

$$SCT = \sum_{i,j,k} (x_{i,j,k} - \bar{x})^2 \quad (11)$$

También obtenible a través de esta otra fórmula:

$$SCT = \sum_{i,j,k} x_{i,j,k}^2 - SG \quad (12)$$

Siendo SG, sustraendo general, definido por:

$$SG = \frac{\sum_{i,j,k} x_{i,j,k}^2}{Z} \quad (13)$$

Siendo Z el número total de datos. Sus grados de libertad equivalen al número total de datos menos uno:

$$gl_{total} = n^{\circ}datos - 1 \quad (14)$$

La variabilidad de cada factor viene dada por la suma de cuadrados de cada factor y mide la variabilidad asociada al efecto de ese factor en concreto sobre la media. Esta suma de cuadrados se obtiene sumando las diferencias al cuadrado de la media en cada valor del factor (l) en concreto con respecto a la media general multiplicadas por el número de valores utilizados para calcular la media de ese factor (m). Se obtendrá una suma de cuadrados de factor (SCF) por cada uno de los factores que se consideran en los datos (Romero Villafranca, R. & Zúnica Ramajo, L. R., 2005):

$$SCF_n = \sum_l^L m(\bar{x}_l - \bar{x})^2 \quad (15)$$

Equivalente a la siguiente fórmula, más sencilla, que equivale al sumatorio de los cuadrados de la suma de los valores encerrados en el mismo grupo, entre el número de valores que puede tomar ese factor, todo ello menos el sustraendo general.

$$SCF_n = \frac{\sum_j^J (\sum_k^K x_k)_j^2}{J} - SG \quad (16)$$

Los grados de libertad de esta suma de cuadrados equivale al número de valores distintos que toma el factor menos 1.

$$gl_{factor\ n} = n^{\circ}valores\ factor\ n - 1 \quad (17)$$

La suma de cuadrados residual define la variabilidad que no es debida a la diferencia entre los distintos factores y caracteriza la variabilidad interna dentro de cada factor o los errores de medida, por ejemplo. Esta suma de cuadrados se obtiene calculado la suma de las diferencias al cuadrado de cada dato con la media del grupo al que pertenece (ANOVA de una vía) y esto sumado para todos los grupos.

$$SCR = \sum_n^N \sum_{i,j,k} (x_{i,j,k} - \bar{x}_n)^2 \quad (18)$$

Siendo n cada uno de los factores del total de factores N y \bar{x}_n la media de cada factor.

En caso de que se esté realizando un ANOVA de dos vías, se debe calcular la suma de cuadrados equivalente a la interacción entre los factores, que equivale a la variabilidad originada por la interacción entre los factores:

$$SC_{factor1-factor2} = \sum_{i,j} \frac{(\sum_k x_{i,j,k})^2}{K} - SG - SCF_1 - SCF_2 \quad (19)$$

Para aclarar esta última fórmula, i y j equivalen a las filas y columnas, es decir los distintos valores de cada factor. Dentro de cada combinación de los dos factores se tendrían K datos. Por último, los grados de libertad de la interacción entre los factores equivale al producto entre los grados de libertad de ambos factores:

$$gl_{factor1-factor2} = gl_{factor1} \cdot gl_{factor2} \quad (20)$$

Cabe mencionar que siempre se cumple la siguiente condición:

$$SCT = SCR + \sum_n^2 SCF_n + SC_{factor1-factor2} \quad (21)$$

Suponiendo que se aplica un ANOVA de dos vías, tal como es aplicado en el presente trabajo. En caso de aplicar un ANOVA con más factores se deben tener en cuenta interacciones de segundo orden.

Una vez las sumas de cuadrados han sido calculadas, se pretende estudiar si existen diferencias entre los distintos grupos de datos. La hipótesis nula planteada es que no existen diferencias entre estos, las medias muestrales son parecidas entre sí y además similares a la media total. A su vez, para que la hipótesis nula se cumpla, la suma de cuadrados del factor, es decir la variabilidad que introduce cada factor debe ser reducida, pequeña.

Antes de nada, se debe asumir que las poblaciones de estudio cumplen la hipótesis de homocedasticidad, es decir que todas tienen la misma varianza, similar a decir que el factor investigado no afecta a la varianza de la variable bajo estudio.

Para contrastar esta hipótesis se debe aplicar el llamado test de Fisher, pero antes de esto se debe obtener un estimador de la varianza de las poblaciones, el cual es la suma de cuadrados dividida por los grados de libertad correspondientes. Así pues, se obtiene un estimador de la varianza correspondiente a todos los datos, a cada factor, a los residuos y a la interacción entre factores. Este estimador es llamado cuadrados medios.

A la hora de contrastar la hipótesis, si esta no es cierta, los cuadrados medios residuales estiman el promedio de las diferentes varianzas poblacionales. Si la hipótesis nula es cierta, el ratio F:

$$F_{ratio} = \frac{CM_{factor}}{CM_{resid}} \quad (22)$$

Se distribuye como una distribución F de Fisher con los grados de libertad del factor y del residuo. Por el contrario, si la hipótesis nula no es cierta, el ratio F tiende a ser mayor que la distribución F de Fisher con esos grados de libertad. Para limitar esa diferencia entre ambos valores se designa el p valor, el cual designa cuando la diferencia es identificada como significativa.

Si este p valor, es decir, si la probabilidad de que la F de Fisher con los grados de libertad del factor y el residuo sea menor que el ratio F calculado es menor al riesgo de primera especie (error al rechazar la hipótesis nula siendo verdadera) se considera que el efecto del factor es significativo y la hipótesis nula es falsa:

$$p \text{ valor} = P(F_{glf,glr} > F_{ratio}) < \alpha = 0.05 \quad (23)$$

Esto equivale a decir que el ratio F excede el valor crítico de la F de Fisher para esos grados de libertad para la probabilidad α . En nuestro caso se debe aplicar el test de Fisher para los cuadrados medios de ambos factores y de la interacción entre ambos.

2.8.2 Comparaciones múltiples

Una vez se ha realizado el ANOVA y se ha comprobado si existen o no diferencias significativas entre los distintos grupos de datos, resulta necesario averiguar qué medias son distintas a las demás. Para ello, se emplean diversas técnicas cuyo objetivo es identificar qué grupos son estadísticamente diferentes y cuál es la diferencia aproximada. Todo el conjunto de estas técnicas se engloba dentro de la denominación de contrastes para comparaciones múltiples. Se ha elegido esta selección debido a que son en su mayoría las que el programa de software utilizado daba la posibilidad de usar.

Las pruebas estadísticas de comparaciones múltiples más comunes se basan en la distribución t de Student. Partimos de que interesa contrastar la siguiente hipótesis:

$$H_0: \mu_i = \mu_j \quad (24)$$

$$H_1: \mu_i \neq \mu_j \quad (25)$$

A continuación, se definirán algunos de los métodos más importantes dentro de este grupo de herramientas:

2.8.2.1 LSD

La técnica más antigua y popular para la realización de estas comparaciones múltiples es el establecimiento de intervalos LSD, del inglés *Least Significant Difference*. Para ello se calcula un LSD para cada media muestral. La comparación se realiza por parejas, resultando que en el caso de que exista solape entre los respectivos intervalos LSD, la hipótesis nula se acepta entre estas medias muestrales. En caso de que los respectivos intervalos LSD no se solapen, se desestima la hipótesis nula, considerando diferentes las medias muestrales.

El cálculo de los intervalos LSD se realiza según la siguiente fórmula:

$$\bar{x}_i \pm LSD \quad (26)$$

$$LSD = \frac{\sqrt{2}}{2} t_{glresid}^{\alpha} \sqrt{\frac{CM_{resid}}{n}} \quad (27)$$

Siendo n el número de datos a partir de los cuales se ha calculado la media muestral, α el riesgo de primera especie, $t_{glresid}^{\alpha}$, la distribución t de Student con los grados de libertad de la varianza residual y CM_{resid} , el estimador de la varianza residual comentado en el apartado anterior.

Esta comparación sería similar a comprobar si la diferencia entre las medias a comparar es mayor a LSD. En caso de que lo sea, la hipótesis nula se rechaza. Desgraciadamente, aunque es un método sencillo presenta algunos problemas. Para un número elevado de medias muestrales

a comparar, la probabilidad de desestimar la hipótesis nula de manera errónea aumenta considerablemente.

$$\begin{aligned} P(\text{rechazar al menos una comparación}) &= 1 - P(\text{aceptar todas}) \\ &= 1 - (1 - 0.05)^n \end{aligned} \quad (28)$$

Para 15 medias muestrales, se tendrían 105 posibles comparaciones, lo cual supone una probabilidad de rechazar al menos una comparación del 0.995419.

2.8.2.2 Bonferroni

Este método se basa en una modificación del anterior, el cual restringe el riesgo de primera especie para el caso de comparar un número elevado de medias muestrales, evitando así los falsos positivos en cuanto a la diferencia entre muestras.

La variación que sufre el riesgo de primera especie es básicamente una división entre el número de comparaciones que se realizan. Se basa en que para garantizar un nivel de significación α para todo el conjunto de M comparaciones, se debe repartir esta significación entre las distintas comparaciones.

$$\alpha' = \frac{\alpha}{M} \quad (29)$$

Los intervalos LSD ahora son designados como BSD, del inglés *Bonferroni Significant Difference*. Y se calculan de igual forma que en el apartado anterior salvo la modificación ya mencionada:

$$\text{BSD} = \frac{\sqrt{2}}{2} t_{glresid}^{\frac{\alpha}{M}} \sqrt{\frac{CM_{resid}}{n}} \quad (30)$$

2.8.2.3 Corrección de Šidák

Esta corrección es similar a la propuesta por Bonferroni, pero menos estricta. Propone una significación similar para todas las comparaciones y la define como:

$$\alpha_{SID} = 1 - (1 - \alpha)^{\frac{1}{M}} \quad (31)$$

Test de rangos múltiples

Estos métodos, al igual que el de Bonferroni persiguen suplir los problemas que surgen al aumentar el número de comparaciones para el método de LSD, intentando controlar los falsos rechazos de la hipótesis nula. Estos contrastes se basan en la distribución del rango estudentizado (García Leal & Lara Porras, 1998).

2.8.2.4 Método de Tukey (HSD, *Honestly-significant-difference*)

Este método define un intervalo de confianza, el cual si contiene el 0 se rechaza la hipótesis nula.

$$[(\bar{x}_i - \bar{x}_j) - \text{HSD}; (\bar{x}_i - \bar{x}_j) + \text{HSD}] \quad (32)$$

Siendo \bar{x} , las medias muestrales, y HSD:

$$\text{HSD} = q_{\alpha, I, glresid} \sqrt{\frac{CM_{resid}}{n}} \quad (33)$$

Siendo $q_{\alpha, M, glresid}$, la distribución del recorrido estudentizado para un error de primera especie α y grados de libertad, I (niveles del factor) y $glresid$, grados de libertad del estimador de la residual.

2.8.2.5 Test de rango múltiple de Duncan

En primer lugar, para aplicar este test se ordenan las medias muestrales en orden creciente y se calculan las diferencias entre estas, comenzando por la diferencia del valor más grande al más pequeño.

Esta diferencia se compara con el valor R_p :

$$|\bar{x}_i - \bar{x}_j| \leq R_p \quad (34)$$

Se aceptará que no hay diferencia significativa entre ellas ni entre las medias comprendidas entre ellas, si se cumple la desigualdad anterior. El valor R_p corresponde a:

$$R_p = q_{\alpha_p, p, N-1} \sqrt{\frac{CM_{resid}}{n}} \quad (35)$$

Siendo $p = 2, 3, \dots, I$; $I =$ número de medias a comparar; $\alpha_p = 1 - (1 - \alpha)^{p-1}$.

Este último valor corresponde al nivel de significación conjunto relativo a p medias consecutivas. Es la probabilidad de rechazar erróneamente al menos una de las $p-1$ comparaciones.

Una vez comprobada la diferencia entre la media más pequeña y la más grande con R_I , en caso de ser significativa la diferencia, seguimos por el valor más pequeño y el segundo más alto, comparándolo con R_{I-1} , así hasta encontrar la primera pareja no significativa. Posteriormente se toma el segundo valor más pequeño y se compara con el más grande y se repite el proceso anterior, hasta considerar todas las parejas posibles. La ventaja de este método es que tiene un valor crítico adaptativo a cada comparación.

Aunque existen multitud de opciones para la comparación múltiple, los métodos mencionados son un buen resumen de las principales técnicas usadas. Como conclusión del apartado, se resume para qué ocasiones conviene usar qué método:

Cuando el número de contrastes es igual o menor al número de niveles del factor, el método de Bonferroni o Šidák es una buena opción. Sin embargo, cuando el número de comparaciones es demasiado elevado, es preferible optar por test de rangos múltiples como Tukey o Duncan, debido a que Bonferroni o Šidák definirían un nivel de significación demasiado pequeño para cada comparación. (García Leal & Lara Porras, 1998)

El método LSD de Fisher es el que concluye con más diferencias significativas, el menos restrictivo, seguidos de los métodos de Duncan y Tukey. Nuestra elección dependerá del tipo de experimento y cuán conservadores se debe ser.

2.9 Animales

El uso de animales en investigación ha resultado ser un tema de debate en los últimos años y ha supuesto un gran avance en la creación de normas y legislación alrededor de este tema. La unión europea lleva ya varias décadas mejorando en esta cuestión, de hecho, la primera directiva europea acerca del uso de animales en experimentación surgió en el año 1986 (directiva 86/609/EEC). Esta fue posteriormente sustituida en 2010 por la directiva 2010/63/EU, la cual intensificó la ley en busca del bienestar de los animales que aún tenían que ser usados, así como establecer el principio de las tres erres: reemplazar, reducir y refinar el uso de animales en estos ámbitos. (Balls, 2010)

Las pruebas *in vivo* consisten en el uso de organismos modelo en sustitución del uso de organismos humanos. Los organismos modelo son especies que por sus características y por pasados estudios realizados sobre estas, resultan óptimas para el estudio de un fenómeno biológico en cuestión. Generalmente, los organismos modelo son utilizados en el ámbito de la investigación para el avance en torno a enfermedades humanas. Dado que en el caso del cerebro aún no se conocen plenamente los funcionamientos más básicos que se esconden tras el funcionamiento fisiológico, resulta aún imposible dedicar todos nuestros esfuerzos a estudios patológicos pese a la presión de la industria y la sociedad cada vez más envejecida, que sufre de primera mano las enfermedades que afectan al cerebro.

Por lo que respecta a este trabajo, se han usado registros producidos durante otros estudios, por lo cual no se han tenido que usar sujetos nuevos, ajustándose al principio de reducción mencionado anteriormente. El uso de animales en el ámbito de la neurociencia resulta indudable, debido a que el funcionamiento del cerebro aún es demasiado escaso y el sujeto ideal de estudio sería el ser humano. Puesto que este tipo de estudios (registros intracraneales), son demasiado invasivos y pueden desembocar en daños relevantes, resulta conveniente usar sujetos animales de experimentación. Aunque por supuesto, ello no justifica que el tratamiento de los mismos pueda ser de cualquier forma. Tal como ha sido comentado anteriormente, existe toda una legislación que cubre la experimentación animal y además multitud de instituciones y consejos velan por el cumplimiento de los valores éticos y las buenas prácticas en este ámbito.

El organismo utilizado en este caso es la rata, animal muy común en la experimentación biológica. Como ventajas de su uso se tendría la facilidad de su manejo, su bajo coste y la alta disponibilidad debido a su alta tasa de reproducción. Aunque por supuesto, la justificación de más peso es que presenta similitudes fisiológicas con el ser humano. El organismo modelo más parecido al ser humano, como es obvio, resultan ser los primates, sin embargo, el uso de estos organismos está siendo cada vez más reducido por el vínculo afectivo que se forma con el investigador y su grado más alto de capacidad social.

Concretamente en el estudio de la formación hipocámpal, la rata ha sido un organismo modelo muy usado debido a que no existen diferencias sustanciales entre el hipocampo de la rata, la del mono y la del humano. La especie de rata que se ha usado es la *Sprague Dawley*, siendo el modelo estándar del estudio del aprendizaje y memoria. Finalmente, se debe agradecer a todos los organismos modelo usados, el avance que han supuesto tanto en la mejora de la calidad de vida en humanos como en los propios animales.

3 RESULTADOS

Los resultados obtenidos se estructuran en varias partes. En primer lugar, se realizó el estudio de la sincronización entre las distintas señales y la potencia de estas. Seguidamente se estudió la correlación entre estos resultados y finalmente se obtiene la información estadísticamente significativa sobre la sincronización y la potencia de las señales.

En total se ha trabajado con 5 registros, cada uno procedente de sujetos distintos. Todos ellos han sido analizados en los puntos anteriormente comentados. En general los registros contienen 4 señales pertenecientes a hipocampo, salvo un sujeto que tiene únicamente 3 señales de hipocampo, todas ellas obtenidas tras aplicar ICA. Por otra parte, todos los registros contienen 2 señales procedentes de la corteza entorrinal, concretamente la capa 2 y 3; y otras 2 de la corteza prefrontal, también de la capa 2 y 3.

Los registros fueron separados en tres partes, las cuales estaban sujetas a distintas condiciones de experimentación. La primera de ellas corresponde a un periodo en el que el sujeto está anestesiado sin sufrir ninguna alteración. En la segunda etapa, se aplica una punción a la cola del roedor para estimularle mientras se encuentra anestesiado. Y la tercera etapa es equivalente, en cuanto a variables externas se refiere, a la primera, pero tras la estimulación. Además, todas las señales fueron normalizadas restándoles su media y dividiendo por su desviación estándar.

En general el código de colores seguido para la representación de los resultados en las tablas consiste en que los colores rojos implican los valores más altos y los colores azules los más bajos, aunque en cada caso se indica el valor al que corresponde el máximo y el mínimo. En el caso de los mapas de color, los colores extremos son similares pero los colores intermedios cambian.

A continuación, se desglosan los resultados entre los distintos sujetos estudiados, en el apartado 3.2 se presentan resultados promedio, para hacer hincapié en la tendencia general y poder obtener una idea general a cerca del apartado 3.1. Finalmente, en el apartado 3.3 se presentan los resultados del análisis estadístico.

3.1 Sujetos individuales

3.1.1 Sincronización

En primer lugar, se obtuvieron los índices de sincronización entre todas las señales de cada sujeto. Estas medidas corresponden a un conjunto de índices de sincronización por cada par de señales de cada sujeto. Para reducir los datos se aplicó una media dentro de cada par de señales, obteniendo así un índice de sincronización medio para cada par de señales dentro de cada sujeto y para cada estadio del experimento. Cabe mencionar que los índices de sincronización están duplicados para cada par de señales, debido a que en cada caso se toma como referencia una de las dos señales.

Los resultados se presentan con los canales especificados en columnas y filas. Las intersecciones de cada columna y cada fila corresponden al par de ambos canales, tomando como señal de referencia la de la fila en cuestión. Las siglas HC equivalen a hipocampo, EC a corteza entorrinal, del inglés *entorhinal cortex* y PFC a corteza prefrontal, del inglés *prefrontal cortex*.

A la derecha de las primeras tablas se indica el intervalo para designar el color de los distintos valores. El máximo corresponde al máximo valor de las tres tablas y el mínimo corresponde al mínimo valor entre las tres tablas del mismo sujeto.

3.1.1.1 Sujeto 1

	HC1	HC2	HC3	HC4	EC1	EC2	PFC1	PFC2
HC1		0,0958	-0,1564	-0,0344	-0,0110	-0,0126	-0,0117	-0,0469
HC2	0,0791		-0,0019	-0,1182	-0,0400	-0,0218	-0,0258	-0,0479
HC3	-0,1751	-0,0141		-0,0129	0,0742	0,0480	0,0623	0,0706
HC4	-0,0813	-0,1272	0,0052		0,0450	0,0203	0,0314	-0,0019
EC1	-0,0581	-0,0680	0,0863	0,0493		0,0282	0,0265	0,0976
EC2	-0,0510	-0,0822	0,0635	0,0028	0,1087		0,0277	0,0875
PFC1	-0,0597	-0,0754	0,0765	0,0268	0,0902	0,0058		0,0854
PFC2	0,0014	-0,0779	0,0990	0,0130	0,1103	0,0456	0,0555	




Tabla 1. Variación de las medias de sincronización entre el periodo anterior al estímulo y durante el estímulo

	HC1	HC2	HC3	HC4	EC1	EC2	PFC1	PFC2
HC1		-0,0983	0,1706	0,1097	0,0254	0,0094	0,0160	0,0216
HC2	-0,0869		-0,0229	0,0594	-0,0170	-0,0520	-0,0243	-0,0144
HC3	0,1751	-0,0449		0,0582	-0,0224	-0,0187	-0,0275	-0,0346
HC4	0,1128	0,0594	0,0617		-0,0124	-0,0382	-0,0304	-0,0380
EC1	0,0376	-0,0145	-0,0697	-0,0250		-0,0033	0,0191	-0,0142
EC2	0,0207	0,0056	-0,0499	-0,0175	-0,0101		0,0050	-0,0264
PFC1	0,0436	0,0023	-0,0594	-0,0203	-0,0210	-0,0268		-0,0608
PFC2	0,0186	-0,0279	-0,0376	-0,0132	0,0198	0,0018	-0,0018	

Tabla 2. Variación de las medias de sincronización entre el periodo durante el que se produce el estímulo y tras el estímulo

	HC1	HC2	HC3	HC4	EC1	EC2	PFC1	PFC2
HC1		-0,0025	0,0142	0,0754	0,0145	-0,0032	0,0043	-0,0253
HC2	-0,0078		-0,0248	-0,0588	-0,0570	-0,0738	-0,0501	-0,0623
HC3	0,0000	-0,0590		0,0453	0,0517	0,0293	0,0348	0,0360
HC4	0,0315	-0,0679	0,0669		0,0327	-0,0179	0,0010	-0,0399
EC1	-0,0205	-0,0824	0,0166	0,0243		0,0249	0,0455	0,0834
EC2	-0,0303	-0,0767	0,0136	-0,0147	0,0986		0,0327	0,0611
PFC1	-0,0161	-0,0731	0,0170	0,0066	0,0692	-0,0210		0,0246
PFC2	0,0200	-0,1058	0,0614	-0,0003	0,1301	0,0474	0,0537	

Tabla 3. Variación de las medias de sincronización entre el periodo anterior al estímulo y tras el estímulo

Tras obtener las variaciones de las medias de los índices de sincronización se puede comprobar que durante el periodo de estimulación el índice de sincronización aumenta en los pares formados por canales de entorrinal (EC) y prefrontal (PFC), y también en los pares de señales de EC y PFC con los canales HC3 y HC4 de hipocampo. También aumenta para el par HC1-HC2. En el resto de pares la sincronización disminuye durante la estimulación (resto de pares formados por HC1 y HC2 resaltados en azul).

Tras el cese de estimulación los pares se agrupan de igual forma que antes, pero con una dinámica contraria en general. Por último, comparando la sincronización antes de la estimulación y después de la misma para ver una evolución global se observa que en general la sincronización es mayor tras la estimulación con respecto a antes, salvo para la mayoría de los

pares formados por HC1 y HC2, donde se ven valores negativos. También hay presentes otros valores negativos en otros pares, pero son de menor magnitud, más despreciables.

3.1.1.2 Sujeto 2

	HC1	HC2	HC3	HC4	EC1	EC2	PFC1	PFC2
HC1		0,2629	0,0866	0,1260	0,2002	0,1821	0,0893	0,2548
HC2	0,3181		0,0999	0,0956	0,1028	0,0953	0,0790	0,1429
HC3	0,0714	0,0782		0,0283	0,0097	0,0209	-0,0322	0,0300
HC4	0,1279	0,0797	-0,0294		0,1478	0,1299	0,1059	0,2252
EC1	0,1653	0,0410	0,0360	0,0441		0,2148	0,0270	0,0490
EC2	0,1507	0,1261	0,0202	0,0618	0,2577		0,2004	0,2705
PFC1	0,0570	0,0536	-0,0782	0,0808	0,0891	0,1095		0,0787
PFC2	0,1838	0,0548	0,0197	0,0902	0,0490	0,1840	0,0760	

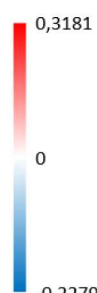


Tabla 4. Variación de las medias de sincronización entre el periodo anterior al estímulo y durante el estímulo

	HC1	HC2	HC3	HC4	EC1	EC2	PFC1	PFC2
HC1		-0,1915	-0,1147	-0,0765	0,0044	-0,1055	-0,0334	-0,0331
HC2	-0,2279		-0,1357	-0,0752	0,0160	-0,1568	-0,0572	-0,0437
HC3	-0,0985	-0,1395		-0,0082	-0,0150	-0,0765	-0,0316	0,0069
HC4	-0,0949	-0,0143	-0,0107		0,0029	-0,0188	-0,0417	-0,0304
EC1	0,0027	0,0555	-0,0298	0,0492		-0,0855	0,0363	0,0266
EC2	-0,1068	-0,1608	-0,1143	-0,0162	-0,0690		-0,1127	-0,0312
PFC1	-0,0084	-0,0450	-0,0137	0,0150	0,0013	-0,0912		0,0057
PFC2	-0,0345	0,0145	0,0110	0,0348	0,0266	-0,0478	0,0211	

Tabla 5. Variación de las medias de sincronización entre el periodo durante el que se produce el estímulo y tras el estímulo

	HC1	HC2	HC3	HC4	EC1	EC2	PFC1	PFC2
HC1		0,0714	-0,0281	0,0495	0,2045	0,0766	0,0559	0,2217
HC2	0,0902		-0,0358	0,0204	0,1188	-0,0615	0,0218	0,0992
HC3	-0,0272	-0,0612		0,0201	-0,0053	-0,0556	-0,0638	0,0369
HC4	0,0330	0,0654	-0,0401		0,1507	0,1111	0,0642	0,1947
EC1	0,1680	0,0964	0,0062	0,0933		0,1293	0,0634	0,0756
EC2	0,0439	-0,0348	-0,0941	0,0457	0,1887		0,0877	0,2393
PFC1	0,0486	0,0086	-0,0919	0,0958	0,0904	0,0182		0,0844
PFC2	0,1493	0,0693	0,0307	0,1250	0,0756	0,1362	0,0970	

Tabla 6. Variación de las medias de sincronización entre el periodo anterior al estímulo y tras el estímulo

En el caso del segundo sujeto se observa que durante el periodo de estimulación el índice de sincronización aumenta de manera generalizada salvo pares concretos, como el HC3-PFC1. Al terminar el periodo de estimulación, se distingue también de manera generalizada una disminución del índice de correlación, salvo pares concretos como los formados por EC1 y PFC2. Cabe decir que el aumento durante la estimulación es más generalizado que la disminución tras el cese de la misma. La evolución entre el periodo anterior al estímulo y el periodo posterior es en su mayoría positiva, salvo para algunos pares donde se involucran los canales de HC2 y HC3.

3.1.1.3 Sujeto 3

	HC1	HC2	HC3	HC4	EC1	EC2	PFC1	PFC2
HC1		0,3255	0,2605	0,1001	0,1324	0,1001	0,0163	0,1191
HC2	0,3020		0,2388	0,1987	0,1906	0,1150	-0,0154	0,0638
HC3	0,2549	0,2495		0,1333	0,1214	0,1213	-0,0386	0,0090
HC4	0,0686	0,1223	0,0896		0,1231	0,0773	0,0022	0,0685
EC1	0,1311	0,1512	0,0695	0,1713		0,0620	0,0539	-0,0406
EC2	0,0630	0,1066	0,0889	0,1012	0,0216		-0,0377	-0,1097
PFC1	-0,0076	-0,0033	-0,0116	0,0167	0,0072	0,0106		-0,0614
PFC2	0,1044	0,0683	0,0493	0,1084	-0,0789	-0,0560	-0,1006	

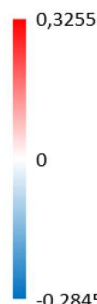


Tabla 7. Variación de las medias de sincronización entre el periodo anterior al estímulo y durante el estímulo

	HC1	HC2	HC3	HC4	EC1	EC2	PFC1	PFC2
HC1		-0,2587	-0,2845	-0,1068	-0,0595	-0,0324	-0,0815	-0,0700
HC2	-0,2557		-0,2675	-0,1500	-0,1379	-0,1053	-0,0917	-0,1192
HC3	-0,2712	-0,2358		-0,1111	-0,0848	-0,0939	-0,1576	-0,1561
HC4	-0,0901	-0,1645	-0,1246		-0,0470	-0,1458	-0,0859	-0,1398
EC1	-0,0710	-0,1086	-0,1074	-0,0924		0,0245	-0,1336	-0,0306
EC2	-0,0566	-0,0805	-0,1031	-0,1012	0,0543		-0,0438	0,0122
PFC1	-0,0569	-0,0292	-0,1215	-0,0759	-0,0634	-0,0472		-0,0289
PFC2	-0,0605	-0,0924	-0,1422	-0,1271	0,0119	0,0112	-0,0376	

Tabla 8. Variación de las medias de sincronización entre el periodo durante el que se produce el estímulo y tras el estímulo

	HC1	HC2	HC3	HC4	EC1	EC2	PFC1	PFC2
HC1		0,0668	-0,0240	-0,0067	0,0728	0,0677	-0,0652	0,0492
HC2	0,0462		-0,0287	0,0487	0,0527	0,0097	-0,1071	-0,0554
HC3	-0,0163	0,0136		0,0222	0,0366	0,0274	-0,1962	-0,1471
HC4	-0,0215	-0,0422	-0,0350		0,0761	-0,0684	-0,0837	-0,0714
EC1	0,0601	0,0426	-0,0379	0,0789		0,0865	-0,0797	-0,0711
EC2	0,0064	0,0261	-0,0142	0,0000	0,0759		-0,0816	-0,0975
PFC1	-0,0645	-0,0325	-0,1331	-0,0592	-0,0561	-0,0366		-0,0903
PFC2	0,0439	-0,0241	-0,0929	-0,0188	-0,0669	-0,0448	-0,1382	

Tabla 9. Variación de las medias de sincronización entre el periodo anterior al estímulo y tras el estímulo

Como se puede comprobar, en los pares constituidos por los canales del hipocampo y la corteza entorrinal en general durante el estímulo la media de sincronización aumenta. Sin embargo, en los pares constituidos por las cortezas prefrontales PF1 y PFC2, la media de sincronización durante el estímulo disminuye.

De igual modo, en la tabla 8 es posible observar que en general la media de sincronización disminuye en todos los pares exceptuando algunos, como el par EC1-EC2, EC2-PFC2 donde aumenta, aunque en una magnitud muy reducida. Cabe destacar que el cambio en magnitud es mayor en los pares constituidos solo por componentes del hipocampo durante todo el experimento.

3.1.1.4 Sujeto 4

	HC1	HC2	HC3	EC1	EC2	PFC1	PFC2
HC1		0,2157	0,3056	0,0297	0,0295	0,0510	0,0599
HC2	0,2126		0,2810	0,1164	0,1348	0,1380	0,1700
HC3	0,2955	0,2905		0,0677	0,0105	0,1029	0,0291
EC1	0,0283	0,0456	0,1115		-0,1729	-0,0112	-0,1469
EC2	0,0969	0,0547	0,0936	-0,1000		-0,0869	-0,0211
PFC1	0,0377	0,0701	0,1231	0,0143	-0,0882		-0,1268
PFC2	0,1236	0,1306	0,1264	-0,0933	-0,0211	-0,0794	




Tabla 10. Variación de las medias de sincronización entre el periodo anterior al estímulo y durante el estímulo

	HC1	HC2	HC3	EC1	EC2	PFC1	PFC2
HC1		-0,0519	-0,0248	0,0809	0,0749	0,0092	0,0417
HC2	-0,0391		0,0060	0,0631	0,0608	0,0258	0,0622
HC3	0,0134	0,0038		0,1003	0,1768	0,0386	0,1370
EC1	0,0757	0,0661	0,0688		0,0760	0,0346	0,0821
EC2	0,0130	0,0925	0,0982	0,0768		0,0735	0,0005
PFC1	0,0169	0,0347	-0,0243	0,0204	0,0532		0,0970
PFC2	0,0365	0,0656	0,0573	0,0972	0,0162	0,0889	

Tabla 11. Variación de las medias de sincronización entre el periodo durante el que se produce el estímulo y tras el estímulo

	HC1	HC2	HC3	EC1	EC2	PFC1	PFC2
HC1		0,1638	0,2807	0,1106	0,1044	0,0602	0,1017
HC2	0,1735		0,2870	0,1795	0,1956	0,1638	0,2322
HC3	0,3089	0,2943		0,1680	0,1873	0,1415	0,1661
EC1	0,1040	0,1117	0,1803		-0,0969	0,0234	-0,0648
EC2	0,1100	0,1472	0,1919	-0,0232		-0,0134	-0,0206
PFC1	0,0546	0,1048	0,0988	0,0347	-0,0350		-0,0298
PFC2	0,1601	0,1961	0,1837	0,0039	-0,0049	0,0094	

Tabla 12. Variación de las medias de sincronización entre el periodo anterior al estímulo y tras el estímulo

En cuanto a los resultados de sincronización para el sujeto 4, se pueden identificar dos conjuntos de valores. Uno formado por pares en los que incluimos los canales del hipocampo y el resto. En los pares constituidos por canales de hipocampo se observa un aumento de la sincronización durante el estímulo y una posterior disminución tras el estímulo, aunque al final se tiene un aumento respecto al periodo inicial. En los pares formados por los canales de la corteza entorrinal y la prefrontal combinados entre sí se observa el comportamiento contrario. Los valores de sincronización en estos casos disminuyen durante el estímulo y aumenta tras el mismo. En estos pares el balance desde el inicio al final es negativo, disminuye.

En los pares donde se combinan canales de hipocampo con canales de entorrinal y prefrontal se tiene otro comportamiento. En este caso, aumenta el índice de sincronización durante el estímulo y también tras el mismo. Teniendo por tanto un aumento global de sincronización en estos pares entre el inicio y el final.

3.1.1.5 Sujeto 5

	HC1	HC2	HC3	HC4	EC1	EC2	PFC1	PFC2
HC1		-0,0921	0,1683	0,2232	-0,0760	-0,0757	-0,0378	-0,0757
HC2	-0,0297		-0,0121	0,0656	-0,0818	-0,0416	-0,0938	-0,0416
HC3	0,2225	-0,0495		0,1569	-0,0062	-0,0385	0,0263	-0,0385
HC4	0,2158	0,0272	0,0992		-0,0728	-0,0576	-0,0524	-0,0576
EC1	0,0595	-0,0917	0,0232	-0,0124		-0,0859	-0,1628	-0,0859
EC2	0,0590	-0,0261	-0,0080	-0,0030	-0,1080		-0,1816	-0,0096
PFC1	0,0934	-0,0930	0,0278	0,0027	-0,1210	-0,1306		-0,1306
PFC2	0,0590	-0,0261	-0,0080	-0,0030	-0,1080	-0,0096	-0,1816	




Tabla 13. Variación de las medias de sincronización entre el periodo anterior al estímulo y durante el estímulo

	HC1	HC2	HC3	HC4	EC1	EC2	PFC1	PFC2
HC1		0,1101	0,1070	-0,0442	0,0662	0,0797	0,1045	0,0797
HC2	0,0439		0,0301	-0,0078	0,0907	0,0659	0,1269	0,0659
HC3	0,0450	0,0809		0,0058	0,0224	0,0359	0,0599	0,0359
HC4	-0,0159	0,0465	0,0177		0,0757	0,0575	0,1218	0,0575
EC1	-0,0461	0,1316	0,0099	0,0433		0,0446	0,0297	0,0446
EC2	-0,0170	0,1000	0,0472	0,0383	0,0603		0,0599	0,0068
PFC1	0,0014	0,1525	0,0439	0,0629	0,0375	0,0732		0,0732
PFC2	-0,0170	0,1000	0,0472	0,0383	0,0603	0,0068	0,0599	

Tabla 14. Variación de las medias de sincronización entre el periodo durante el que se produce el estímulo y tras el estímulo

	HC1	HC2	HC3	HC4	EC1	EC2	PFC1	PFC2
HC1		0,0180	0,2753	0,1789	-0,0098	0,0040	0,0667	0,0040
HC2	0,0143		0,0180	0,0577	0,0089	0,0242	0,0331	0,0242
HC3	0,2675	0,0314		0,1627	0,0162	-0,0026	0,0862	-0,0026
HC4	0,1999	0,0738	0,1170		0,0029	-0,0001	0,0693	-0,0001
EC1	0,0133	0,0398	0,0331	0,0309		-0,0413	-0,1331	-0,0413
EC2	0,0420	0,0739	0,0393	0,0354	-0,0477		-0,1217	-0,0027
PFC1	0,0949	0,0596	0,0717	0,0656	-0,0835	-0,0574		-0,0574
PFC2	0,0420	0,0739	0,0393	0,0354	-0,0477	-0,0027	-0,1217	

Tabla 15. Variación de las medias de sincronización entre el periodo anterior al estímulo y tras el estímulo

Como se puede comprobar, en este caso se tienen tres comportamientos distintos. Uno en los pares constituidos por canales del hipocampo entre sí, otro en los pares constituidos por canales de EC y PFC entre sí y otro en el cual se estudia sincronización entre canales del hipocampo con los de EC y PFC. Si se centra la atención en los colores, se distribuyen de la siguiente forma, un color en la esquina superior izquierda, otro en la esquina inferior derecha y otro en las esquinas superior derecha e inferior izquierda.

Durante el estímulo se comprueba que en los pares de canales del hipocampo aumenta la sincronización, aunque con menor magnitud en los que interviene el canal HC2, algunos valores de este son incluso negativos. En el resto de pares, la sincronización disminuye, acentuándose en los pares constituidos únicamente por canales de EC y PFC, que en algunas ocasiones es de la misma magnitud que el aumento en los pares de hipocampo, pero con valor negativo.

Tras el estímulo se observa un aumento generalizado de la sincronización con respecto al periodo de estimulación, algo que lleva a cierta confusión, ya que se esperaba que el periodo de

más sincronización se produjera durante el estímulo en general. En algunos pares formados con el canal HC1 este aumento es reducido incluso negativo en algunos casos.

Por último, analizando el paso desde el inicio del experimento al final del mismo se obtiene una dinámica similar a la vista en la tabla 13. Se observa un aumento de la sincronización en los pares formados únicamente por señales de hipocampo y una disminución de la sincronización en los pares formados únicamente por señales de EC y PFC. En el resto de pares la sincronización se mantiene bastante con respecto al inicio (variaciones en magnitud reducida tanto positivas como negativas).

3.1.2 Potencia

A continuación, se indican los valores de potencia obtenidos para cada banda de frecuencia (theta, delta, gamma y gamma alta), para cada uno de los sujetos. Como se puede comprobar, el formato de resultados cambia, manteniendo las gamas de colores, pero en este caso al no ser una medida relativa a ninguna otra señal, se tiene un único valor de potencia media por cada canal y cada estadio del experimento.

Al igual que para el apartado anterior, se ha decidido obtener la evolución del parámetro entre los distintos estadios del experimento para poder relacionar así más fácilmente los resultados con la estructura del experimento y con la evolución de la sincronización. Esto permite también una comparación más sencilla entre sujetos, puesto que no es tan relevante comparar los valores absolutos de potencia como comparar las variaciones de esta. Los canales o detalles a destacar se marcan figuras añadidas a las imágenes.

3.1.2.1 Sujeto 1

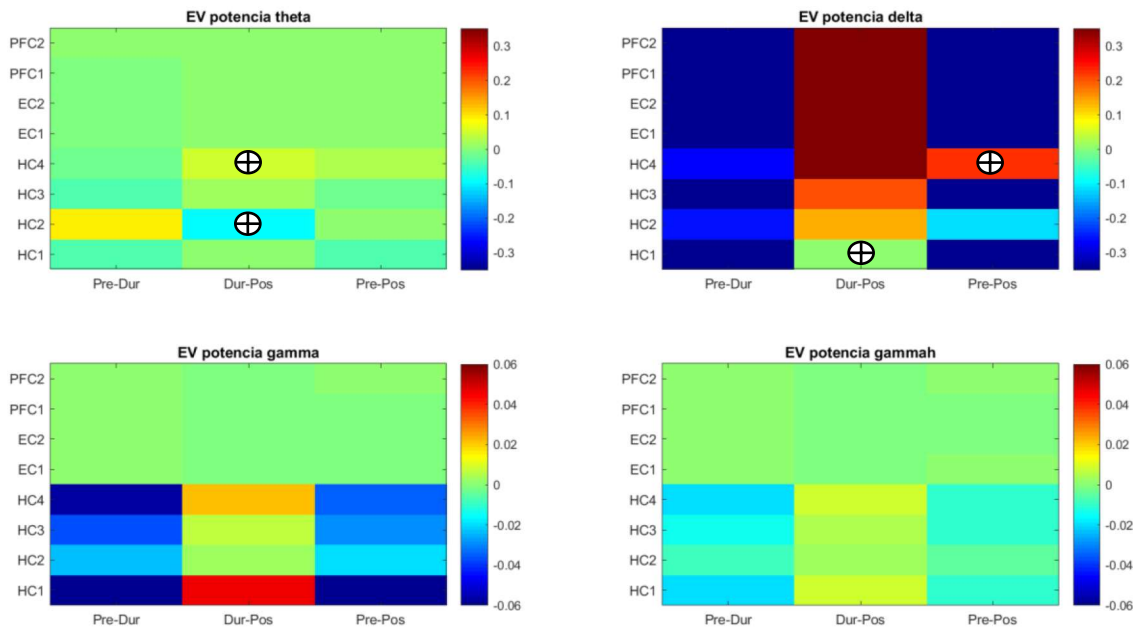


Figura 11. Variación de potencia en las distintas bandas de frecuencia calculada a partir de la potencia antes del estímulo y durante el mismo, a partir de la potencia durante el estímulo y tras el mismo y a partir de la potencia antes del estímulo y tras el mismo para el sujeto 1

Como se puede observar en la figura 11, la banda frecuencial en la que se tiene una mayor variación de potencia es la delta. Por otro lado, la banda frecuencial en la que se tiene menor

variación de potencia es en la gamma alta. En la banda theta se comprueba que la potencia aumenta en el canal HC2 durante la estimulación y disminuye en el resto del hipocampo, quedando prácticamente similar en el resto de canales. Tras el cese del estímulo la potencia baja en el canal HC2 y en el resto se mantiene similar menos en el canal HC4, donde aumenta. Entre el periodo anterior al estímulo y el periodo posterior la variación producida en HC2 se equilibra entre aumento y disminución, por otro lado, el resto de canales del hipocampo sufren una disminución de potencia en theta. El resto de canales se mantienen invariables.

En cuanto a la potencia en delta, durante la estimulación disminuye en todos los canales. Tras la estimulación, aumenta en todos los canales salvo en el canal HC1 donde se mantiene el valor de potencia adquirido durante la estimulación. Comparando el periodo anterior al estímulo con el periodo tras el mismo, en la mayoría de los canales la disminución durante el estímulo es mayor que el aumento tras el mismo, por ello se observa una variación negativa salvo en el canal HC4.

En la potencia gamma se observan variaciones muy tenues (nótese el cambio de escala en la barra de color), concretamente las únicas dinámicas destacables son las de hipocampo. En esta zona la potencia disminuye durante el estímulo, tras el cese del estímulo la dinámica es justamente, al contrario, y en balance entre antes del estímulo y después, la potencia disminuye.

Finalmente, en la potencia en gamma la dinámica es similar a la vista para la potencia en gamma salvo que la magnitud de las variaciones es menor.

Resulta curioso comprobar que la dinámica del canal HC2 es contraria en la potencia delta con respecto a la potencia en theta.

3.1.2.2 Sujeto 2

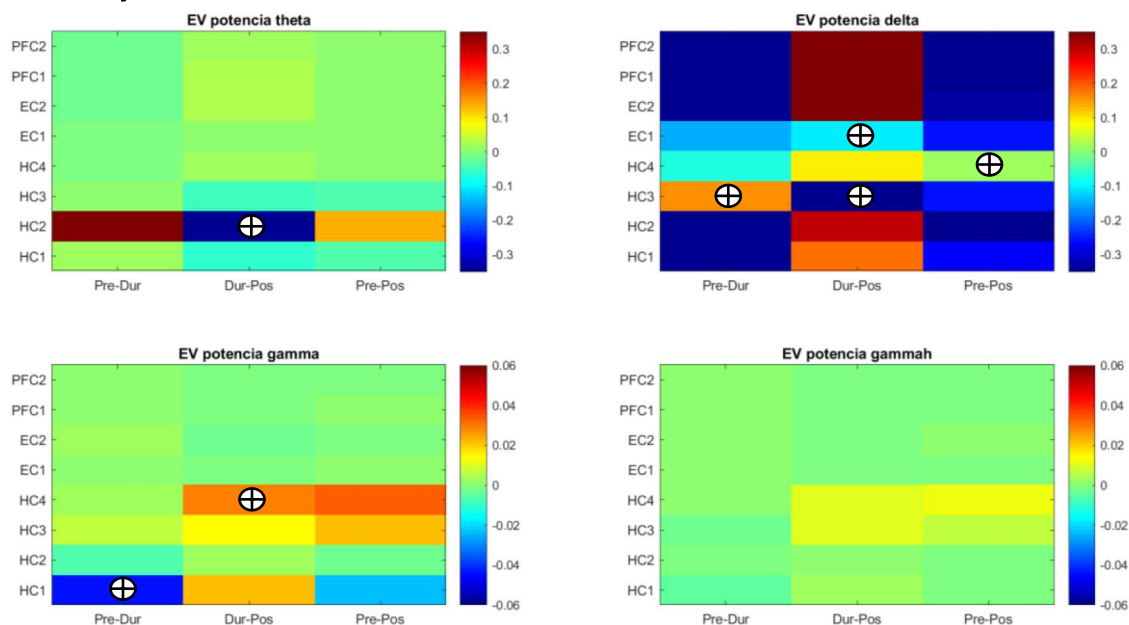


Figura 12. Variación de potencia en las distintas bandas de frecuencia calculada a partir de la potencia antes del estímulo y durante el mismo, a partir de la potencia durante el estímulo y tras el mismo y a partir de la potencia antes del estímulo y tras el mismo para el sujeto 2

Para el sujeto 2, en la potencia en theta se concluye que el cambio más significativo se da en el canal HC2, el sufre un aumento de potencia durante la estimulación, un posterior decremento

y en balance entre estas dos variaciones acaba con una potencia mayor que al inicio. El resto de canales sufren variaciones despreciables.

En el caso de la potencia en delta, de igual manera que para el sujeto 1 todos los canales sufren variaciones significativamente superiores al resto de bandas frecuenciales. Durante la estimulación, todos los canales sufren disminución de potencia salvo HC3, con un aumento. Tras el cese de la estimulación, todos los canales sufren un aumento de la potencia salvo el HC3 y EC1. En balance entre inicio y el final del experimento, todos los canales acaban con menor potencia que con respecto el inicio salvo el canal HC4.

Para la potencia en gamma la variación a destacar es la del canal HC1, cuya potencia disminuye durante la estimulación y aumenta tras la misma, resultando en una variación negativa al comparar el inicio con el final del experimento. También el canal HC4 junto al HC3 sufren un aumento de potencia tras el cese del estímulo, resultando un balance final positivo.

En cuanto a la potencia en gamma alta, las variaciones son mucho más reducidas, similares a los canales no mencionados en la potencia gamma. Las únicas variaciones a destacar son las de los canales HC3 y HC4, con un leve aumento de la potencia gamma alta durante al estimulación y un balance final positivo.

De igual manera que para el sujeto 1, la dinámica en potencia en theta del canal HC2 es contraria a la dinámica en potencia en delta del mismo canal.

3.1.2.3 Sujeto 3

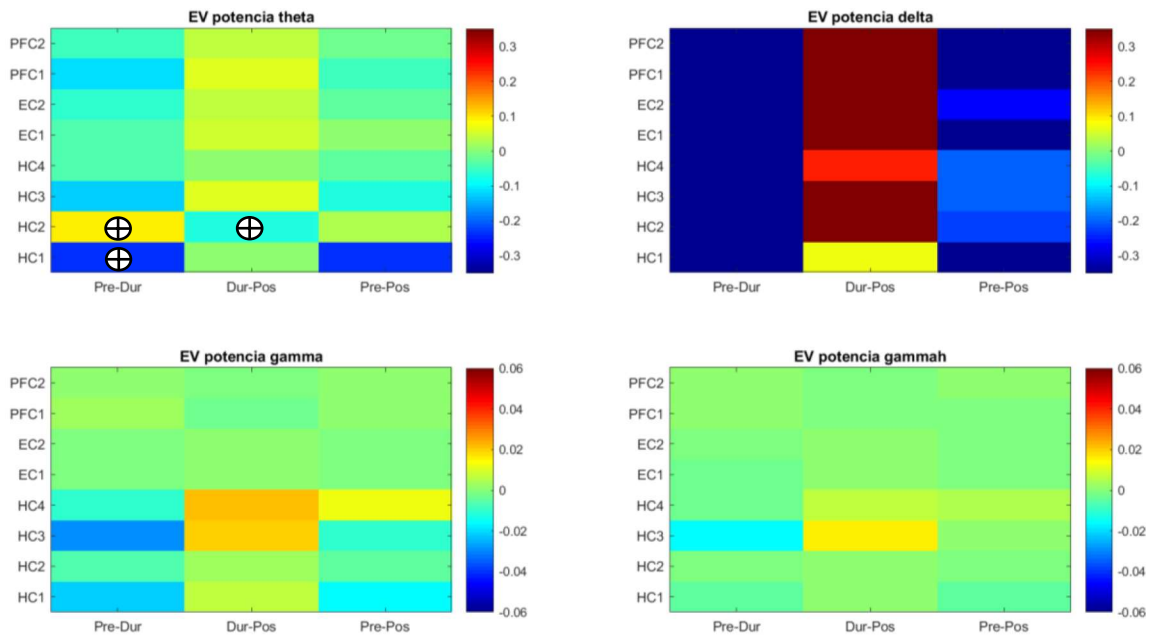


Figura 13. Variación de potencia en las distintas bandas de frecuencia calculada a partir de la potencia antes del estímulo y durante el mismo, a partir de la potencia durante el estímulo y tras el mismo y a partir de la potencia antes del estímulo y tras el mismo para el sujeto 3

Para el sujeto 3, en la potencia theta se puede comprobar que durante la estimulación del sujeto la potencia disminuye en todos los canales, tras el cese del estímulo aumenta en todos los canales (disminución más notable en canales EC, PFC y HC3), para finalmente tener un balance negativo (más negativo en HC1, HC3 y PFC1). La dinámica vuelve a ser contraria a lo descrito para el canal HC2.

Para la potencia en delta de nuevo concentra las dinámicas más acusadas. Durante la estimulación la potencia en todos los canales disminuye para aumentar de forma generalizada tras el cese de la estimulación. Finalmente, comparando el inicio del experimento con el final, la potencia en delta disminuye en todos los canales.

De igual forma que anteriormente, las variaciones para la potencia en gamma y gamma alta son considerablemente menores a las variaciones de potencia de las otras bandas frecuenciales. En la potencia en gamma se puede observar que los canales que sufren una mayor variación de esta potencia son los pertenecientes al hipocampo, a destacar los canales HC3 y HC4, y despreciables las variaciones de HC2. Concretamente, los canales mencionados sufren una disminución de la potencia gamma durante la estimulación y un aumento tras el cese del estímulo somatosensorial culminando en una potencia mayor respecto al inicio salvo para HC4.

Para la potencia en gamma alta las dinámicas vuelven a ser menores que para la potencia en gamma y solo es destacable el canal HC3, con un descenso de la potencia en gamma alta durante la estimulación y un posterior aumento tras el cese de la misma.

Se mantiene la dinámica contraria del canal HC2 en theta con HC2 en delta.

3.1.2.4 Sujeto 4

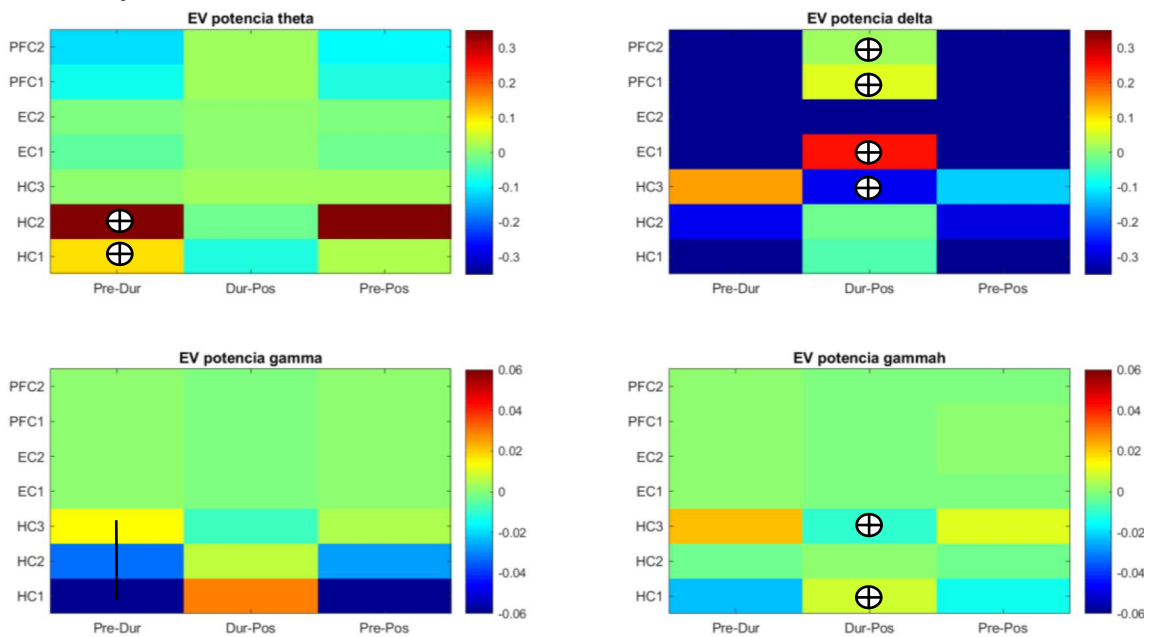


Figura 14. Variación de potencia en las distintas bandas de frecuencia calculada a partir de la potencia antes del estímulo y durante el mismo, a partir de la potencia durante el estímulo y tras el mismo y a partir de la potencia antes del estímulo y tras el mismo para el sujeto 4

Para el sujeto 4, en la banda theta se tiene un aumento de la potencia durante el estímulo en los canales HC1 y HC2, posteriormente una disminución en estos mismos canales y en balance un aumento. En el resto de canales la dinámica es, al contrario.

De nuevo, la potencia en delta concentra mucha más variabilidad que el resto de bandas frecuenciales. Se tiene la dinámica “menos-más-menos” para los canales de PFC y EC1, la dinámica “más-menos-menos” para el canal HC3 y el resto de canales “menos-menos-menos”.

Para la potencia en gamma destacan los canales HC1, HC2 y HC3, el resto de canales muestran dinámicas de magnitud despreciable. Para los canales HC1 y HC2 se observa un descenso de la

potencia en gamma durante la estimulación, un aumento de esta tras el cese del estímulo y un balance negativo entre el comienzo y el final del experimento.

Finalmente, para la potencia en gamma alta se observan dos dinámicas destacables, las del canal HC1 y las del canal HC3, contrarias entre sí. Para el canal HC1 la potencia en gamma alta disminuye durante la estimulación y aumenta tras la misma, teniendo una diferencia de potencia entre el inicio y el final del experimento negativa. Para el canal HC3 ocurre justamente lo contrario en los tres estadios del experimento.

Cabe destacar que es muy notorio el contraste de la dinámica de los canales HC1 y HC2 en las distintas bandas frecuenciales. En la banda theta la dinámica de potencia para estos dos canales (aumento durante la estimulación y disminución tras el estímulo) es contraria a la dinámica de estos dos canales en el resto de frecuencias.

3.1.2.5 Sujeto 5

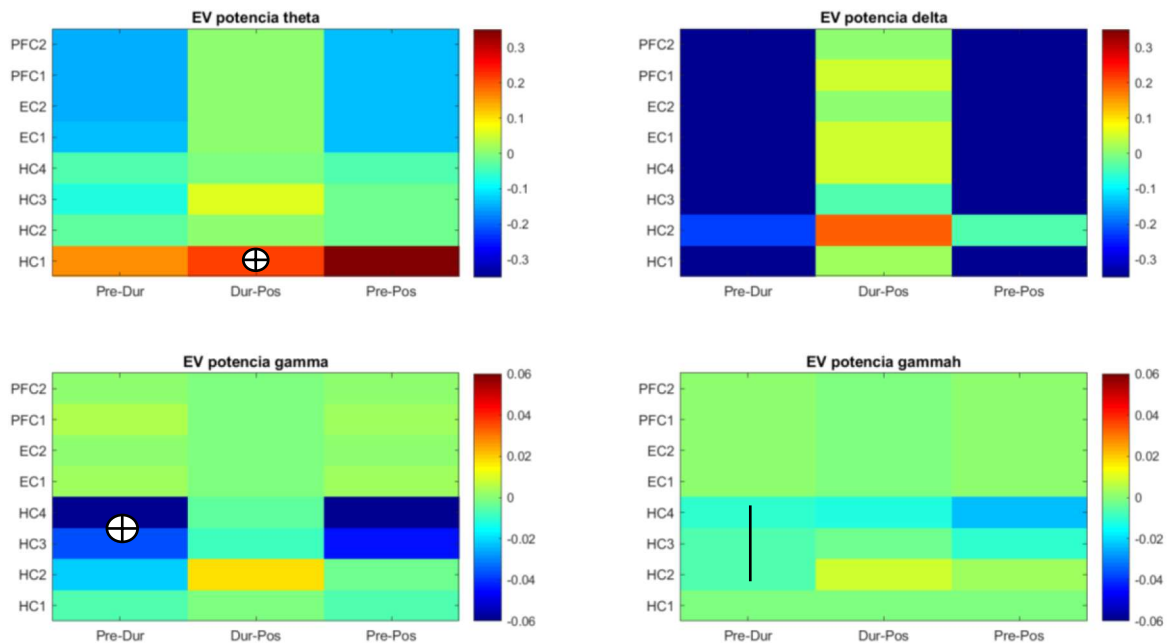


Figura 15. Variación de potencia en las distintas bandas de frecuencia calculada a partir de la potencia antes del estímulo y durante el mismo, a partir de la potencia durante el estímulo y tras el mismo y a partir de la potencia antes del estímulo y tras el mismo para el sujeto 5

En el caso del sujeto 5, en la potencia en theta la dinámica seguida en general es menos-más-menos para las variaciones de potencia, salvo en el caso del canal HC1 en el que la potencia aumenta durante la estimulación y aumenta tras el cese del estímulo.

Para la potencia en delta, la dinámica general es una disminución de la potencia durante la estimulación, un aumento de la misma tras el cese del estímulo y un balance entre el inicio y el final del experimento negativo, salvo para HC3 que desciende durante todo el experimento.

En las potencias gamma y gamma alta las variaciones son notablemente reducidas. Para la potencia en gamma, destacan los canales HC2, HC3 y HC4, cuyas potencias disminuyen durante la estimulación. Para HC2 la potencia gamma aumenta tras el cese del estímulo y para HC3 y HC4 disminuye. En balance entre el inicio y el final del experimento, HC2 mantiene un valor de potencia en gamma similar al inicio y HC3 y HC4 quedan con un valor menor respecto al inicio.

En la potencia en gamma alta se pueden destacar los mismos canales que para la potencia en gamma. Estos presentan una dinámica similar a la descrita, pero con una magnitud menor.

En general en todos los sujetos se observa una disminución de la potencia en todas las bandas durante la estimulación, un aumento de la potencia tras el cese del estímulo y un balance entre el inicio del experimento y el final negativo. La excepción es el canal HC2 en theta para los sujetos del 1 al 4 y el canal HC1 para los sujetos 4 y 5.

3.1.3 Correlación

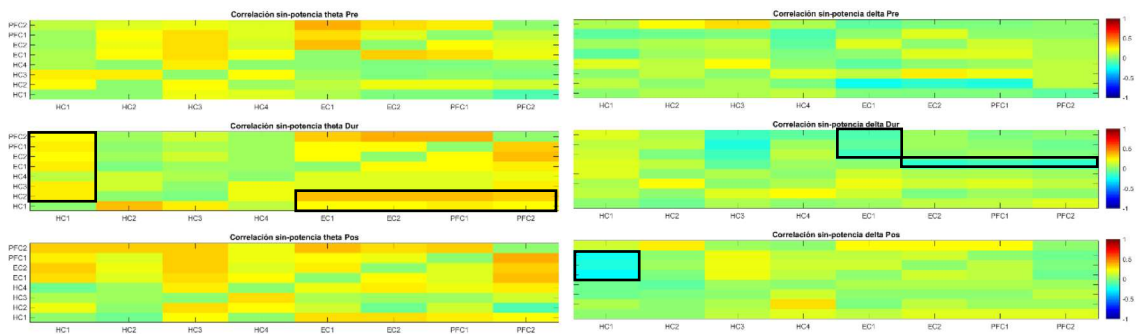
En este apartado se muestran los resultados correspondientes a la correlación entre el índice de sincronización en theta y la potencia en cada una de las bandas frecuenciales. El formato de salida de los resultados vuelve a ser similar al de los valores de sincronización, evaluando la sincronización por pares de canales. Se presenta la correlación para las cuatro componentes frecuenciales y en los tres estadios del experimento (antes del estímulo, durante el estímulo y tras el mismo; de arriba abajo respectivamente).

Para este apartado se han seleccionado los resultados más significativos y representativos de la correlación entre sincronización y potencia, sin embargo, se ha obtenido la correlación para las 4 bandas de frecuencia con el índice de sincronización y la evolución de esta correlación. Todo ello tomando como referencia la potencia de la primera señal del par de canales especificado y tomando como referencia la potencia de la segunda señal, sin embargo, estos resultados son redundantes. Es por ello por lo que se presenta la correlación, teniendo en cuenta la potencia de la primera señal que forma el par en cuestión.

3.1.3.1 Sujeto 1

Theta

Delta



Gamma

Gamma alta

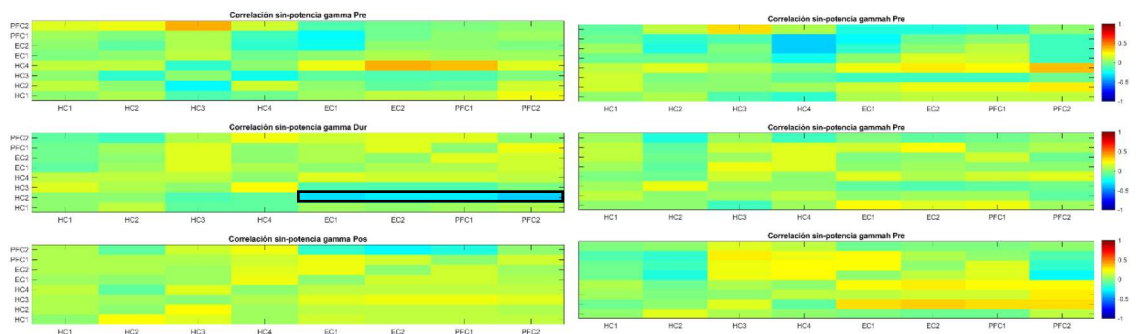


Figura 16. Mapas de correlación entre el índice de sincronización y la potencia en theta, delta, gamma y gamma alta para el sujeto 1

Tal como se puede comprobar en la figura 16, para el sujeto 1 los valores de correlación más altos se sitúan en la correlación entre el índice de sincronización y la potencia en theta. Concretamente, parece haber más valores positivos en el estadio final del experimento, tras el estímulo. Cabe destacar la franja naranja de correlación en los pares formados por HC2 y señales de EC y PFC, tomando como referencia la potencia de HC2 durante el periodo de estimulación.

Otras franjas amarillas a destacar son la de los pares formados por HC1 durante el periodo de estimulación, tomando la potencia de HC1 (fila de colores del borde inferior del mapa), la columna de HC1 durante y tras el estímulo y la columna de PFC2 durante y tras el estímulo.

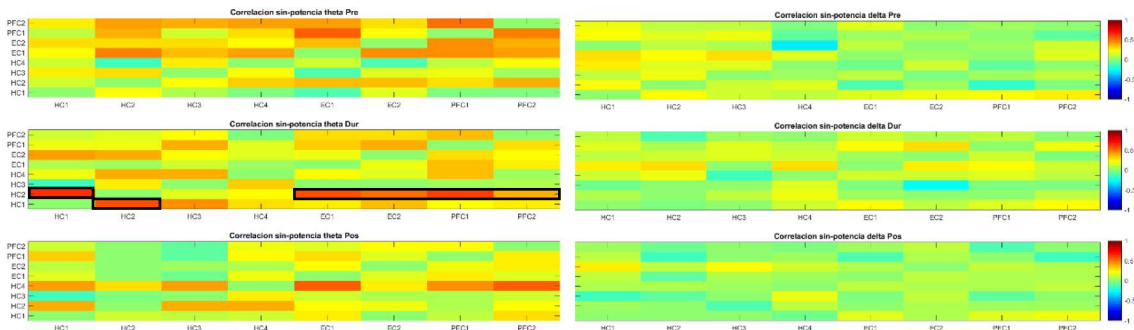
Para la correlación en delta, los valores son más reducidos y los únicos resultados relevantes son el valor reducido de algunos pares formados por HC1 (primera columna) tras el estímulo, que es contrario a lo que ocurre en theta; de la misma forma ocurre con los pares formados por EC1 junto a EC2, PFC1 y PFC2, donde es notoria una correlación negativa donde en theta era positiva.

En cuanto a la correlación en gamma, y gamma alta se podría afirmar que los valores positivos se concentran en el estadio posterior a la estimulación y los valores negativos se concentran antes de la estimulación. Destacar la franja de correlación baja de los pares formados por HC2 en la correlación en gamma durante la estimulación, la cual es contraria a la observada en theta.

3.1.3.2 Sujeto 2

Theta

Delta



Gamma

Gamma alta

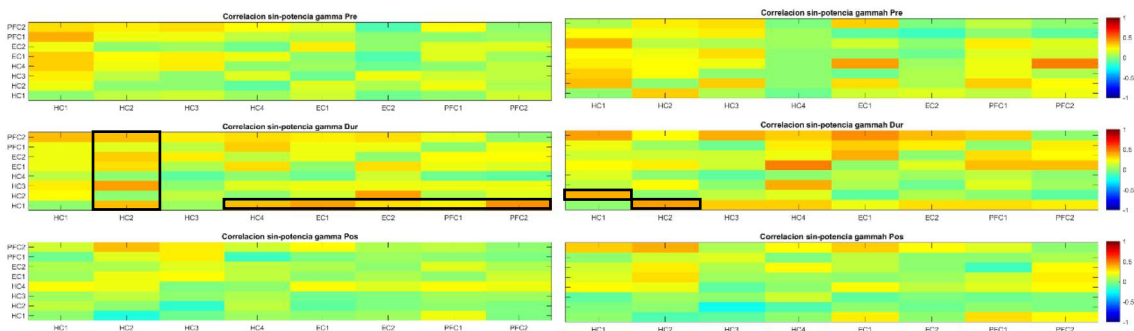


Figura 17. Mapas de correlación entre el índice de sincronización y la potencia en theta, delta, gamma y gamma alta para el sujeto 2

En cuanto al sujeto 2 se puede comprobar que los valores más positivos de correlación siguen concentrándose en la que evalúa la relación entre el índice de sincronización y la potencia en theta, sin embargo, los valores en gamma y gamma alta no son tan reducidos como para el sujeto anterior.

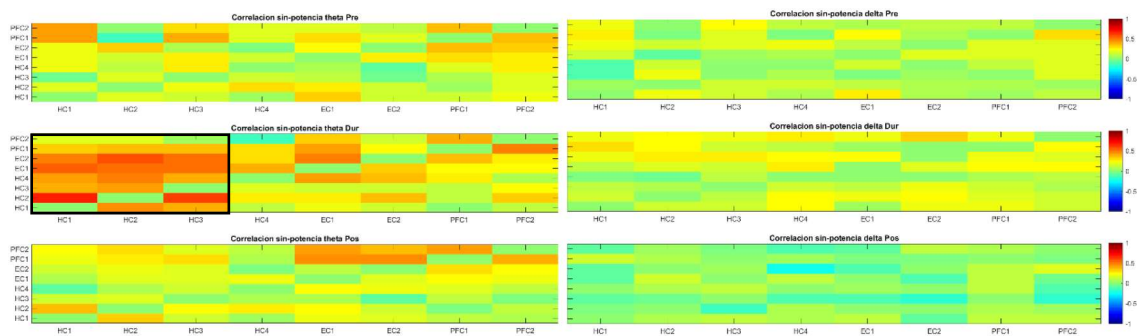
En el primer mapa, correspondiente a la correlación con la potencia en theta, se puede destacar la fila correspondiente al canal HC1 y HC2 durante la estimulación. Concretamente, el valor de correlación del par formado por ambos HC1-HC2 o HC2-HC1 y además la correlación de los pares del canal HC2 con los canales de EC y PFC, tomando como referencia la potencia de HC2 (penúltima fila del mapa central).

Para la potencia en delta no se observa ningún evento destacable. Por otro lado, para la potencia en gamma, se podría volver a destacar la fila de HC1 durante la estimulación y la columna de HC2 durante el mismo periodo. Para la potencia en gamma alta, el par HC1-HC2 y viceversa durante la estimulación muestran valores positivos, superiores a la mayoría de los valores de correlación en gamma alta, algo que también ocurría en la correlación con la potencia en theta.

3.1.3.3 Sujeto 3

Theta

Delta



Gamma

Gamma alta

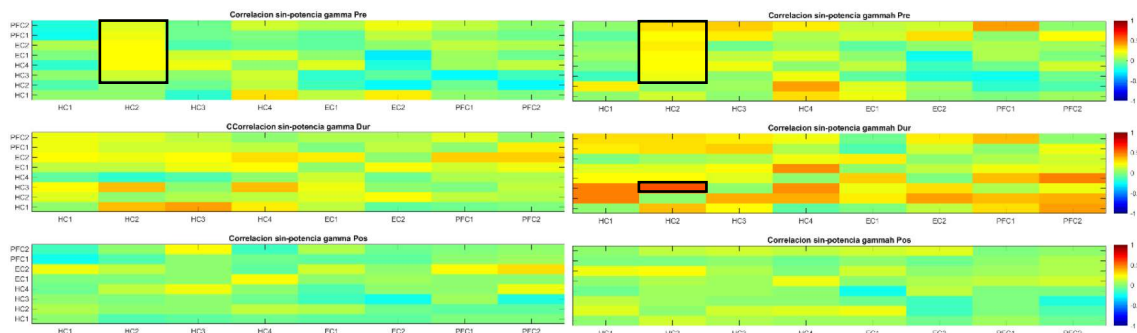


Figura 18. Mapas de correlación entre el índice de sincronización y la potencia en theta, delta, gamma y gamma alta para el sujeto 3

Para este sujeto los valores más altos de correlación parecen encontrarse durante el periodo de estimulación y en los mapas en los que se muestra la correlación entre el índice de sincronización y la potencia en theta y por otro lado en gamma alta.

En el mapa de la correlación con la potencia en theta, cabe destacar durante el periodo de estimulación las columnas correspondientes a los canales HC1, HC2 y HC3 muestran valores considerablemente superiores al resto, destacando los pares HC2-HC1 y HC2-HC3 (tomando

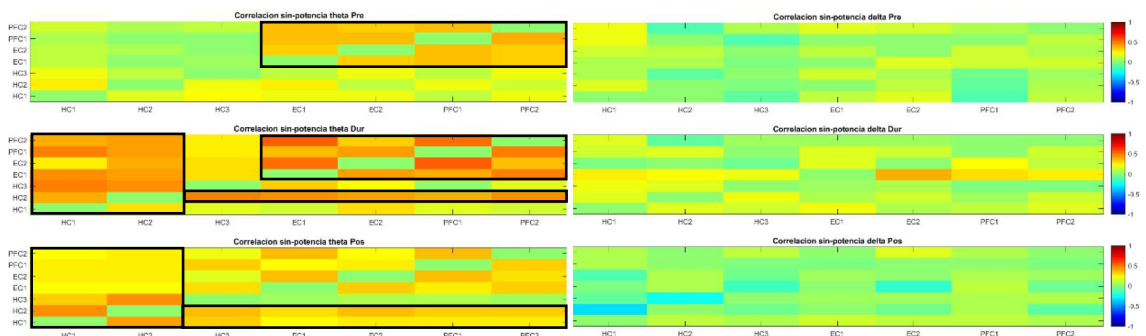
como referencia la potencia theta en HC2, fila de HC2). Resulta curioso que esta correlación sea inferior tanto en el periodo anterior al estímulo como en el posterior al mismo con respecto al periodo de estimulación, sin embargo, en el periodo posterior al estímulo es mayor que en el periodo anterior al estímulo. Para la potencia en delta no se observan eventos destacables.

En cuanto a los mapas de correlación con la potencia en gamma y gamma alta, destacan la columna de HC2 en el periodo anterior al estímulo. Finalmente, para la potencia en gamma alta, durante el periodo de estimulación los pares formados por los canales HC2 y HC3 tienen valores superiores de correlación respecto al resto de pares en general, destacando el par HC3-HC2.

3.1.3.4 Sujeto 4

Theta

Delta



Gamma

Gamma alta

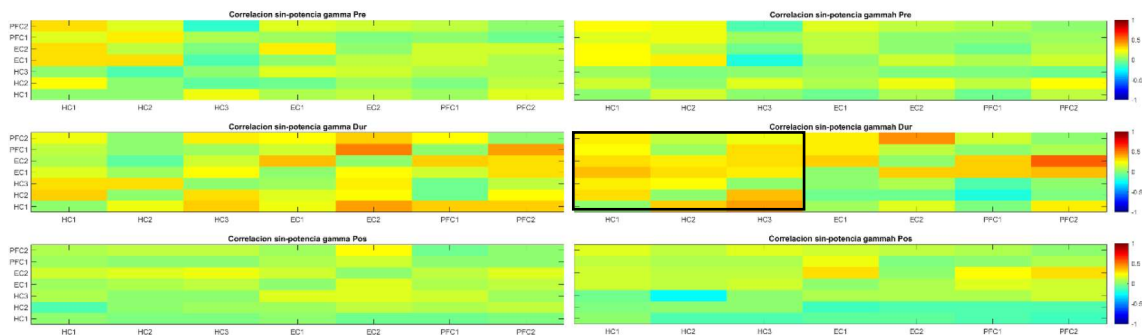


Figura 19. Mapas de correlación entre el índice de sincronización y la potencia en theta, delta, gamma y gamma alta para el sujeto 4

De nuevo, el mapa de la figura 19 con los valores más altos es el correspondiente a la correlación entre el índice de sincronización y la potencia en theta. Todos los mapas de este sujeto 4 concentran sus valores más positivos y mayores en magnitud absoluta, durante los periodos de estimulación.

En cuanto a la potencia en theta, antes de la estimulación se comprueba un grupo bastante homogéneo de valores positivos en la esquina superior derecha, correspondiente a los pares compuestos por canales de EC y PFC entre ellos mismos. Durante la estimulación estos pares vuelven a presentar los valores más altos de correlación, aunque hay una variación positiva considerable en la columna de HC1 y HC2, también apreciable en las filas homólogas. En el periodo tras la estimulación destaca la homogeneidad de las columnas de HC1 y HC2 y las filas de HC1 y HC2.

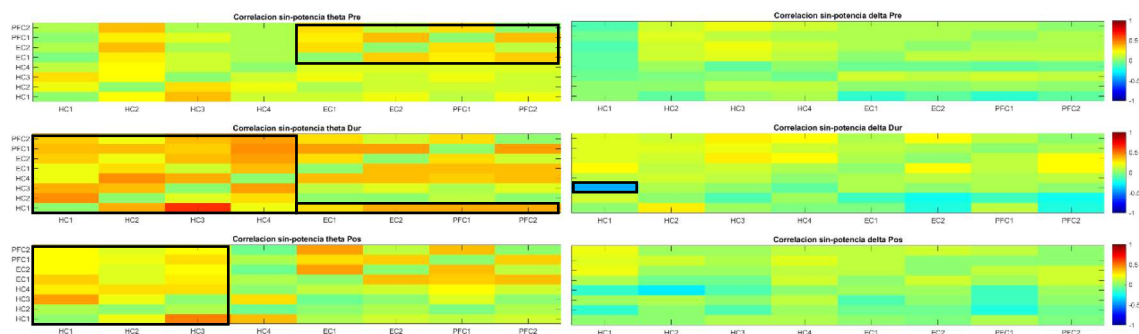
Se podrían diferenciar estos dos grupos mencionados, por una parte, las filas y columnas de HC1 y HC2 aumentan su correlación en theta durante la estimulación y tras la misma esta desciende un poco. Para el grupo de EC y PFC (esquina superior derecha), la correlación es más alta antes de la estimulación, aumenta durante la estimulación y disminuye tras la misma a niveles inferiores a los iniciales.

Para la correlación en delta no se ven tampoco eventos destacables para este sujeto. En el caso de gamma y gamma alta lo único que destaca es que los valores de correlación son más altos durante la estimulación. En gamma alta, estos valores se concentran en las columnas de HC1, HC2 y HC3.

3.1.3.5 Sujeto 5

Theta

Delta



Gamma

Gamma alta

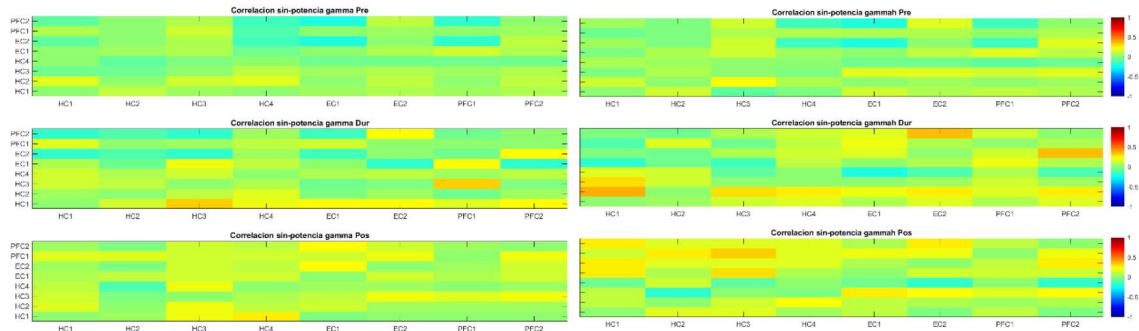


Figura 20. Mapas de correlación entre el índice de sincronización y la potencia en theta, delta, gamma y gamma alta para el sujeto 5

Para finalizar con los resultados de correlación concluimos con el sujeto 5. De nuevo, los valores de correlación más altos de la figura 20 se concentran en los correspondientes a la correlación entre el índice de sincronización y la potencia en theta, sobre todo durante el periodo de estimulación.

En theta se observa un grupo de valores positivos bastante homogéneo durante la estimulación correspondiente a las columnas de HC en general junto con la fila de HC1. El par con valor más alto es el HC1-HC3. Tras la estimulación las columnas de HC1, HC2 y HC3 bajan sus valores de forma homogénea (color amarillo). El grupo de la esquina superior derecha (pares formados por canales de EC y PFC entre sí), mantiene valores de correlación relativamente altos y constantes durante todo el experimento.

En la correlación con la potencia en delta cabe decir que el par con el valor más bajo es durante la estimulación y corresponde al par HC3-HC1, cuyo simétrico es el de mayor valor en theta.

Por último, en la correlación con gamma y gamma alta, se observa un aumento generalizado de la correlación a medida que avanza el experimento, sin destacar ningún grupo o par de señales en concreto.

3.2 Promedios

Como se ha comentado anteriormente, en este apartado se presentan los resultados promedio, resumiendo las tendencias que se observan en el desglose de los sujetos, obteniendo una idea más general de los resultados.

3.2.1 Sincronización

Todas las medias de los índices se sitúan por encima de 0,4 y por debajo de 0,8. A grandes rasgos la media de los valores de sincronización aumenta durante la estimulación del sujeto, salvo para el último sujeto (en promedio).

Sujeto	1	2	3	4	5
Antes del estímulo	0,64094307	0,60476908	0,63495825	0,67434572	0,6882803
Durante el estímulo	0,6464087	0,70907711	0,71402037	0,7374166	0,66885917
Tras el estímulo	0,64589039	0,66500618	0,61355222	0,78731504	0,71990301




Tabla 16. Media de los índices de sincronización

Sin embargo, la observación de la media no es concluyente puesto que enmascara mucha información, los valores pueden estar variando entre sí, pero manteniendo su media. Lo que se espera ver es que el índice varía en pares concretos de señales. La clave es observar las variaciones en este indicador, algo que también ha sido comprobado cómo se ha mostrado para cada sujeto en el apartado anterior. Seguidamente se muestran los valores promedio de la evolución de la sincronización entre las distintas etapas del experimento.

	HC1	HC2	HC3	HC4	EC1	EC2	PFC1	PFC2
HC1		0,1616	0,1329	0,1037	0,0551	0,0447	0,0214	0,0623
HC2	0,1764		0,1211	0,0604	0,0576	0,0563	0,0164	0,0574
HC3	0,1338	0,1109		0,0764	0,0534	0,0324	0,0241	0,0200
HC4	0,0827	0,0255	0,0412		0,0608	0,0425	0,0218	0,0585
EC1	0,0652	0,0156	0,0653	0,0631		0,0092	-0,0133	-0,0254
EC2	0,0637	0,0358	0,0516	0,0407	0,0360		-0,0156	0,0435
PFC1	0,0242	-0,0096	0,0275	0,0318	0,0160	-0,0186		-0,0309
PFC2	0,0944	0,0299	0,0573	0,0522	-0,0242	0,0286	-0,0460	

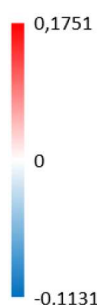


Tabla 17. Promedio entre sujetos de la variación de las medias de sincronización entre el periodo anterior al estímulo y el periodo durante el estímulo

	HC1	HC2	HC3	HC4	EC1	EC2	PFC1	PFC2
HC1		-0,0981	-0,0293	-0,0294	0,0235	0,0052	0,0030	0,0080
HC2	-0,1131		-0,0780	-0,0434	0,0030	-0,0375	-0,0041	-0,0098
HC3	-0,0273	-0,0671		-0,0138	0,0001	0,0047	-0,0236	-0,0022
HC4	-0,0220	-0,0182	-0,0140		0,0048	-0,0363	-0,0090	-0,0377
EC1	-0,0002	0,0260	-0,0256	-0,0062		0,0113	-0,0028	0,0217
EC2	-0,0294	-0,0087	-0,0244	-0,0241	0,0225		-0,0036	-0,0076

Estudio de la conectividad funcional y efectiva entre el hipocampo, cortezas entorrinal y prefrontal de rata mediante evaluación de la sincronización del ritmo theta

PFC1	-0,0007	0,0231	-0,0350	-0,0046	-0,0050	-0,0078		0,0172
PFC2	-0,0114	0,0120	-0,0129	-0,0168	0,0432	-0,0023	0,0261	

Tabla 18. Promedio entre sujetos de la variación de las medias de sincronización entre el periodo de estimulación y tras el estímulo

	HC1	HC2	HC3	HC4	EC1	EC2	PFC1	PFC2
HC1		0,0635	0,1036	0,0743	0,0785	0,0499	0,0244	0,0703
HC2	0,0633		0,0431	0,0170	0,0606	0,0188	0,0123	0,0476
HC3	0,1066	0,0438		0,0626	0,0534	0,0372	0,0005	0,0179
HC4	0,0607	0,0073	0,0272		0,0656	0,0062	0,0127	0,0208
EC1	0,0650	0,0416	0,0397	0,0569		0,0205	-0,0161	-0,0037
EC2	0,0344	0,0272	0,0273	0,0166	0,0585		-0,0192	0,0359
PFC1	0,0235	0,0135	-0,0075	0,0272	0,0109	-0,0263		-0,0137
PFC2	0,0831	0,0419	0,0444	0,0353	0,0190	0,0262	-0,0199	

Tabla 19. Promedio entre sujetos de la variación de las medias de sincronización entre el periodo anterior al estímulo y tras el estímulo

Como es posible observar, los valores más altos de evolución se sitúan en el cambio entre el periodo anterior al estímulo y el periodo en el que se practica la estimulación del sujeto tal como se puede comprobar en la tabla 17. Además, los valores más altos se concentran en esta tabla en la esquina superior izquierda, los cuales corresponden a los pares entre las señales de hipocampo, siendo los más altos los pares de HC1 con HC2, algo lógico ya que son inputs hacia la misma zona del hipocampo, el CA1.

Por otro lado, en la tabla 18, se puede observar que la mayoría de los valores son negativos o de magnitud reducida, por lo que en general la sincronización descendería tras el cese de la estimulación del sujeto. De nuevo, los valores de mayor magnitud se sitúan en los pares entre señales de hipocampo, destacando los pares de HC1 con HC2.

Finalmente, en la tabla 19, se puede comprobar que en el estadio final del experimento la sincronización entre las señales es mayor que al inicio del mismo en general. Esto puede ser debido a que el estado de los sistemas cerebrales objeto de estudio, no recuperan su estado basal con la misma rapidez con la que cambian durante la estimulación.

3.2.2 Potencia

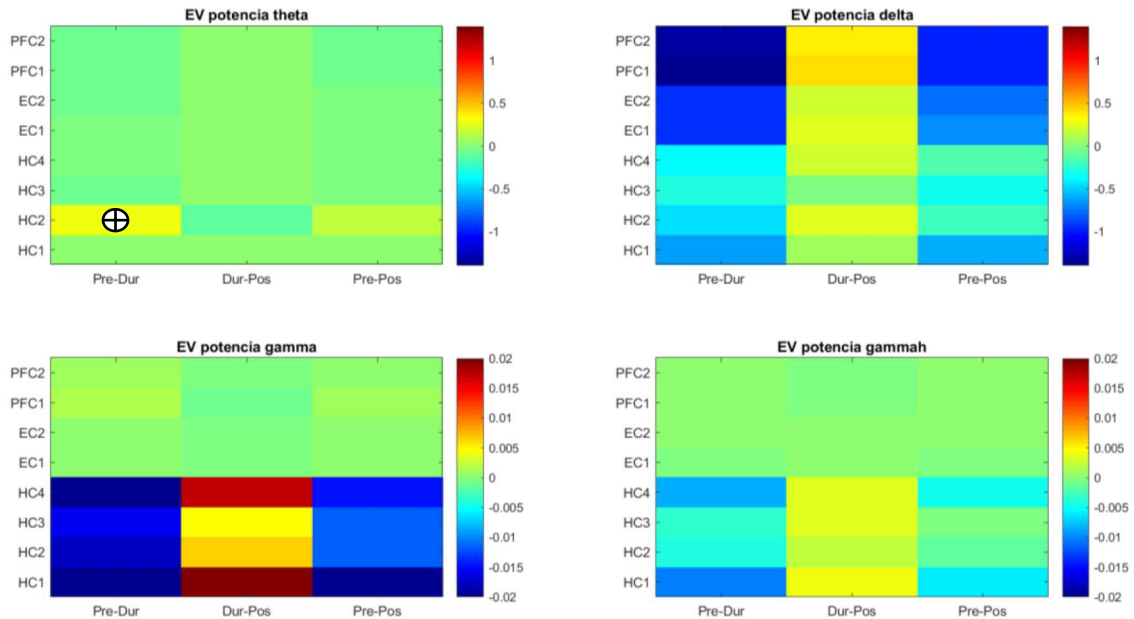


Figura 21. Variación de potencia en las distintas bandas de frecuencia calculada a partir de la potencia antes del estímulo y durante el mismo, a partir de la potencia durante el estímulo y tras el mismo y a partir de la potencia antes del estímulo y tras el mismo para el promedio de todos los sujetos

En cuanto a la evolución de la potencia, claramente destacan los valores que se presentan para la evolución de la potencia delta de las señales. Cabe decir que en la potencia theta se tiene un canal que destaca sobre el resto, el HC2, el cual presenta la dinámica más notoria en el mapa superior izquierdo de la figura 21. Este canal aumenta su potencia theta durante el estímulo de manera considerable con respecto al resto de canales.

En cuanto a la potencia en delta, todos los canales presentan la misma dinámica, es decir todos sufren una reducción de la potencia en delta durante la estimulación y un posterior aumento de la misma tras el cese de la estimulación del sujeto. Y el balance final es negativo con respecto al inicio del experimento en todos los canales.

Para la potencia gamma y gamma alta los valores de variación de la potencia son mucho más reducidos (el rango de las barras de color va de -0.02 a 0.02) debido a que los valores de potencia en estas bandas también eran menores, pero se pueden diferenciar dos grupos en ambos mapas. Para gamma se tiene el grupo de canales de hipocampo que presenta una reducción de potencia durante el estímulo y un aumento de la potencia tras el cese del estímulo, resultando la diferencia entre el inicio y el final del experimento negativa. Y por otro lado se tienen los canales de EC y PFC, que presentan la dinámica contraria y mucho más reducida.

En el caso de gamma alta, ocurre algo similar a la potencia en gamma, sin embargo, las variaciones son todavía más reducidas.

3.2.3 Correlación

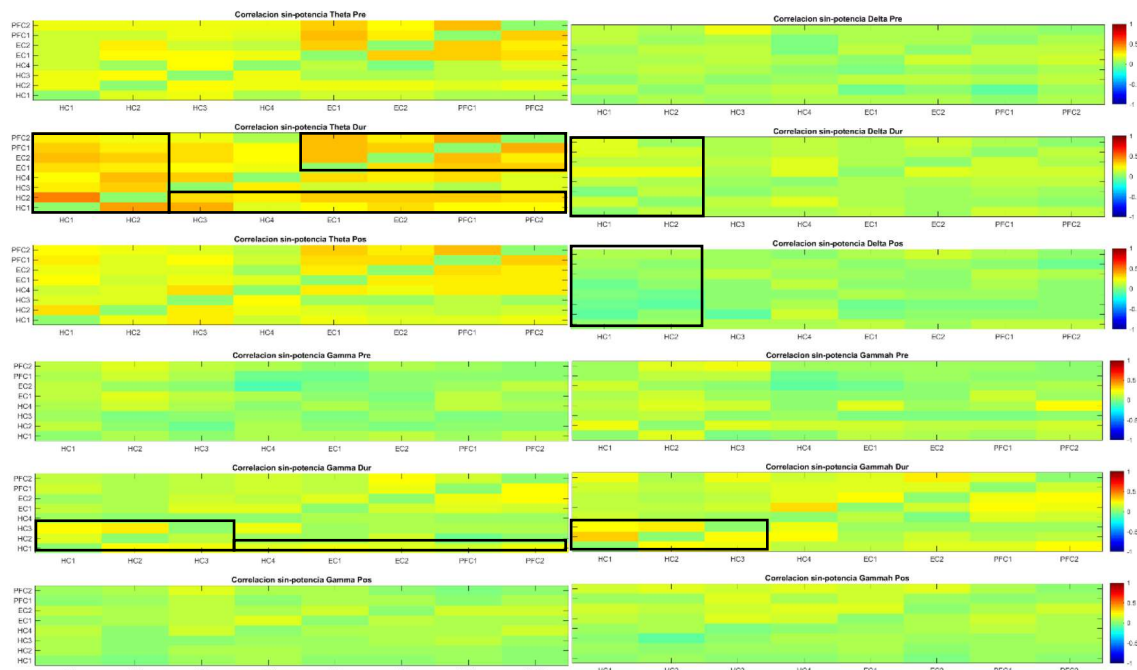


Figura 22. Mapas de correlación entre el índice de sincronización y la potencia en theta, delta, gamma y gamma alta para el promedio de todos los sujetos

Vistos los resultados de la correlación promedio entre los índices de sincronización y las potencias en cada banda frecuencial estudiada, es notorio que los valores más altos de correlación se presentan en la esquina superior izquierda de la figura 22, es decir en los valores de correlación entre el índice de sincronización y la potencia en theta.

Esto es algo esperado, pues el propio índice de sincronización está medido en la componente theta de las señales, por lo que es más lógico que a priori tengan una mayor relación con la potencia theta. Concretamente, los valores más altos en la correlación con la potencia en theta se presentan durante el periodo de estimulación del sujeto. Además, destaca la homogeneidad de estos valores en los pares formados por HC1 y HC2 (tanto sus filas como columnas, es decir teniendo en cuenta las potencias de HC1 y HC2 en cuenta y también considerando las potencias del resto de canales). También destacan los pares formados por señales de EC y PFC entre sí, con una correlación en theta superior al resto antes de la estimulación y que mantienen durante el estímulo.

En el segundo mapa correspondiente a la correlación entre el índice de sincronización y la potencia en delta, no hay valores a destacar en ninguno de los estadios del experimento. Lo más destacable quizás sea el aumento de correlación en las columnas de HC1 y HC2 durante la estimulación y la posterior disminución en estas mismas columnas tras el cese del estímulo.

Para la correlación con la potencia en gamma y gamma alta, se puede observar que los valores más altos se concentran en el periodo de estimulación, destacando frente a los valores antes y después del estímulo, al igual que en los valores de correlación con la potencia en theta. Quizás se podrían destacar los valores correspondientes a los pares de canales de hipocampo, salvo HC4 y a la fila de HC1 en gamma, por contener valores superiores a la mayoría del resto de pares.

3.3 Estadística

En este apartado se presentan los resultados obtenidos tras aplicar los distintos test estadísticos presentados en apartados anteriores. Concretamente se aplica un test ANOVA de dos vías y una comparación múltiple para conocer qué medias difieren, en caso de haber diferencia estadísticamente significativa. Los datos a comparar son los obtenidos del análisis de sincronización y de potencia.

3.3.1 Sincronización

Estos datos son introducidos de forma que son agrupados por estadio temporal del experimento (pre-estímulo, durante el estímulo y post-estímulo). Además, las filas identifican los pares de señales (por ejemplo, HC1-EC1) y las columnas identifican además del estadio del experimento, el sujeto al que pertenecen los datos.

En primer lugar, se aplica un ANOVA de dos vías con todos los datos de sincronización con un valor $\alpha = 0.05$, del cual se extrae que existen diferencias significativas entre los distintos pares de señales que se designan en el análisis como “regiones”. También existen diferencias significativas entre estadios del experimento y entre sujetos. Se extrae que la variación de los datos está distribuida entre estos atributos de mayor a menor de la siguiente forma: regiones, sujetos, interacción estadio-región y estadio.

Datos analizados:		Sincronización	ANOVA de dos vías		
Fuente variación	% sobre variación total	P valor	Resumen p valor		¿Significativo?
Interacción	3,734	0,9854	ns		No
Región	43,45	<0,0001	****		Sí
Estadio	3,262	<0,0001	****		Sí
Sujetos	29,41	<0,0001	****		Sí
Tabla ANOVA	SM (suma cuadrados)	Grados de libertad	Cuadrados medios	F (gdf, glr)	P valor
Interacción	0,3432	110	0,00312	F (110, 420) = 0,7068	P=0,9854
Región	3,994	55	0,07261	F (55, 210) = 5,641	P<0,0001
Estadio	0,2999	2	0,1499	F (2, 420) = 33,96	P<0,0001
Sujetos	2,703	210	0,01287	F (210, 420) = 2,916	P<0,0001
Residual	1,854	420	0,004415		

Tabla 20. Resultados del ANOVA de dos vías sobre los valores de sincronización en todos los sujetos, durante todo el experimento

Por otro lado, las comparaciones múltiples se realizaron utilizando el test de Tukey, debido al gran número de comparaciones que se debía hacer, aunque de todas formas se comprobó el resultado obtenido aplicando Bonferroni, más restrictivo.

Las diferencias significativas se mostraron únicamente entre los pares de hipocampo, concretamente:

Pares	Estadios
HC1-HC2	Pre vs. Dur
HC2-HC1	Pre vs. Dur; Dur vs. Pos
HC1-HC3	Pre vs. Dur; Pre vs. Pos*
HC3-HC1	Pre vs. Dur; Pre vs. Pos*
HC2-HC3	Pre vs. Dur
HC3-HC2	Pre vs. Dur*

Tabla 21. Pares de canales y estadios en los que se encuentran diferencias significativas al aplicar test de comparaciones múltiples en sincronización

Posteriormente se aplicó un test de Bonferroni eliminando los pares menos significativos, los formados por HC4, EC2 y PFC2. En la tabla 21 se marcan con un asterisco los contrastes que no fueron significativos con este segundo test (Pre vs. Pos en HC1-HC3 y HC3-HC1 y Pre vs. Dur en HC3-HC2). Esto es debido a la mayor restricción de este test con respecto al test de Tukey.

En conclusión, de estos test aplicados a los datos obtenidos de sincronización se desprende que el valor del índice de sincronización es significativamente distinto en función del sujeto que se estudie, el estadio del experimento y según la región de estudio (solamente para el hipocampo y para los estadios nombrados anteriormente).

3.3.2 Potencia

Para estos datos se introdujo una tabla de datos para cada banda frecuencial, de igual modo que para la sincronización los datos se separaron por regiones (una por canal), por sujetos y por estadios del experimento. Por tanto, se realizaron 4 ANOVAs distintos y se aplicó también test de Tukey para la comparación múltiple debido al gran número de comparaciones a realizar.

Los resultados se exponen a continuación:

Datos analizados:		POTENCIA THETA	ANOVA de dos vías		
Fuente variación	% sobre variación total	P valor	Resumen p valor		¿Significativo?
Interacción	13,92	0,0094	**		Sí
Región	26,81	0,0066	**		Sí
Estadio	0,01471	0,9824	ns		No
Sujetos	33,61	0,0006	***		Sí
Tabla ANOVA	SM (suma cuadrados)	Grados de libertad	Cuadrados medios	F (gdf, glr)	P valor
Interacción	0,2299	14	0,01642	F (14, 62) = 2,405	P=0,0094
Región	0,4428	7	0,06326	F (7, 31) = 3,533	P=0,0066
Estadio	0,0002429	2	0,0001215	F (2, 62) = 0,01778	P=0,9824
Sujetos	0,5551	31	0,01791	F (31, 62) = 2,622	P=0,0006

Residual	0,4234	62	0,006829		
----------	--------	----	----------	--	--

Tabla 22. Resultados del ANOVA de dos vías sobre los valores de potencia en theta en todos los sujetos, durante todo el experimento

Para la potencia en theta resulta significativa la diferencia de medias de potencia debido a los diferentes sujetos, diferentes regiones (canales) y a la interacción entre los factores estadio-región. Tras realizar las comparaciones múltiples por el método de Tukey, las diferencias significativas únicamente se dieron en el canal HC2 en theta, siendo más significativa la diferencia entre la potencia en theta antes del estímulo y después del estímulo. También se encontró significancia entre la potencia en theta de HC2 durante el estímulo y tras el estímulo y en la diferencia entre la potencia en theta en HC2 al inicio del experimento y al final del mismo.

HC2 – Theta	Diferencia medias	Intervalo Tukey	¿Significativo?	Resumen	P valor
Pre vs. Dur	-0,2735	[-0,399, -0,148]	Yes	****	<0,0001
Pre vs. Pos	-0,1463	[-0,2718, -0,02075]	Yes	*	0,0185
Dur vs. Pos	0,1272	[0,00172, 0,2527]	Yes	*	0,0462

Tabla 23. Pares de canales y estadios en los que se encuentran diferencias significativas al aplicar test de comparaciones múltiples en potencia en theta

Datos analizados:		POTENCIA DELTA	ANOVA de dos vías		
Fuente variación	% sobre variación total	P valor	Resumen p valor	¿Significativo?	
Interacción	12,2	<0,0001	****	Sí	
Región	16,84	<0,0001	****	Sí	
Estadio	46,79	<0,0001	****	Sí	
Sujetos	9,732	0,0817	ns	No	
Tabla ANOVA	SM (suma cuadrados)	Grados de libertad	Cuadrados medios	F (gdf, glr)	P valor
Interacción	3,48	14	0,2486	F (14, 62) = 4,21	P<0,0001
Región	4,806	7	0,6865	F (7, 31) = 7,663	P<0,0001
Estadio	13,35	2	6,675	F (2, 62) = 113	P<0,0001
Sujetos	2,777	31	0,08958	F (31, 62) = 1,517	P=0,0817
Residual	3,661	62	0,05905		

Tabla 24. Resultados del ANOVA de dos vías sobre los valores de potencia en delta en todos los sujetos, durante todo el experimento

Para la potencia en delta, resulta significativa la diferencia entre potencias de distintos estadios, distintas regiones y además la interacción entre los factores estadio-región también provoca suficiente variabilidad como para dar lugar a diferencias significativas. Tras la realización de las comparaciones múltiples, se extrajo que los canales que presentaban diferencias significativas en al menos un estadio temporal son: HC1, HC2, EC1, EC2, PFC1 Y PFC2. Más concretamente:

Canales	Estadios
HC1	Pre vs. Dur; Pre vs. Pos
HC2	Pre vs. Dur

EC1	Pre vs. Dur; Pre vs. Pos
EC2	Pre vs. Dur; Pre vs. Pos
PFC1	Pre vs. Dur; Pre vs. Pos; Dur vs. Pos
PFC2	Pre vs. Dur; Pre vs. Pos; Dur vs. Pos

Tabla 25. Pares de canales y estadios en los que se encuentran diferencias significativas al aplicar test de comparaciones múltiples en potencia en delta

Datos analizados:		POTENCIA GAMMA	ANOVA de dos vías		
Fuente variación	% sobre variación total	P valor	Resumen p valor		¿Significativo?
Interacción	7,234	0,0006	***		Sí
Región	47,8	<0,0001	****		Sí
Estadio	3,941	<0,0001	****		Sí
Sujetos	31,54	<0,0001	****		Sí
Tabla ANOVA	SM (suma cuadrados)	Grados de libertad	Cuadrados medios	F (gdf, glr)	P valor
Interacción	0,008531	14	0,0006094	F (14, 62) = 3,315	P=0,0006
Región	0,05637	7	0,008053	F (7, 31) = 6,712	P<0,0001
Estadio	0,004648	2	0,002324	F (2, 62) = 12,64	P<0,0001
Sujetos	0,0372	31	0,0012	F (31, 62) = 6,526	P<0,0001
Residual	0,0114	62	0,0001839		

Tabla 26. Resultados del ANOVA de dos vías sobre los valores de potencia en gamma en todos los sujetos, durante todo el experimento

Para el caso de la potencia en gamma, las medias de potencia resultan diferentes significativamente entre sujetos, entre regiones, entre estadios y sus valores están también definidos por la interacción entre los factores estadio-región. El test de comparaciones múltiples según el método de Tukey solo consideró que existían diferencias significativas en los canales HC1 y HC4. Concretamente:

Canales	Estadios
HC1	Pre vs. Dur; Pre vs. Pos
HC4	Pre vs. Dur

Tabla 27. Pares de canales y estadios en los que se encuentran diferencias significativas al aplicar test de comparaciones múltiples en potencia en gamma

Datos analizados:		POTENCIA GAMMA ALTA	ANOVA de dos vías		
Fuente variación	% sobre variación total	P valor	Resumen p valor		¿Significativo?
Interacción	1,882	0,4123	ns		No
Región	63,28	<0,0001	****		Sí
Estadio	1,276	0,0096	**		Sí
Sujetos	25,77	<0,0001	****		Sí

Tabla ANOVA	SM (suma cuadrados)	Grados de libertad	Cuadrados medios	F (gdf, glr)	P valor
Interacción	0,0003008	14	2,15E-05	F (14, 62) = 1,057	P=0,4123
Región	0,01012	7	0,001445	F (7, 31) = 10,88	P<0,0001
Estadio	0,0002039	2	0,0001019	F (2, 62) = 5,017	P=0,0096
Sujetos	0,004119	31	0,0001329	F (31, 62) = 6,539	P<0,0001
Residual	0,00126	62	2,03E-05		

Tabla 28. Resultados del ANOVA de dos vías sobre los valores de potencia en gamma alta en todos los sujetos, durante todo el experimento

Finalmente, para el caso de la potencia en gamma alta, hay diferencia significativa entre las medias de potencia entre los distintos sujetos, entre los distintos estadios del experimento y entre las distintas regiones. Al aplicar las comparaciones múltiples para obtener en qué medias se daban diferencias significativas, se obtuvo lo siguiente: al igual que para la potencia en gamma solo existían diferencias significativas para los canales HC1 y HC4. Concretamente:

Canales	Estadios
HC1	Pre vs. Dur
HC4	Pre vs. Dur

Tabla 29. Pares de canales y estadios en los que se encuentran diferencias significativas al aplicar test de comparaciones múltiples en potencia en gamma alta

4 DISCUSIÓN

Una vez han sido presentados los resultados, se exponen los principales comentarios acerca de estos. En primer lugar, se comentan los resultados observados en los distintos sujetos del experimento, posteriormente se discute el promedio entre los sujetos y finalmente se comentan los resultados del análisis estadístico.

4.1 Sujetos

En cuanto a la sincronización para los distintos valores de los sujetos estudiados cabe decir que hay una gran variabilidad producida por la elección de cada sujeto. Al igual que en otros campos donde son usadas muestras vivas para la experimentación, cada sujeto es literalmente un mundo y resulta especialmente complejo eliminar esta variabilidad en los resultados, es por ello que se suele optar por test estadísticos. En este caso los sujetos 3, 4 y 5 presentaban valores parecidos en cuanto a la distribución de las variaciones del índice de sincronización entre los distintos canales. Sin embargo, los canales 1 y 2 presentaban valores que diferían en gran medida.

Por otro lado, si se observan los resultados de potencia para los distintos sujetos se puede comprobar que destaca la dinámica del canal HC2 en theta para todos los sujetos, exceptuando el sujeto 5, para el cual destaca la dinámica del canal HC1. En la potencia en delta, se da una dinámica generalizada y contraria a la dinámica de HC2 en theta. Lo último relevante resulta ser que en gamma las dinámicas destacables son las de los canales de hipocampo, que presentan una disminución de potencia durante la estimulación, un aumento de la misma tras el cese del estímulo y un balance negativo, en líneas generales. El resto de canales no muestran una dinámica a destacar en las potencia gamma y gamma alta.

Por tanto, parece que cabe destacar que durante la estimulación los únicos canales que se ven alterados en potencia en theta son HC1 y HC2, aumentando en este caso su potencia durante la estimulación. Tiene sentido que ambos sigan la misma tenencia, pues son medidas de inputs sobre la misma zona cerebral, el CA1. A su vez, disminuye drásticamente la potencia en delta en todos los canales debido a la estimulación del sujeto.

Para la correlación, destacan en todos los sujetos valores altos en theta, concretamente en pares de canales de hipocampo y durante el periodo de estimulación. En algunos sujetos estos valores siguen destacando en otros periodos del experimento como para el sujeto 4. Por otro lado, en la correlación con la potencia delta no se observa ningún resultado destacable salvo valores puntuales en el sujeto 1 o en el sujeto 5. Por último, en los sujetos 2, 3 y 4 se observan valores superiores a destacar en pares de hipocampo, al igual que con la correlación con la potencia theta.

4.2 Promedio

Sobre los resultados del promedio entre los sujetos se puede concluir que la variación mayor de sincronización se produce al estimular al sujeto y esta variación es positiva de forma generalizada, al igual que el descenso tras el cese de estimulación. Además, los valores más altos

de variación, tanto positiva durante la estimulación como negativa tras el proceso de estimulación, se concentran en los pares formados por canales de hipocampo. Concretamente, los pares destacables son los formados entre la señal HC1 y HC2. Por ello, concluimos que la sincronización entre canales de hipocampo y sobre todo entre HC1 y HC2 en promedio varía mediante la estimulación realizada.

En cuanto a la potencia promedio, destaca la variación en theta del canal HC2 con un aumento durante la estimulación y un descenso tras el cese de la misma, acabando con un valor al final del experimento mayor que al inicio. En la potencia delta es donde se registra la mayor variación, disminuyendo considerablemente tras la estimulación del sujeto y aumentando tras el cese de la misma, acabando con un valor menor al inicial. Por otro lado, en la potencia gamma y gamma alta las variaciones son muy reducidas, destacando las observadas para los canales de hipocampo. Estos canales ven disminuida su potencia en gamma y gamma alta durante la estimulación y aumentada tras el cese del estímulo, acabando el experimento con una potencia en estas bandas menor respecto al inicio del experimento. El resto de canales de entorrinal y prefrontal presentan unas dinámicas de magnitud despreciable.

Los valores de correlación muestran su máximo en todas las bandas frecuenciales en el periodo durante el cual se produce la estimulación del sujeto. Por tanto, la estimulación que se le produce al mismo aumenta la correlación de algunas de las señales. Concretamente, con la potencia en theta aumenta la correlación del índice de sincronización en los pares formados por HC1 y HC2, siendo los valores más altos los pares HC1-HC2 y HC2-HC1. Por otro lado, en gamma y gamma alta se observa que los máximos de correlación se dan los pares de HC con HC, menos para HC4. Y en gamma destaca la fila de HC1.

Por ello, tras el aumento de potencia en theta en el canal HC2 durante la estimulación se da un aumento de sincronización entre este mismo canal HC2 y HC1, lo cual indica que claramente estos efectos están relacionados. A su vez tras el cese de estimulación tanto la potencia mencionada como la sincronización disminuyen. Por otro lado, es notorio que las variaciones de potencia en theta son contrarias a las de delta, por lo que se comprueba que con la estimulación no solo se afecta a la señal en theta, sino que la disminuimos en delta.

4.3 Estadística

Tras la realización de los distintos ANOVAs y test estadísticos, los resultados indican que las variaciones en sincronización únicamente son significativas estadísticamente para los pares constituidos por HC1, HC2 y HC3 entre sí. Por tanto, se puede afirmar que no se registra una variación de sincronización significativa estadísticamente para el resto de canales y para este experimento en cuestión. Concretamente, esta significancia estadística se da en todos estos canales entre el periodo anterior al estímulo y el periodo de estimulación. Por tanto, la estimulación del sujeto mediante punción de la cola aumenta la sincronización de las ondas theta para estos pares de canales del hipocampo. Con los test estadísticos menos restrictivos también se encontraron diferencias entre el periodo de estimulación y el periodo tras la estimulación y en otros pares entre el periodo inicial y final del experimento; pero no resulta tan concluyente.

A su vez el ANOVA concluyó que las fuentes significativas de variabilidad de los datos eran los distintos estadios del experimento y los distintos sujetos, tal como se había adelantado en la discusión de los resultados individuales.

Para la potencia, tras realizar un ANOVA por cada banda frecuencial, en este caso se obtiene que el único canal que tiene una variación significativa en theta es HC2, para los tres estadios del experimento. Para el caso de la potencia en delta, todos los canales sufren una variación significativa (descenso como se ha visto en apartados anteriores) durante el periodo de estimulación salvo HC3 y HC4. Todos estos canales menos HC2, presentan diferencias en potencia en delta entre el inicio y el final del experimento, lo cual indica que el estado inicial en cuanto a potencia en delta se refiere, no se recupera en el tiempo de registro dado para el periodo tras la estimulación.

En cuanto a la potencia en gamma y gamma alta, se observa que solo resultan significativas las variaciones para los nodos de HC1 y HC4, por lo que las variaciones contrarias en gamma del canal HC1 con respecto a HC2 en theta son significativas. Lo cual indica que un aumento de la potencia en HC2 y HC1 en theta, lleva asociado una disminución en gamma en HC1, ambas asociadas a la estimulación del sujeto.

Cabe destacar que el ANOVA ha indicado que no hay diferencia en la dinámica de la potencia en theta entre los distintos sujetos, por lo que esa disminución de la potencia en theta durante la estimulación es significativa en la población estudiada.

Además, esta variabilidad aportada por los sujetos es significativa en el resto de potencias y como se ha mencionado anteriormente, también en el índice de sincronización por lo cual se reitera la importancia de tener en cuenta esta variabilidad en experimentos de este tipo.

5 CONCLUSIONES

Tras la realización de un análisis tanto individual como poblacional sobre los valores del índice de sincronización propuesto, la potencia y la correlación entre ambos, además de un análisis estadístico de estos valores, se han obtenido las siguientes conclusiones:

- Como se esperaba, se han encontrado diferencias significativas en los valores medidos entre los distintos estadios del experimento, por lo que la prueba ha aportado las distintas condiciones deseables durante su realización.
- Al estimular al sujeto aumenta la potencia theta en HC2 y disminuye la potencia delta de forma generalizada. Hay una relación proporcional inversa entre la potencia en theta y delta.
- De forma similar, al estimular al sujeto mediante la punción en la cola, aumenta la sincronización de las señales de hipocampo. Por tanto, hay una correlación que aumenta durante la estimulación del sujeto y es mayor que durante los otros periodos del experimento. Este aumento de correlación en el hipocampo (HC1, HC2 y HC3) parece estar mediado por un aumento en la potencia en theta del canal HC2. Por lo que se podría proponer que el colateral de Schaffer (HC1) actúa como director de la sincronización en circuito estudiado del hipocampo.
- Aunque es sabido que un estímulo somatosensorial implica un aumento de la potencia theta hipocampal, este efecto sólo es encontrado en uno de los generadores (HC2). Esto es debido al uso de ICA en nuestros análisis, que nos permite identificar la fuente concreta de ese cambio en la potencia theta.
- La sincronización en la corteza entorrinal y la corteza prefrontal no varía, por lo que son independientes a las variaciones expuestas de cambios en la potencia, incluyendo las variaciones significativas en sus canales de potencia en delta.

Por tanto, el índice de sincronización ha permitido observar cambios en la sincronización entre distintas señales, permitiendo la identificación del aumento de sincronización en el hipocampo. Además, los valores de correlación han mostrado la relación existente de este índice con otros parámetros como la potencia de las señales, lo cual promueve su uso en este ámbito experimental.

Esta primera toma de contacto con este índice ha servido para estudiar su comportamiento en sujetos anestesiados y sentar la base para posteriores estudios con sujetos en actividad.

6 LÍNEAS FUTURAS

Realizada la toma de contacto con el índice de sincronización propuesto, a partir de este trabajo se abre un abanico de posibilidades donde experimentar con este parámetro. Dado que los sujetos con los que se ha experimentado en este trabajo se encontraban anestesiados, resulta de especial interés la obtención de estos datos para la posterior comparación de futuros estudios, los cuales trabajen con sujetos despiertos y desarrollando distintas actividades.

Por otro lado, resultaría interesante el estudio de la causalidad entre los cambios observados en potencia y las variaciones obtenidas en el índice de sincronización. Debido a la gran resolución temporal que ofrece este nuevo parámetro, es posible realizar futuros estudios enfocados a relaciones temporales entre este parámetro y otras variaciones en cortos periodos de tiempo.

Otro posible futuro trabajo podría consistir en acoplar la medición del índice de sincronización a software ya desarrollados, los cuales son ejemplo de trabajos similares a este.

Por otro lado, puede ser de gran interés realizar una comparación exhaustiva entre el índice de sincronización y otros parámetros que sean usados para medir la sincronización entre señales, como por ejemplo la coherencia, ampliamente utilizada en estudios de neurociencia.

7 BIBLIOGRAFÍA

- Álvarez Salvado, E. (2015). SYNAPSE-TO-NETWORK PLASTICITY IN THE HIPPOCAMPUS.
- Balls, M. (2010). The Principles of Humane Experimental Technique: Timeless Insights and Unheeded Warnings. *Altex*, 25–27. <https://doi.org/1486173>
- Bliss, T. V. P., & Lømo, T. (1973). Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *The Journal of Physiology*, 232(2), 331–356. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1973.sp010273>
- Buzsáki, G. (2002). Theta oscillations in the hippocampus. *Neuron*, 33(3), 325–340. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(02\)00586-X](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(02)00586-X)
- Cajal, S.R. (1909) *Histologie du Système Nerveux de l'Homme et des Vertèbres*, Swanson, N., and Swanson, L.W. (trans. 1911) (Oxford University Press).
- Callaghan, K. (1996). The Correlation Coefficient. *Explorations in College Algebra: Discovering Databased Application*, (c), 553–557.
- Carleton University. (2013) Neuroscience – Long-Term Potentiation. Fecha último acceso: 17/06/2018. https://www.youtube.com/watch?v=vso9jgfp1_c
- Churchland, P. S., Koch, C., & Sejnowski, T. J. (1990). What is computational neuroscience? *Computational Neuroscience*, 46–55. <https://doi.org/10.1126/science.3045969>
- Cole, S. R., & Voytek, B. (2017). Brain oscillations and the importance of waveform shape. *Elsevier*, 21(2), 137–149. Retrieved from <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1364661316302182>
- Conway Psychology. (2010) Neural Communication. Fecha de último acceso: 13/06/2018. <http://conwaypsychology.webs.com/apps/photos/photo?photoid=84056094>
- De Schutter, E. (2008). Why are computational neuroscience and systems biology so separate? *PLoS Computational Biology*, 4(5). <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1000078>
- Delorme, A., Mullen, T., Kothe, C., Akalin Acar, Z., Bigdely-Shamlo, N., Vankov, A., & Makeig, S. (2011). EEGLAB, SIFT, NFT, BCILAB, and ERICA: New tools for advanced EEG processing. *Computational Intelligence and Neuroscience*, 2011. <https://doi.org/10.1155/2011/130714>
- Dhikav, V., & Anand, K. S. (2012). Hippocampus in health and disease: An overview. *Annals of Indian Academy of Neurology*, 15(4), 239. <https://doi.org/10.4103/0972-2327.104323>
- Dickson, C. T., Trepel, C., & Bland, B. H. (1994). Extrinsic modulation of theta-field activity in the entorhinal cortex of the anesthetized rat. *Hippocampus*, 4(1), 37–51.
- Fries, P. (2005). A mechanism for cognitive dynamics: Neuronal communication through neuronal coherence. *Trends in Cognitive Sciences*, 9(10), 474–480. <https://doi.org/10.1016/j.tics.2005.08.011>
- García Leal, J., & Lara Porras, A. M. (1998). Diseño estadístico de experimentos. Análisis de la Varianza.
- Ghane-Motlagh, B., & Sawan, M. (2013). Design and Implementation Challenges of Microelectrode Arrays: A Review. *Materials Sciences and Applications*, 04(08), 483–495.

<https://doi.org/10.4236/msa.2013.48059>

- Golgi, C. (1886) Sulla fina anatomia degli organi centrali del sistema nervoso. 1886
- Hall, J. E. (2016). Guyton Y Hall. Tratado De Fisiología Médica.
- Herreras, O. (2016). Local Field Potentials: Myths and Misunderstandings. *Frontiers in Neural Circuits*, 10(December), 1–16. <https://doi.org/10.3389/fncir.2016.00101>
- Hodgkin, A. L., & Huxley, A. F. (1952). A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. *Bulletin of Mathematical Biology*, 52(1–2), 25–71. <https://doi.org/10.1007/BF02459568>
- Hyvarinen, A., & Oja, E. (2000). Independent component analysis: algorithms and applications. *Neural Network Research Centre (Helsinki University of Technology)*.
- Leszczynski, M. (2011). How Does Hippocampus Contribute to Working Memory Processing? *Frontiers in Human Neuroscience*, 5(December). <https://doi.org/10.3389/fnhum.2011.00168>
- López, M. V. G. (2012). Estudio de la estructura dinámica de las interacciones funcionales en el hipocampo mediante el procesado de registros electrofisiológicos.
- López Madrona, V. J. (2015). Estudio de la conectividad efectiva en el hipocampo de rata mediante la Causalidad de Granger y el análisis de registros electrofisiológicos intracerebrales in vivo .
- Marieb, E. N. (2008). *Anatomía y fisiología humana*. (Pearson, Ed.) (9th ed.).
- Marple, J. S. L. (1999). Computing the discrete-time “Analytic” signal via FFT. *Signal Processing, IEEE Transactions On*, 47(9), 2600–2603. <https://doi.org/10.1109/78.782222>
- Morris, R. G. M. (1999). D.O. Hebb: The Organization of Behavior, Wiley: New York; 1949. *Brain Research Bulletin*, 50(5–6), 437. [https://doi.org/10.1016/S0361-9230\(99\)00182-3](https://doi.org/10.1016/S0361-9230(99)00182-3)
- Martínez de Juan, J. L. (2017) Apuntes – señales biomédicas tema 4: ejemplos de procesado de señales biomédicas. 4.3 Sistema nervioso.
- Multichannel Systems (2017) PGA64. Fecha ultimo acceso: 12/06/2018
<https://www.multichannelsystems.com/products/pga64#undefined>
- Nicoll, R. A. (2017). A Brief History of Long-Term Potentiation. *Neuron*, 93(2), 281–290. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2016.12.015>
- Olivares, J. D., Juárez, E., & García, F. (2015). El hipocampo: neurogénesis y aprendizaje. *Revista Médica de La Universidad Veracruzana*, 15(June), 20–28. Retrieved from http://www.medigraphic.com/pdfs/veracruzana/muv-2015/muv151c.pdf%0Ahttps://www.uv.mx/rm/num_antteriores/revmedica_vol15_num1/articulos/el_hipocampo.pdf
- Organization for computational neurosciences (OFCN). (2017) What is computational neuroscience? Fecha último acceso: 19/06/2018
<https://www.cnsorg.org/computational-neuroscience>
- Penttonen, M., Nurminen, N., Miettinen, R., Sirvio, J., Henze, D. a., Csicsvari, J., & Buzsaki, G. (1999). ULTRA-SLOW OSCILLATION (0 . 025 Hz) TRIGGERS HIPPOCAMPAL

AFTERDISCHARGES IN WISTAR RATS. *Neuroscience*, 94(3), 735–743.

Place, R., Farovik, A., Brockmann, M., & Eichenbaum, H. (2016). Bidirectional prefrontal-hippocampal interactions support context-guided memory. *Nature Neuroscience*, 19(8), 992–994. <https://doi.org/10.1038/nn.4327>

Preston, A. R., & Eichenbaum, H. (2013). Interplay of hippocampus and prefrontal cortex in memory. *Current Biology*, 23(17), 1–21. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2013.05.041>

Rall W. (1959) Branching dendritic trees and motoneuron membrane resistivity. *Exp. Neurol* 1, 491-527.

Rall W. (1964) Theoretical significance of dendritic trees for neuronal input-output relations. *Stanford University Press*, 73-97.

Rao, K. R. S. P. (2016). Cytoarchitecture of Human Adult Hippocampus. *International Journal of Anatomy and Research*, 4(3.2), 2764–2770. <https://doi.org/10.16965/ijar.2016.330>

Romero Villafranca, R. & Zúnica Ramajo, L. R. (2005) Métodos estadísticos en ingeniería. Editorial UPV.

Schultz, C., & Engelhardt, M. (2014). Anatomy of the hippocampal formation. *The Hippocampus in Clinical Neuroscience*, 34, 6–17. <https://doi.org/10.1159/000360925>

Singer, W. (1999). Neuronal Synchrony: A Versatile Code Review for the Definition of Relations? *Neuron*, 24, 49–65. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(00\)80821-1](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(00)80821-1)

Sporns O. (2007) Brain connectivity. *Scholarpedia*. 2(10):4695. Fecha último acceso: 08/06/2018 http://www.scholarpedia.org/article/Brain_connectivity



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA

PRESUPUESTO



ÍNDICE DEL PRESUPUESTO

0	INTRODUCCIÓN	83
1	CUADRO DE PRECIOS DE MANO DE OBRA	84
2	CUADRO DE PRECIOS DEL MATERIAL	84
3	CUADRO DE PRESUPUESTOS PARCIALES	84
3.1	Planificación, puesta a punto y seguimiento del proyecto	84
3.2	Programación y obtención de resultados	85
3.3	Redacción del documento y defensa del TFG	85
4	CUADRO DE PRECIOS UNITARIOS	86
5	CUADRO DE PRECIOS DESCOMPUESTOS	87
6	PRESUPUESTO DE EJECUCIÓN POR CONTRATA	90

0 INTRODUCCIÓN

En el presente documento del proyecto se pretende valorar económicamente la realización de este. Para ello, se tienen en cuenta la siguiente información:

Para el coste de mano de obra se han tenido en cuenta tanto el estudiante de ingeniería biomédica que realiza el presente proyecto como el ingeniero superior que lo tutoriza. Para el primero de ellos se ha considerado un salario de 1200 €/mes y para el segundo de ellos un salario de 2000 €/mes. A su vez, se deben tener en cuenta las pagas prorrateadas (dos anuales), las cuales se han estimado por el valor del sueldo mensual, concluyendo en un salario bruto de 1400 €/mes y 2333,3 €/mes, respectivamente.

Por otra parte, según el Ministerio de Empleo y Seguridad Social en el año 2018, el personal tiene un coste para la empresa, en concepto de contingencias comunes (23,6%), seguro de desempleo (5,5%), fondo de garantía salarial (FOGASA, 0,2%), formación profesional (0,6%) y según la tarifa de primas de la cuarta Ley 42/2006, de 28 de diciembre, los servicios técnicos de arquitectura e ingeniería; ensayos y análisis técnicos tienen asociado un IT del 0.65% y un IMS del 1% (total 1.65%), correspondiente a las contingencias de accidentes de trabajo y enfermedades profesionales. Teniendo en cuenta una jornada laboral de 8 horas y partiendo de 365 días, descontando 15 días festivos, fines de semana y 30 días de vacaciones, se desprende un total de horas de trabajo anuales de 1792 horas. En base a este número de horas, el coste de mano de obra por hora del estudiante de ingeniería alcanza los 12,32 €/h y el coste del ingeniero superior los 20,56 €/h.

Cabe mencionar que los costes asociados tanto al ordenador portátil como a los programas informáticos utilizados han sido calculados en base a su amortización, no se han considerado sus precios de venta. Para el cómputo de la amortización a estos costos, se ha calculado un factor de amortización basado en el cociente entre el tiempo de uso y la vida útil estimada del producto. Estos costes se incluyen una sola vez y

Finalmente, se considera un 13% de costes generales y un 6% de beneficio industrial en el total de presupuestos parciales. Además, se aplica un tipo de IVA general del 21% al total del coste del proyecto.

1 CUADRO DE PRECIOS DE MANO DE OBRA

N.º	Código	Denominación	Horas	Precio	Total
1	MO.EGIB	Estudiante GIB	300	12,32 €/h	3696 €
2	MO.IS	Ingeniero superior	33	20,56 €/h	378,48 €
Total mano de obra					4374,48 €

2 CUADRO DE PRECIOS DEL MATERIAL

N.º	Código	Denominación	Cantidad	Precio	Fact. Amortización	Total
1	M.PC	PC Sony VAIO SWF1521Q6EW	1 u	769 €	3/48	48,06 €
2	M.MO	Microsoft Office 365 (personal)	1 u	69 €	3/12	17,25€
3	M.W	Windows 10 Home	1 u	145 €	3/48	9,06€
4	M.M	Matlab 2017b (anual)	1 u	800 €	3/12	200 €
5	M.GP	GraphPad Prism 7 (licencia de estudiante)	1 u	128,86 €	3/12	32,22 €
6	M.ITFG	Impresión TFG	80 u	0,04 €	--	3,2 €
7	M.ETFG	Encuadernación TFG	1 u	1,5 €	--	1,5 €
Total material						311,29 €

3 CUADRO DE PRESUPUESTOS PARCIALES

3.1 Planificación, puesta a punto y seguimiento del proyecto

N.º	Ud.	Denominación	Cantidad	Precio	Total
4.1.1	h	Revisión bibliográfica	30 h	12,32 €	369,6 €
4.1.2	u	Instalación de programas y toma de contacto	1 u	429,79 €	429,79 €
4.1.3	h	Reuniones para concretar aspectos y realizar seguimiento	10 h	32,88 €	328,8 €
Total presupuesto parcial 4.1					1128,19 €

3.2 Programación y obtención de resultados

N.º	Ud.	Denominación	Cantidad	Precio	Total
4.2.1	u	Desarrollo de scripts para el cálculo de los distintos parámetros y la obtención de resultados	1 u	862,56 €	862,56 €
4.2.2	u	Selección y limpiado de los registros	1 u	147,92 €	147,92 €
4.2.3	u	Obtención y análisis de los resultados	1 u	858,4 €	858,4 €
Total presupuesto parcial 4.2					1868,88 €

3.3 Redacción del documento y defensa del TFG

N.º	Ud.	Denominación	Cantidad	Precio	Total
4.3.1	h	Redacción de los documentos del proyecto	85 h	12,32 €	1047,2 €
4.3.2	u	Revisión y corrección de errores	1 u	308,16 €	308,16 €
4.3.3	u	Preparación de la defensa	1 u	328,64 €	328,64 €
4.3.4	u	Impresión y encuadernación de los documentos	1 u	4,7 €	4,7 €
Total presupuesto parcial 4.3					1688,7 €

4 CUADRO DE PRECIOS UNITARIOS

N.º	Denominación	Ud.	Importe	
			En cifra (€)	En letra (€)
4.1	Planificación, puesta a punto y seguimiento del proyecto			
4.1.1	Revisión bibliográfica	h	369,6 €	Trescientos sesenta y nueve euros con seis céntimos
4.1.2	Instalación de programas y toma de contacto	u	429,79 €	Cuatrocientos veintinueve euros con setenta y nueve céntimos
4.1.3	Reuniones para concretar aspectos y realizar seguimiento	h	328,8 €	Trescientos veintiocho euros con ocho céntimos
4.2	Programación y obtención de resultados			
4.2.1	Desarrollo de scripts para el cálculo de los distintos parámetros y la obtención de resultados	u	862,56 €	Ochocientos sesenta y dos euros con cincuenta y seis céntimos
4.2.2	Selección y limpiado de los registros	u	147,92 €	Ciento cuarenta y siete euros con noventa y dos céntimos
4.2.3	Obtención y análisis de los resultados	u	858,4 €	Ochocientos cincuenta y ocho euros con cuatro céntimos
4.3	Redacción del documento y defensa del TFG			
4.3.1	Redacción de los documentos del proyecto	h	1047,2 €	Mil cuarenta y siete euros con dos céntimos
4.3.2	Revisión y corrección de errores	u	308,16 €	Trescientos ocho euros con dieciséis céntimos
4.3.3	Preparación de la defensa	u	328,64 €	Trescientos veintiocho euros con sesenta y cuatro céntimos
4.3.4	Impresión y encuadernación de los documentos	u	4,7 €	Cuatro euros con siete céntimos

5 CUADRO DE PRECIOS DESCOMPUESTOS

Código/N.º	Ud.	Denominación	Rendimiento	Precio	Importe
4.1		Planificación, puesta a punto y seguimiento del proyecto			
4.1.1	h	Revisión bibliográfica			
MO.EGIB	h	Estudiante GIB	1	12,32 €/h	12,32 €
Coste de mano de obra por hora					12,32 €
Coste total por hora					12,32 €
4.1.2	u	Instalación de programas y toma de contacto			
MO.EGIB	h	Estudiante GIB	10	12,32 €/h	123,2 €
M.PC	u	PC Sony VAIO SWF1521Q6EW	1	48,06 €	48,06 €
M.MO	u	Microsoft Office 365 (personal)	1	17,25€	17,25€
M.W	u	Windows 10 Home	1	9,06€	9,06€
M.M	u	Matlab 2017b (anual)	1	200 €	200 €
M.GP	u	GraphPad Prism 7 (licencia de estudiante)	1	32,22 €	32,22 €
Coste de mano de obra por unidad					123,2 €
Coste de material por unidad					429,79 €
Coste total por unidad					429,79 €
4.1.3	h	Reuniones para concretar aspectos y realizar seguimiento			
MO.EGIB	h	Estudiante GIB	1	12,32 €/h	12,32 €
MO.IS	h	Ingeniero superior	1	20,56 €/h	20,56 €
Coste de mano de obra por hora					32,88 €
Coste total por hora					32,88 €
4.2		Programación y obtención de resultados			

Estudio de la conectividad funcional y efectiva entre el hipocampo, cortezas entorrinal y prefrontal de rata mediante evaluación de la sincronización del ritmo theta

4.2.1	u	Desarrollo de scripts para el cálculo de los distintos parámetros y la obtención de resultados			
MO.EGIB	h	Estudiante GIB	60	12,32 €/h	739,2 €
MO.IS	h	Ingeniero superior	6	20,56 €/h	123,36 €
Coste de mano de obra por unidad					862,56 €
Coste total por unidad					862,56 €
4.2.2	u	Selección y limpiado de los registros			
MO.EGIB	h	Estudiante GIB	7	12,32 €/h	86,24 €
MO.IS	h	Ingeniero superior	3	20,56 €/h	61,68 €
Coste de mano de obra por unidad					147,92 €
Coste total por unidad					147,92 €
4.2.3	u	Obtención y análisis de los resultados			
MO.EGIB	h	Estudiante GIB	63	12,32 €/h	776,16 €
MO.IS	h	Ingeniero superior	4	20,56 €/h	82,24 €
Coste de mano de obra por unidad					858,4 €
Coste total por unidad					858,4 €
4.3	Redacción del documento y defensa del TFG				
4.3.1	h	Redacción de los documentos del proyecto			
MO.EGIB	h	Estudiante GIB	1	12,32 €/h	12,32 €
Coste de mano de obra por hora					12,32 €
Coste total por hora					12,32 €
4.3.2	u	Revisión y corrección de errores			
MO.EGIB	h	Estudiante GIB	15	12,32 €/h	184,8 €
MO.IS	h	Ingeniero superior	6	20,56 €/h	123,36 €
Coste de mano de obra por unidad					308,16 €

Estudio de la conectividad funcional y efectiva entre el hipocampo, cortezas entorrinal y prefrontal de rata mediante evaluación de la sincronización del ritmo theta

					Coste total por unidad	308,16 €
4.3.3	u	Preparación de la defensa				
MO.EGIB	h	Estudiante GIB	20	12,32 €/h	246,4 €	
MO.IS	h	Ingeniero superior	4	20,56 €/h	82,24 €	
					Coste de mano de obra por unidad	328,64 €
					Coste total por unidad	328,64 €
4.3.4	u	Impresión y encuadernación de los documentos				
M.ITFG	u	Impresión TFG	80	0,04 €	3,2 €	
M.ETFG	u	Encuadernación TFG	1	1,5 €	1,5 €	
					Coste de material por unidad	4,7 €
					Coste total por unidad	4,7 €

6 PRESUPUESTO DE EJECUCIÓN POR CONTRATA

Capítulo	Importe (€)
Capítulo 1. Planificación, puesta a punto y seguimiento del proyecto	1128,19 €
Capítulo 2. Programación y obtención de resultados	1868,88 €
Capítulo 3. Redacción del documento y defensa del TFG	1688,7 €
Presupuesto de ejecución material	4685,77 €
Gastos generales (13%)	609,15 €
Beneficio industrial (6%)	281,15 €
Suma	5576,07 €
IVA (21%)	1170,97 €
Presupuesto de ejecución por contrata	6747,04 €

