

ÍNDICE

Índice.....	1
Resumen	3
Resum.....	3
Abstract	4
Capítulo 1: Introducción	5
1.1. Anatomía básica del cerebro.....	5
1.2. Señales biomédicas de origen cerebral	7
1.2.1. Neuroelectrofisiología del encefalograma	7
1.2.2. Características del electroencefalograma	8
1.2.3. Adquisición/Registro del EEG	10
1.3. Conectividad cerebral	12
1.4. Estudios clínicos de fármacos	15
1.4.1. Mecanismo de acción y efecto del alprazolam.....	16
1.4.2. Historial de actuación del alprazolam	17
Capítulo 2: OBJETIVOS	19
2.1. Objetivo general	19
2.2. Objetivos específicos	19
Capítulo 3: METODOLOGÍA	21
3.1. Datos experimentales.....	21
3.1.1. Base de datos	21
3.1.2. Preprocesado	22
3.2. Filtrado de las señales	22
3.2.1. Elección del filtro	23
3.3. Sincronización de fase: el Phase-Lag Index	25
3.4. Weighted Phase-Lag Index.....	29
3.5. Imaginary Coherency	29
3.6. Estudios de fármacos	30
3.7. Análisis estadístico	30
Capítulo 4: RESULTADOS	33
4.1. Efecto farmacológico: resultados estadísticos	33
4.2. Comparación entre los índices de conectividad y la concentración plasmática de alprazolam.....	39

Capítulo 5: DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES	45
5.1. Análisis y discusión de resultados.....	46
5.2. Extensiones futuras	47
Capítulo 6: PRESUPUESTO	49
Capítulo 7: BIBLIOGRAFIA.....	51
7.1. Referencias Bibliográficas.....	51
7.2. Bibliografía de consulta.....	52
ANEXO 1	55
ANEXO 2.....	59

RESUMEN

Las técnicas de análisis del EEG se han convertido en una herramienta de gran utilidad para evaluar de la actividad cerebral e interacciones entre regiones corticales. Hasta el momento, se ha estudiado el efecto en de algunos fármacos en el EEG mediante análisis espectral y en menor medida mediante algunas técnicas lineales y no lineales de acoplamiento. Recientemente se han diseñado nuevos índices basados en las fases de la señal robustos a problemas como el retraso de fase y el volumen conductor, los cuales han demostrado buenos resultados en campos como el diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer. En el presente proyecto se ha estudiado el efecto del fármaco psicoactivo alprazolam mediante nuevas técnicas que no han sido anteriormente utilizadas para la determinar de la conectividad cerebral bajo fármacos, como son el Phase-Lag Index, el Weighted Phase Lag Index y la Imaginary Coherency, con el objetivo de evaluar la idoneidad y eficacia de los nuevos índices para el análisis de conectividad cerebral bajo la influencia de fármacos. Los resultados de estos tres índices sobre la sincronización en la banda alfa 1, una de las bandas más afectadas por el alprazolam, concuerdan con el efecto farmacológico medido por la concentración sanguínea.

RESUM

Les tècniques d'anàlisis del EEG s'han convertit en una eina de gran utilitat per avaluar l'activitat cerebral y les interaccions entre regions corticals. Fins a dia d'avui, s'ha estudiat l'efecte en alguns fàrmacs en el EEG mitjançant anàlisis espectral i en menor mesura algunes tècniques lineals i no lineals d'acoblament. Recentment s'han dissenyat nous índexs basats en les fases de la senyal robustos a problemes com el retard de fase i el volum conductor, els quals han demostrat bons resultats en camps com el diagnòstic de la malaltia de l'Alzheimer. En el present projecte s'ha estudiat el efecte del fàrmac psicoactiu alprazolam mitjançant noves tècniques que no han estat prèviament utilitzades per determinar la connectivitat sota efectes farmacològics, com son el Phase-Lag Index, el Weighted Phase-Lag Index i la Imaginary Coherency, amb l'objectiu d'avaluar la idoneïtat i eficàcia dels nous índexs per l'anàlisi de connectivitat cerebral amb fàrmacs. Els resultats d'aquests tres índexs en quant a la sincronització a la banda alfa 1, una de les bandes més afectades per l'alprazolam, concorda amb l'efecte farmacològic mesurat per la concentració sanguínia.

ABSTRACT

EEG analysis techniques have become a very useful tool to assess brain activity and the interactions between cortical regions. The effects of some drugs have, so far, been studied using spectral analysis and, to a lesser extent, some linear and non-linear techniques. New indexes have recently been designed based on the synchronization of phases. These indexes are more robust in phase lags and duct volume and have proved good results in some fields, such as diagnostics in Alzheimer illness. In this project it has been studied the effect of the psychoactive drug alprazolam using new techniques never used before in order to determine cerebral connectivity under drug effects, such as Phase-Lag Index, Weighted Phase Lag Index and Imaginary Coherency. The purpose is to assess the suitability and effectiveness of the new indexes for the brain connectivity analysis under the drug influence. The results of these three indexes of synchronization in the alpha-1 band, one of the most affected bands by alprazolam, match with the pharmacological effect measured by blood levels.

CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN

En éste capítulo se realiza una descripción de las ideas, métodos y conceptos generales para facilitar la comprensión del trabajo realizado y describir la terminología utilizada en el presente documento. Además, también se valora la importancia diagnóstica y clínica de los estudios mediante señales electroencefalográficas.

1.1. Anatomía básica del cerebro

El sistema nervioso central (SNC) está compuesto por dos estructuras conocidas como médula espinal y encéfalo, que se encargan de controlar todas las funciones del organismo enviando impulsos y flujos de información mediante varios tipos de células nerviosas organizadas. Se estima que tenemos entre 50 y 100 mil millones de neuronas [[Andreasi, 2000](#), [Williams y Herrup, 1988](#)], las cuales además de recibir la información captada por los receptores, la procesan y generan respuestas.

El encéfalo está compuesto por tres partes: el cerebro, el cerebelo y el tronco encefálico. El cerebro es la parte más voluminosa dividida en dos hemisferios y separados por un surco central llamado cisura longitudinal. La región más voluminosa e interna del cerebro se compone de una sustancia blanca estructurada por fibras nerviosas, donde los denominados surcos diferencian cuatro zonas llamadas lóbulos:

- El *lóbullo temporal*, que está básicamente relacionado con la memoria. La parte dominante engloba el recuerdo de palabras y nombres de objetos, mientras que la no dominante trata la memoria visual como el reconocimiento de caras e imágenes.
- El *lóbullo parietal*, que se encarga de procesar la información sensorial procedente de diversas partes del cuerpo, el conocimiento de los números, cálculos y manipulación de objetos.
- El *lóbullo frontal*, relacionado con el control de los impulsos, el juicio, la memoria funcional a corto plazo, el comportamiento sexual, las funciones motoras, la socialización y la espontaneidad. Ésta región regula la planificación, la conducta y la coordinación motora.
- Finalmente, en el *lóbullo occipital* reside las funciones visuales, por lo que esta región regula y procesa nuestra capacidad para ver, y también para interpretar lo que vemos.

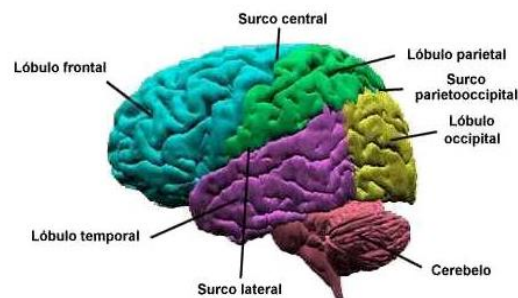


Figura 1. Lóbulos y surcos del encéfalo Reproducido de [Guerri et al, 2014]

Una parte de relevante importancia en el cerebro es la corteza cerebral. Se trata de un tejido nervioso externo a la sustancia blanca, formado por sustancia gris que envuelve los dos hemisferios, en la cual se desarrollan la percepción, imaginación, memoria, el juicio y la decisión. Está circunvolucionado, por lo que se calcula que su superficie total podría alcanzar aproximadamente 2500 cm². Es una zona que incluye alrededor de 10.000 millones de neuronas que producen 50 trillones de sinapsis, por lo que se considera un área de gran actividad neuronal. Tiene un espesor entre 2 y 4 mm y se divide en 6 capas diferenciadas por su densidad y la disposición de las células que contienen. La corteza se compone de cinco tipos de células: piramidales, estrelladas, fusiformes, horizontales de Cajal, y de Marinotti. Las más abundantes son las piramidales, las cuales están direccionadas perpendicularmente a la superficie de la corteza y actúan como dipolos [Romano, 2012].

En 1909 se empezaron a diferenciar áreas definidas y numeradas en la corteza por su citoarquitectura, es decir, por la disposición de las células. Dichas regiones se conocen como áreas de Brodmann. Posteriores estudios de estimulación cortical demostraron que las 52 áreas propuestas por Korbinian Brodmann en sus inicios, se asocian a diversas funciones de nuestro organismo

como el sistema motor, sensitivo, visual, etc. Gracias al conocimiento de éstas regiones asociadas a funciones concretas y a la capacidad de leer las señales de origen cerebral se pueden diagnosticar, estudiar y analizar patrones o alteraciones en zonas localizadas, para un posterior tratamiento o avance científico-médico [Irauarizaga y Miguel, 1999].

1.2. Señales biomédicas de origen cerebral

Las señales eléctricas de origen cerebral se pueden registrar dando lugar a lo que se conoce como electroencefalograma (EEG). La electroencefalografía es una técnica que consiste en la medición del voltaje generado por la actividad cerebral, que puede registrarse mediante electrodos a nivel sobre el cuero cabelludo (de manera mínimamente invasiva) o a nivel interno (de manera invasiva).

1.2.1. Neuroelectrofisiología del encefalograma

La neurona es la unidad estructural y funcional más pequeña del sistema nervioso cuya principal característica es la excitabilidad de su membrana plasmática. Se trata de una célula especializada en la recepción de estímulos y en la conducción de impulsos nerviosos, formada por el soma (el cuerpo celular), el axón (la parte más larga, por donde viajan los impulsos), y las dendritas, que salen del soma y son las prolongaciones receptoras.

La comunicación neuronal o transmisión de información que constituye el lenguaje básico del sistema nervioso se conoce como sinapsis. Ésta hace referencia a la conexión entre dos neuronas, una pre-sináptica o transmisora y otra post-sináptica o receptora del estímulo. La sinapsis puede ser eléctrica o química. En la eléctrica se transmite por un potencial de acción que fluye por los canales proteicos unidos (llamados conexones) entre la presináptica y la postsináptica, y dicha transmisión puede ser bidireccional. La sinapsis química tiene un espacio sináptico entre las dos neuronas donde pasan los neurotransmisores de una membrana a otra, y este caso la comunicación es unidireccional.

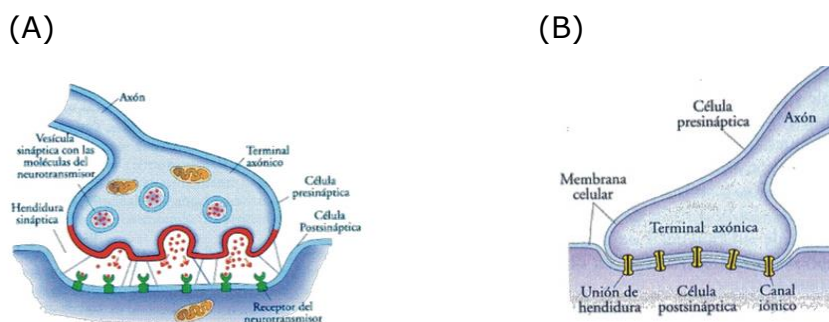


Figura 2. (A) Sinapsis química. (B) Sinapsis eléctrica. Reproducido de [Giovanna, 2011]

La activación de los canales proteicos es debida al cambio morfológico inducido por un neurotransmisor y deriva en un potencial de acción que se propaga a lo largo de la membrana plasmática de la célula nerviosa. El potencial en reposo de la membrana es de -70 mV, y aumenta por la recepción de un estímulo externo hasta un umbral (-60 mV) a partir del cual se produce la propagación a lo largo del axón independientemente de su intensidad.

Existen dos tipos de propagación del potencial de acción:

- Potencial Post-Sináptico Excitatorio, producido cuando el neurotransmisor abre los canales de sodio y la membrana se despolariza.
- Potencial Post-Sináptico Inhibitorio, debido que el neurotransmisor abre los canales de potasio y/o de cloro, produciendo la hiperpolarización de la membrana.

Los potenciales individuales se suman en el tiempo y espacio. La suma temporal sucede cuando dos o más impulsos llegan a la misma neurona con una diferencia temporal y provienen del mismo terminal. La suma espacial sucede cuando dos o más impulsos llegan a terminales diferentes de la misma neurona. La propagación de todos los potenciales de acción genera una intensidad de corriente que circula a grandes velocidades en las redes neuronales, razón por la cual es posible captar una diferencia de potencial entre dos puntos de la corteza.

Se considera que la diferencia de voltaje registrada en los electrodos es debida a la excitabilidad de las células piramidales de la corteza cerebral, orientadas perpendicularmente a la superficie de la misma, que actúan como dipolos eléctricos por su morfología, y contribuyen sumando sus potenciales de acción. Dado que en un registro normal se recoge la actividad de miles de neuronas, para poder conseguir una actividad global mínima se requiere la sincronización de éstas.

1.2.2. *Características del electroencefalograma*

El registro de EEG presenta características comunes variables como la amplitud y la frecuencia. Poseen una amplitud de 10 mV aproximadamente en registros invasivos sobre el córtex cerebral, mientras que sobre el cuero cabelludo disminuye entre 10 μ V y 500 μ V, clasificable como baja (inferior a 30 μ V), media (de 30 a 70 μ V) y alta (superior a 70 μ V) [[Astolfi et al, 2010](#)].

En general las frecuencias se mueven entre 0,5 y 40 Hz y dependen del grado de actividad del córtex. Desde los inicios de la electroencefalografía se han descrito cinco tipos de ondas o ritmos característicos pero no hay unanimidad clara en la definición de sus rangos de frecuencia (véase figura 3).

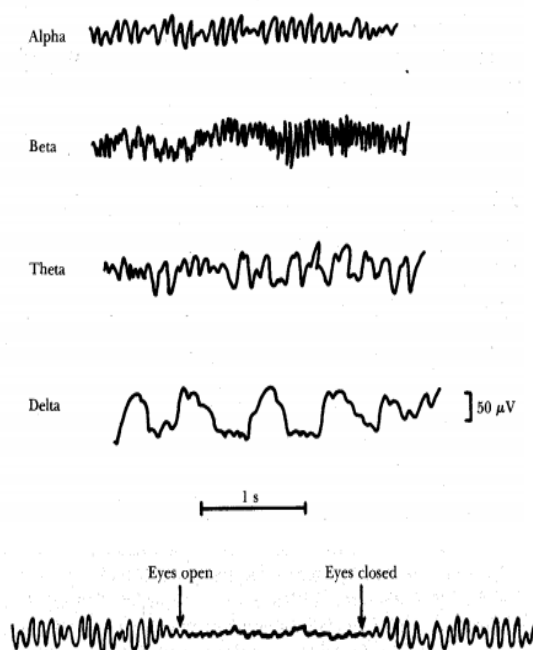


Figura 3. Frecuencias típicas EEG. Reproducido de [Alonso et al, 2010]

Ritmos característicos EEG:

Delta (δ) – Oscilaciones con frecuencias menores a 3,5 Hz, normalmente de gran amplitud que son un elemento característico del sueño profundo o de condiciones patológicas como el coma o algunas formas tumorales. Su amplitud varía entre 20 y 200 μ V.

Theta (θ) – Frecuencias de 3,5 a 7,5 Hz, con gran amplitud, que se registran durante algunos estados de sueño en niños y adolescentes, y también relacionadas con estados de placer, disgusto o somnolencia. De localización principalmente parietal y temporal, su amplitud varía entre 5 y 100 μ V.

Alfa (α) – Oscilaciones con frecuencias entre 7,5 y 13 Hz, se registran en pacientes despiertos sin realizar actividades y en estado de relajación. Amplitud entre 10 y 200 μ V y principalmente localizadas en la zona occipital.

Beta (β) – Ritmos oscilatorios con frecuencias entre 13 y 35 Hz. Aparecen en las zonas parietal y frontal del córtex. Se relacionan con tareas de gran actividad física y mental con un estado de concentración elevado y con diferentes patologías.

Gamma (γ) – Este ritmo hace referencia a aquellas frecuencias de oscilación superiores a 35 Hz, que aparecen cuando el estado mental es de elevada concentración, elevada atención, en la resolución de problemas, y la percepción de estímulos. Es el ritmo con menor amplitud junto con la banda beta, y puede variar entre 1 y 20 μ V.

En el registro del EEG se deben considerar varios tipos de artefactos que influyen directamente en el análisis de la señal registrada y en el diagnóstico. Entre ellos se encuentran los producidos por los movimientos musculares y oculares, la sudoración, la respiración, el pulso, los propios electrodos, la impedancia de la piel, el suministro eléctrico (interferencia de 50Hz) y otros problemas técnicos, como se puede apreciar en la figura 4. Estas alteraciones de la señal deben ser tratadas con un preprocesado antes de analizar la señal para realizar un diagnóstico adecuado [Casado y Serrano, 1997].

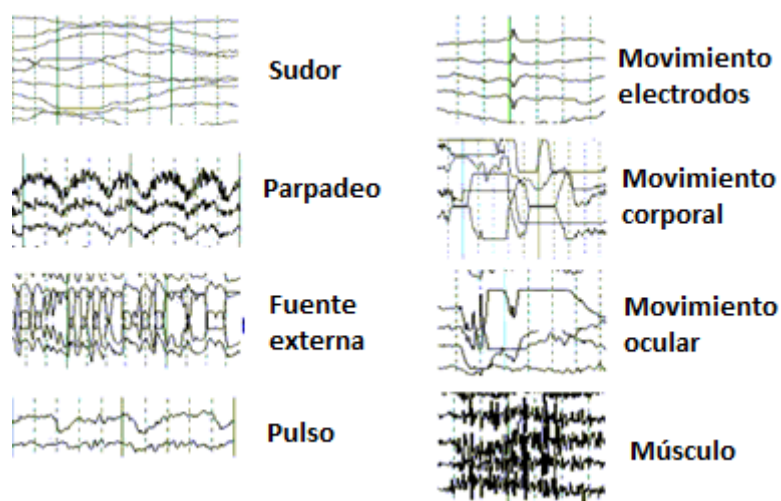


Figura 4. Alteración en señales EEG debidas a artefactos. Modificación de [Guzman (Neurofisiología Granada)]

1.2.3. Adquisición/Registro del EEG

La señal electroencefalográfica se define como la expresión en tiempo continuo de la diferencia de potencial registrada entre cada uno de los electrodos y el electrodo de referencia. Pueden captarse mediante diversos procedimientos: sobre el cuero cabelludo, en la base del cráneo, en la corteza cerebral y en localizaciones profundas del cerebro.

La configuración más habitual es la no invasiva, según la cual se colocan los electrodos sobre el cuero cabelludo en unas posiciones estandarizadas. Esta estandarización es extremadamente importante para minimizar la variabilidad de las señales y facilitar su interpretación y comparación entre diferentes estudios. El denominado "Sistema internacional 10-20" fue determinado en los años 50 para globalizar la comparación de resultados. El nombre deriva de la colocación de los electrodos en las posiciones separadas bien un 10% o un 20% de los puntos anatómicos de referencia (nación y inión, véase la figura 5). Siguiendo este sistema se codifica el nombre de los electrodos con letras que hacen referencia a la zona anatómica (Fp=frontal polar, F=frontal, T=temporal, P=Parietal, O=occipital), mientras que su número asociado es par para el hemisferio derecho e impar para el izquierdo, y para los electrodos de la línea central se utiliza la letra z en lugar de un número. Habitualmente en el sistema internacional se utilizan 19 posiciones para el registro de EEG, aunque suelen

registrarse más canales de forma simultánea, en función de las posibilidades del amplificador utilizado, por ejemplo para adquirir otras señales de interés como el electroculograma.

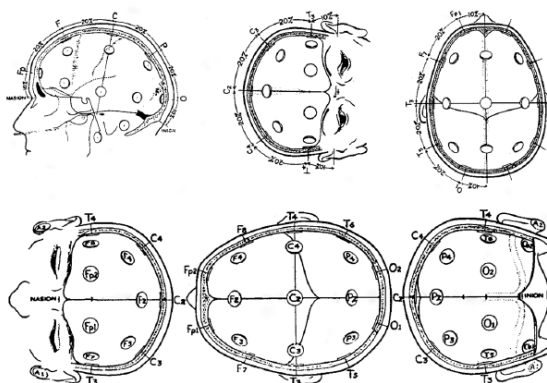


Figura 5. Sistema Internacional 10-20. Reproducido de [Alonso et al, 2007]

La selección del electrodo de referencia en la adquisición de las señales es también crucial para su posterior análisis comparativo con otros estudios, puesto que depende de éste la morfología y el voltaje de la señal registrada. El más utilizado es el denominado “promediado mastoides”, que consiste en referenciar todos los canales al promedio de las señales registradas en ambos mastoides (tras las orejas), y que ha sido la referencia utilizada en este estudio.

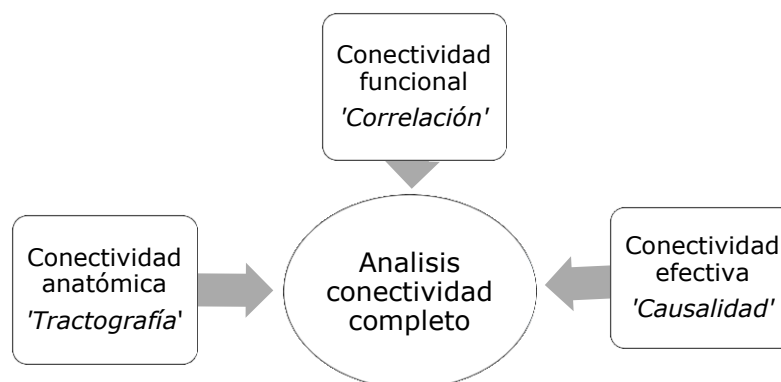
Sin embargo, existen otras opciones e incluso otras alternativas que pueden obtenerse una vez ya registradas las señales, como el promedio común (consistente en referenciar cada uno de los canales al promedio de todos ellos), u otros tipos de filtrado como el laplaciano superficial que calcula una estimación de la densidad de corriente radial que atraviesa el cuero cabelludo en un punto restando la influencia de los demás electrodos [Astolfi et al, 2010] y que pueden ser adecuados para estudios centrados en la actividad focal.

Registrar las señales EEG desde el cuero cabelludo tiene la desventaja que existen varias capas con conductividades diferentes entre el electrodo y la fuente de potenciales corticales que cubre, además el EEG proporciona una proyección bidimensional de una realidad tridimensional y la propagación de un mismo foco a dos puntos dónde registramos la señal puede dar lugar a falsos positivos de acoplamiento entre las señales. Éste problema sumado a la propagación por tejidos externos al cerebro en el análisis de señales EEG registradas en el cuero cabelludo se le conoce como volumen de conducción (VC) [Sherman y Walterspacher, 2006].

1.3. Conectividad cerebral

El rápido procesamiento del flujo de información que lleva a cabo nuestro cerebro es debido a la existencia de una conectividad entre sus diferentes regiones, lo que nos permite ver y entender que sucede a nuestro alrededor y actuar en consecuencia. Mediante el análisis de esta conectividad podemos desde evaluar cambios en el EEG en pacientes con patologías concretas, a evaluar, como en este trabajo, como afecta un fármaco a las diferentes regiones cerebrales para entender en que zona aparecen efectos inducidos por éste. Existen tres niveles de conectividad, conocidos como conectividad anatómica, funcional y efectiva:

- La *conectividad anatómica* se refiere a las conexiones a nivel celular que permiten el intercambio de impulsos, lo cual deriva en un flujo de información procesable. La caracterización de esta conectividad engloba el número de conexiones sinápticas, el tipo de red (excitadora, inhibidora o moduladora) y todas las diferencias a nivel estructural.
- La *conectividad funcional* se basa en la dependencia estadística entre grupos de neuronas que representan la actividad neuronal. Suele estudiarse mediante medidas no direccionales, como por ejemplo la correlación, que tratan de cuantificar el nivel de interacción o similitud electrofisiológica entre dos o más regiones cerebrales.
- La *conectividad efectiva* en cambio, recoge los parámetros de la conectividad funcional y además le aporta una dirección de causalidad entre regiones. Es decir, puede detectar que una zona previamente activa ha influenciado a la activación o aumento de actividad de otra zona siempre con una interacción causal.



Este proyecto se centra en el análisis del EEG mediante medidas de conectividad funcional. Existen diversos tipos de técnicas para estudiar la conectividad funcional las cuales se cuantifican diferentes aspectos de un mismo fenómeno. A continuación se describen algunas de las más utilizadas:

- **Correlación cruzada:**

Esta técnica mide la similitud de dos señales comparándolas y desplazándolas en el tiempo con un retraso aplicado a una de ellas. Se calcula en tiempo discreto con las señales $x[n]$ e $y[n]$ utilizando la siguiente ecuación:

$$r_{xy}(k) = \sum_{n=-\infty}^{\infty} x[n]y[n-k] \quad (1)$$

- **Coherencia espectral**

La coherencia mide en el dominio de la frecuencia el acoplamiento o dependencia lineal de dos señales. Se define como la densidad espectral cruzada de dos señales (elevada al cuadrado), normalizada por el producto de las densidades espectrales individuales:

$$C_{xy}(f) = C_{yx}(f) = \frac{|S_{xy}(f)|^2}{|S_{xx}(f)||S_{yy}(f)|} \quad (2)$$

donde S indica la densidad espectral. El valor de la coherencia se encuentra en el intervalo $[0,1]$, de manera que un valor $C_{xy}(f_0) = 0$ indica una actividad independiente entre las señales a una determinada frecuencia, y $C_{xy}(f_0) = 1$ una máxima correlación.

- **Entropía condicional**

En el ámbito de la Teoría de la Información, se define la entropía como la información media que contiene una variable aleatoria, y por extensión una señal. Una entropía alta se debe interpretar como la repetición aperiódica dinámica en una señal o la baja repetición de patrones periódicos, mientras que una entropía baja se asocia a una señal con comportamiento totalmente predecible y determinista [[Papoulis y Pillai, 2002](#)]

La entropía condicional hace referencia a la entropía residual que tiene una variable aleatoria en función del conocimiento de una segunda variable aleatoria.

$$H(X|Y) = H(X,Y) - H(Y) \quad (3)$$

El resultado de esta técnica nos informa de cuanto independiente es una variable de la otra, es decir, la cantidad de entropía independiente de la variable X respecto a la variable Y .

- **Información mutua cruzada**

Es una función estadística basada en la entropía de Shannon de dos variables, que puede considerarse el equivalente no lineal de la correlación cruzada. Mide cuantitativamente cuanta información gana una variable aleatoria a partir del conocimiento de una segunda variable aleatoria distinta [Alonso et al, 2011].

Al contrario de la entropía condicional como refleja la figura 6, medimos la información común o compartida entre las variables X e Y.

$$I_{XY} = H(X) - H(X|Y) \quad (4)$$

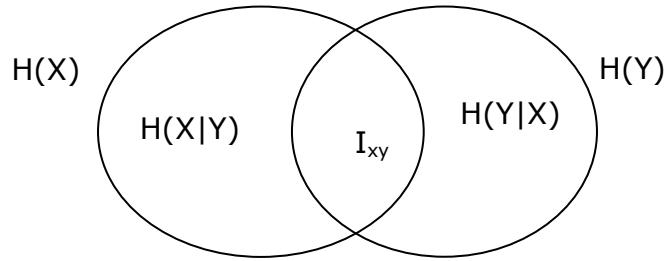


Figura 6. Entropía condicional e información mutua

- **Phase Coherence (PC)**

Es un índice de sincronización de fases. Se obtiene mediante la proyección de las diferencias de fases instantáneas en el círculo unitario en el plano complejo y calculando el valor absoluto de la diferencia de fases media entre dos señales. La longitud R del vector promedio resultante se puede calcular con la ecuación:

$$R = \langle e^{i\Delta\varphi} \rangle = \left| \frac{1}{N} \sum_{k=0}^{N-1} e^{i\Delta\varphi(t_k)} \right| \quad (5)$$

Siendo t_k los instantes en tiempo discreto y N el número de muestras [Mormann, 2000].

- **Imaginary Coherency(IC)**

La parte imaginaria de la coherencia es una medida de sincronización de fases que depende de la fuerza de acoplamiento así como de la magnitud de la diferencia de fases. Una propiedad importante de la IC es su robustez al volumen de conducción y se calcula mediante la siguiente ecuación:

$$C(x, y) = \frac{X(f)Y(f)^*}{\sqrt{(X(f)X(f)^*) * (Y(f)Y(f)^*)}} \quad (6)$$

Siendo $X(f)$ e $Y(f)$ las transformadas de Fourier de las señales $x(t)$ e $y(t)$ [Nolte et al, 2004].

- **Phase-Lag Index (PLI)**

Se basa en una medida de asimetría de la distribución de las fases entre dos señales. Bajo el concepto de sincronización de fases, se establece un índice de conectividad basado en el signo de la diferencia de fases instantánea. Se calcula en el dominio temporal mediante la siguiente ecuación [[Stam et al, 2007](#)]:

$$PLI = | \langle \text{sign}[\Delta\phi(t_i)] \rangle | \quad (7)$$

1.4. Estudios clínicos de fármacos

Actualmente la mayoría de fármacos son compuestos sintéticos, diseñados para desarrollar una acción específica en el organismo. Para que sea posible calcular el tiempo que dura el efecto de esta acción, las dosis que deben administrarse, y los períodos de actuación, es imprescindible la realización de estudios clínicos farmacológicos. Los estudios previos a lanzar el fármaco al mercado son estrictos y se componen de varias fases de prueba en animales y posteriormente en humanos.

Los estudios electroencefalográficos, previos y posteriores a la administración de fármacos psicoactivos, constituyen un análisis complementario al clínico que permite obtener más información sobre la zona o zonas cerebrales donde actúa en mayor intensidad, y también evaluar como varía la conectividad entre regiones debido a los efectos farmacológicos.

Una de las familias de fármacos psicoactivos más prescrita en los países industrializados es la de las benzodiacepinas, dentro de la cual se encuentran fármacos indicados para la terapia de ansiedad, insomnio, epilepsia, abstinencia alcohólica y espasmos musculares. Actúan sobre el sistema nervioso central, con efectos sedantes hipnóticos, ansiolíticos, anticonvulsionantes y miorrelajantes.

El alprazolam es un ansiolítico con propiedades hipnóticas relajantes musculares, anticonvulsionante además de ejercer una actividad específica en crisis de angustia y ansiedad [[Vademecum](#)]. La ansiedad es un sistema de alerta del organismo vinculado a la percepción de amenazas o peligros externos y con la disposición de respuesta del organismo frente a éstas. Aparece frecuentemente en trastornos psiquiátricos de varios tipos, como la depresión o trastornos de conducta, por lo que es importante hacer una evaluación del síntoma para recetar el tipo de ansiolítico adecuado.

1.4.1. Mecanismo de acción y efecto del alprazolam

Pertenece a un tipo de fármacos llamados benzodiacepinas (BZD) clasificados como psicotrópicos, las cuales actúan en el SNC disminuyendo la actividad cerebral. Dentro de las BZD se distinguen diversos grupos dependiendo de los radicales de su molécula, en el caso del alprazolam hablamos de la clase triazolobenzodiacepinas.

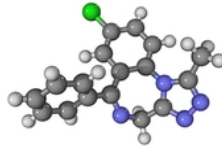


Figura 7. Molécula de alprazolam. Reproducido de SciencePhoto Library

Las BZD actúan mediante la interacción de un complejo receptor cerebral conocido como benzodiazepínico-GABA. El ácido gamaminobutírico (GABA) es un neurotransmisor que actúa sobre dos subtipos de receptores, el alprazolam concretamente actúa solo sobre el subtipo GABA-A. La unión del fármaco a éste receptor genera una sensibilización de los receptores postsinápticos aumentando la entrada de Cl^- . Además inhibe la transmisión del estímulo debido a la hiperpolarización inducida por un cambio negativo del potencial de membrana.

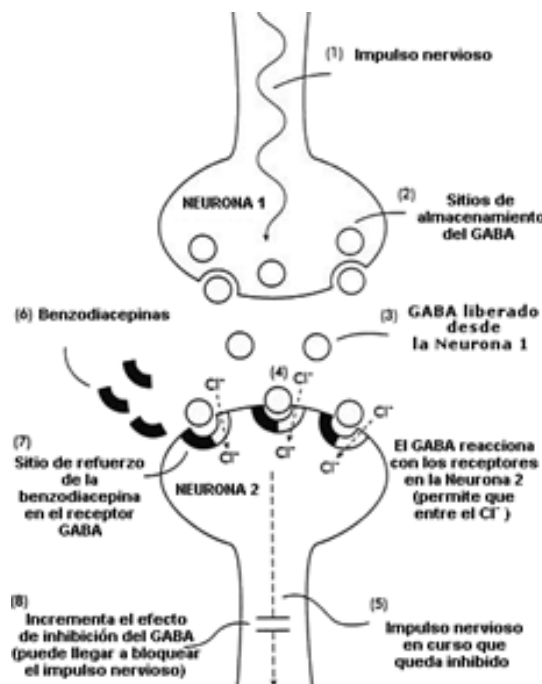


Figura 8. Mecanismo de acción de Alprazolam. Reproducido de [Heather, 2002]

La sensación de ansiedad es debida a una manipulación anormal de los receptores GABA-a, así como de otras partes del cerebro. El alprazolam no cura la alteración fisiológica de los receptores, pero genera un bloqueo de la actividad y así previene ataques de pánico, depresión y alivia al paciente cuando se sufren los síntomas.

1.4.2. *Historial de actuación del alprazolam*

Farmacocinética

El alprazolam se absorbe con rapidez después de su administración por vía oral, alcanzándose unas concentraciones plasmáticas máximas al cabo de 1 hora de la administración por dicha vía. Tras una dosis única, los niveles en plasma son proporcionales a la dosis: con dosis de 0,5 a 3 mg se observan niveles de 8 a 37 ng/ml. Durante la administración repetida de 1,5 a 10 mg/día, en dosis divididas, los niveles en equilibrio fueron de 18,3 a 100 ng/ml. La vida media del alprazolam es de 12-15 horas. Tanto el fármaco como sus metabolitos son excretados principalmente por orina [[Greenblatt y Wright, 1993](#)].

Efectos sobre el EEG

En colaboración con el Centre d'Investigació de Medicaments (CIM) del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, el Centre de Recerca d'Enginyeria Biomédica (CREB) de la Universitat Politècnica de Catalunya ha realizado diversos estudios de análisis de señales EEG mediante técnicas lineales y no lineales tras la administración de alprazolam, en los cuales se han utilizado las siguientes técnicas de procesamiento de señal:

- Análisis espectral [[Barbanoj et al, 1994](#)].
- Información mutua [[Alonso et al, 2010](#)]
- Coherencia espectral y entropía condicional [[Alonso et al, 2011](#)]

Mediante el análisis espectral en señales EEG después de la ingesta de alprazolam se ha averiguado que disminuye potencia absoluta y relativa en la banda de frecuencia alfa 1 (7,5 a 10,5 Hz). Esta reducción de la actividad alfa suele asociarse a una disminución del estado de alerta o vigilancia. Por otra parte también se ha observado un incremento en la potencia absoluta y relativa en la banda de frecuencia beta (13 a 35 Hz), lo cual se asocia a aumentos de eficacia cognoscitiva [[Barbanoj et al, 1994, 2006](#)].

CAPÍTULO 2: OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

El objetivo principal del estudio desarrollado en este trabajo final de grado nace de la necesidad de evaluar nuevas técnicas de procesamiento de señal aparecidas recientemente en el campo de la conectividad cerebral, que han demostrado buenos resultados en otros campos como el diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer, pero que hasta el momento no han sido aplicadas en estudios farmacológicos.

Por lo tanto, el objetivo general de este proyecto es estudiar los efectos del fármaco psicoactivo alprazolam en la conectividad cerebral mediante nuevas técnicas de procesamiento de señal EEG no aplicadas hasta la actualidad en estudios de fármacos, como son el *phase-lag index* y la *imaginary coherence*.

2.2. Objetivos específicos

Los objetivos específicos de este trabajo final de grado incluyen tanto aquellos que se pueden considerar más académicos, relacionados con las diferentes competencias adquiridas tanto durante la realización de los estudios del Grado de Ingeniería Biomédica como durante la realización de este mismo trabajo final, así como los aspectos que pueden considerarse más científicos relacionados con la aplicación de las técnicas mencionadas en el punto anterior.

Por todo esto, los objetivos específicos planteados son los siguientes:

- Conocer más detalladamente la fisiología y anatomía cerebrales, los diferentes conceptos de conectividad cerebral, partiendo de la base de las asignaturas de Fisiología, Biología, y Neurociencia Industrial.
- Utilizar, desarrollar y ampliar los conocimientos adquiridos de programación en general y de MATLAB en particular, de una forma más independiente, ingeniosa y práctica.
- Utilizar y desarrollar herramientas de procesamiento de señal para el análisis de señales EEG integrando y ampliando los conocimientos teóricos y prácticos adquiridos en la asignatura de Procesado de Señales Biomédicas.
- Directamente relacionado con el punto anterior, implementar índices de conectividad cerebral que no ha sido aplicados con anterioridad, para evaluar su utilidad en el estudio de los efectos psicofarmacológicos del alprazolam.
- Desarrollar la capacidad para interpretar los resultados obtenidos mediante las técnicas de conectividad funcional aplicadas.
- Y finalmente, relacionar e integrar conocimientos de las distintas materias necesarias para desarrollar adecuadamente este trabajo final de grado.

CAPÍTULO 3: METODOLOGÍA

3.1. Datos experimentales

3.1.1. *Base de datos*

En este trabajo final de grado se ha utilizado una base de datos adquirida con anterioridad a la realización del mismo, la cual había sido sometida a un procedimiento de reducción de artefactos y etiquetado para su posterior estudio.

Esta base de datos fue adquirida en el *Centre d'Investigació de Medicaments (CIM)* del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau de Barcelona, y está compuesta por registros realizados a nueve voluntarios sometidos a dos sesiones, una con la administración de una dosis de 1 mg de alprazolam y la otra con una dosis placebo, de forma aleatoria siguiendo un estudio de doble-ciego. Entre sesión y sesión transcurrió un periodo de descanso de una semana.

Las edades de los voluntarios oscilaban entre 20 y 23 años, y todos presentaban una buena condición de salud. Se les prohibió el consumo de alcohol, tabaco y cafeína durante las 48 horas previas a cada una de las sesiones de registro.

Durante cada sesión se adquirieron 3 minutos de EEG con una frecuencia de muestreo de 100 Hz (filtro antialiasing con frecuencia de corte de 40 Hz), mediante la colocación de los electrodos como describe el Sistema Internacional 10-20. En total se adquirieron siete registros para cada sesión, el primero considerado el registro basal, es decir, previo a la administración del fármaco.

Los siguientes instantes de registro tras la ingestión del fármaco fueron: 30 minutos, 45 minutos, 1 hora, 1,5 horas, 2,5 horas y 4 horas. Todos los registros se tomaron con los ojos cerrados y en reposo, siempre con la vigilancia de los técnicos para mantenerles despiertos.

Justo después de cada registro de EEG se realizaron extracciones de sangre para determinar la concentración plasmática de fármaco.

3.1.2. Preprocesado

Las señales adquiridas se sometieron a un preprocesado consistente en dos etapas para la reducción de los artefactos oculares y la detección de tramos con artefactos:

- *Eliminar artefactos por el movimiento ocular:* Se utilizó un algoritmo basado en separación ciega de fuentes (*Blind Source Separation*, BSS) que separa la señal en sus componentes independientes y, tras la eliminación de aquellas componentes asociadas a los movimientos oculares, permite reconstruir las señales minimizando el efecto de estas interferencias [Romero et al, 2008].
- *Algoritmo automático para la detección de artefactos* [Anderer et al, 1992]. Se diseñó para trabajar en tramos de 5 s de señal, basado en tres criterios: máxima amplitud de 150 μV , máxima potencia entre 35 y 40 Hz de 25 μV^2 , y ratio de potencia de las bandas alfa y delta superior a un umbral variable determinado por la amplitud de la señal y la potencia de alfa de la misma señal.

En el presente trabajo, una vez reducidos los artefactos oculares y detectados los tramos con presencia de otros artefactos, se seleccionaron tramos de 30 segundos libres de artefactos. A continuación se filtraron todas las señales mediante un filtro paso-banda de Chebyshev inverso de orden 16, con frecuencias de corte situadas a 0,5 y 35 Hz, realizando una doble pasada para eliminar la distorsión de fase característica de los filtros con respuesta impulsional infinita.

Finalmente, y puesto que los índices de interés en este trabajo, que se presentan más adelante, suelen obtenerse en tramos cortos de señal [Stam et al, 2004; Vink et al, 2011], se seleccionaron los primeros tramos de 5 segundos para su análisis posterior, dentro de los segmentos libres de artefactos.

3.2. Filtrado de las señales

Puesto que se conoce que los efectos principales del alprazolam sobre los distintos ritmos del EEG se concentran en una reducción de la potencia en la banda alfa 1 y un incremento de la potencia en la banda beta [Barbanoj et al, 2007], se ha sometido los registros EEG a una nueva etapa de filtrado para obtener las señales correspondientes a las bandas de interés.

Dado que los resultados obtenidos con medidas de conectividad cerebral no tienen por qué coincidir con los resultados del análisis espectral, también se han obtenido las señales correspondientes a las ondas lentas, de manera que el análisis se ha realizado en las bandas de frecuencia que se especifican en la tabla siguiente:

Banda	Frecuencia
Ondas lentas (OL)	0,5 a 7,5 Hz
Alfa 1 (AL1)	7,5 a 10,5 Hz
Beta (B)	13 a 35 Hz
Banda Completa (BC)	0,5 a 35 Hz

Tabla 1. Frecuencias filtradas y analizadas

3.2.1. Elección del filtro

Para obtener estas señales se ha elegido de nuevo el filtro de Chebyshev inverso (o de tipo II), que presenta un rizado constante en la banda de rechazo y una caída monótona en la banda pasante. Este filtro tiene una transición más abrupta entre banda pasante y atenuada para el mismo orden que un filtro de Butterworth (o de manera equivalente, menor orden para idéntica transición, lo que se traduce en una mayor velocidad de ejecución), pero sigue siendo maximalmente plano en la banda pasante, de manera que la distorsión introducida es menor que la de un filtro de Chebyshev tipo I o un filtro óptimo.

Programación del filtro

Para evitar los errores de redondeo que se producen en el diseño de filtros mediante las funciones clásicas de MATLAB como 'butter' y 'cheby2', se utilizaron los métodos de diseño basados en objetos que utiliza la propia herramienta gráfica 'fdatool' de MATLAB. Mediante 'fdesign.bandpass' pasamos los parámetros de frecuencias de corte, atenuaciones, frecuencia de muestreo y obtenemos un objeto que ya contiene los métodos de diseño.

Mediante la función 'design' podemos indicar la estructura de filtro deseada al objeto calculado anteriormente, de manera que se obtienen las matrices de coeficientes de etapas de segundo orden y de ganancias con las que ya se puede realizar el filtrado directamente. En algunos casos es necesario reordenar las etapas, por ejemplo de menos a más selectiva, para asegurar un filtrado correcto y evitar artefactos producidos por inestabilidad de alguna de las etapas. Para eliminar la distorsión de fase utilizamos la función 'filtfilt', que realiza automáticamente el filtrado de doble pasada. Veamos el código para el caso de alfa 1 (7,5 – 13 Hz):

```
Fstop1 = 7.45;
Fpass1 = 7.5;
Fpass2 = 10.5;
Fstop2 = 10.55;
Astop1 = 20;
Apass = 1;
Astop2 = 20;
match = 'passband';

% FDESIGN
h = fdesign.bandpass(Fstop1, Fpass1, Fpass2, Fstop2, Astop1, Apass,
Astop2, freqMostreig);
AL1 = design(h, 'cheby2', 'MatchExactly', match, 'SystemObject' true);
reorder(AL1, 'up');

% FILTRAR LA SEÑAL
senalFiltrat = filtfilt(AL1.SOSMatrix, AL1.ScaleValues, senyal);

DISEÑO FILTRO BANDA COMPLETA (0.5 a 35 HZ)
Fstop1 = 0.4;           % First Stopband Frequency
Fpass1 = 0.5;           % First Passband Frequency
Fpass2 = 35;            % Second Passband Frequency
Fstop2 = 35.05;         % Second Stopband Frequency
Astop1 = 20;            % First Stopband Attenuation (dB)
Apass = 1;              % Passb
```

Así obtenemos los filtros en las cuatro bandas de frecuencia presentadas anteriormente. La figura siguiente compara la señal original con la filtrada mediante los cuatro filtros diseñados (véase figura 9):

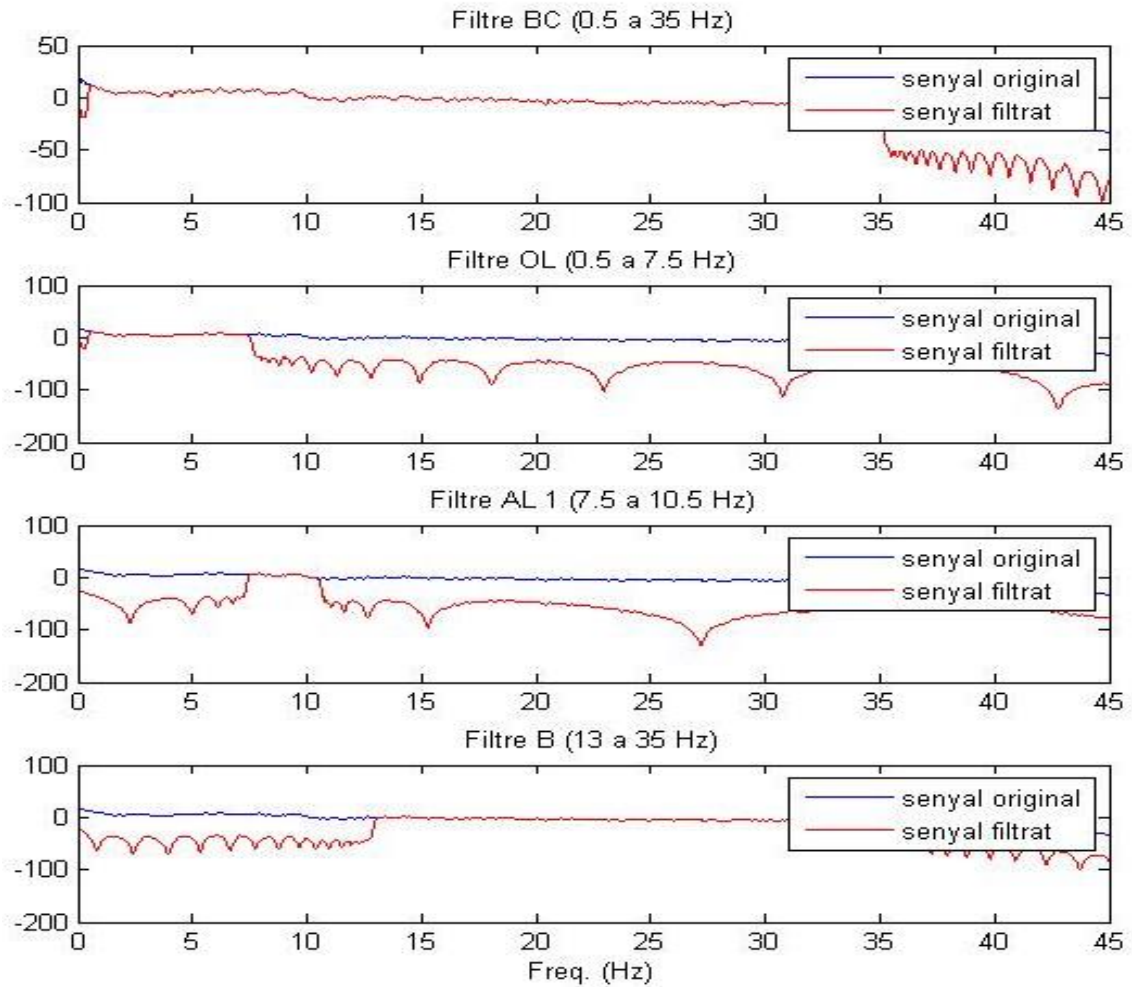


Figura 9. Espectros correspondientes a una señal EEG y sus correspondientes señales filtradas en las bandas indicadas en la tabla 1.

3.3. Sincronización de fase: el Phase-Lag Index

Existen muchas y diferentes medidas de sincronización de fase que pueden aplicarse a todo tipo de señales, incluidas las biomédicas. El Phase-Lag Index (PLI) es una de las más recientes e innovadoras, y como todas ellas sirve como instrumento para cuantificar el nivel de sincronización entre dos señales. Fue propuesto y desarrollado en 2007 con el fin de evitar el problema del volumen de conducción y los electrodos de referencia en medidas de conectividad funcional [Stam et al, 2007].

La aparición de este índice se debe principalmente a que en los estudios de conectividad funcional suelen presentar algunos problemas y fuentes de error que pueden afectar a la correcta determinación de la interacción entre zonas cerebrales. Dos de los más importantes son el retraso de fase y volumen de conducción:

- El *retraso de fase* se debe a que las regiones del cerebro que se comunican, lo hacen mediante un medio físico biológico, las neuronas. Por lo tanto, algunos autores defienden que la comunicación no debería ser instantánea, sino que aparece un retraso entre las dos regiones comunicadas cuando registramos las señales [Nolte et al, 2004].
- Por *volumen de conducción (VC)* se entiende la influencia de un foco en dos regiones de la corteza. Ésta misma influencia en dos puntos da lugar a falsos resultados de correlación, dado que puede no existir conectividad directa o 'real' entre ellos pero los cálculos afirman lo contrario por ese foco común.

Para intentar superar estos inconvenientes se propuso el PLI, una medida de sincronización de fases que no se ve afectada por estos fenómenos, y que originalmente fue comparado con la coherencia de fase (que sí se ve afectada) y otra medida de conectividad llamada *imaginary coherence* (la parte imaginaria de la coherencia espectral), que también es insensible a los efectos del volumen conductor [Stam et al, 2007; Nolte et al, 2004].

Sincronización de fases

El concepto de sincronización de fases se basa en la idea de que dos señales están acopladas o tienen una relación influyente cuando la diferencia de fases es constante a lo largo de éstas:

$$|\Delta\varphi| = |n\varphi_1 - m\varphi_2| < cte \quad (8)$$

Para determinar dicha sincronización, es necesario conocer la fase de las dos señales en cada instante del registro. Para ello nos basamos en la señal analítica, compuesta de la parte real y la parte imaginaria.

$$z(t) = x(t) + i\tilde{x}(t) = A(t)e^{i\varphi(t)} \quad (9)$$

Mediante la transformada de Hilbert obtenemos el valor de la parte imaginaria $\tilde{x}(t)$ de la señal analítica. La transformada de Hilbert se define como la convolución de la señal $z(t)$ y $\frac{1}{\pi t}$. Por lo tanto puede ser definida como la salida de un sistema lineal e invariante en el tiempo, con respuesta al impulso $\frac{1}{\pi t}$.

$$\tilde{x}(t) = \frac{1}{\pi} \int_{-\infty}^{\infty} \frac{x(\tau)}{t - \tau} d\tau \quad (10)$$

Una vez calculada la componente imaginaria se puede calcular la amplitud $A(t)$ y la fase $\varphi(t)$ instantánea:

$$A(t) = \sqrt{|\tilde{x}(t)|^2 + |x(t)|^2} \quad (11)$$

$$\varphi(t) = \arctan \frac{\tilde{x}(t)}{x(t)} \quad (12)$$

Llegados a éste punto podemos calcular la diferencia de fases instantáneas, que se pueden proyectar en una circunferencia de radio R calculado con la siguiente ecuación:

$$R = \langle e^{i\Delta\varphi} \rangle = \left| \frac{1}{N} \sum_{k=0}^{N-1} e^{i\Delta\varphi(t_k)} \right| \quad (13)$$

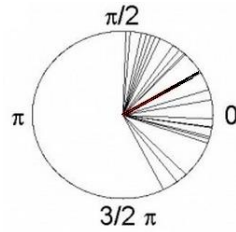


Figura 10. Circunferencia distribución diferencias de fases instantáneas

Dónde N es el número de muestras y t_k los instantes de tiempo. Una sincronización perfecta vendría indicada por un valor de $R=1$, lo que significaría que todas las diferencias de fases son constantes en fase y módulo.

Puesto que las señales biomédicas difícilmente tendrán una diferencia de fase constante durante todo el registro, se establecieron estimaciones basadas en la asimetría de su distribución, tomando como referencias las fases 0 y π (es decir, considerando positivos los signos de la diferencia de fases comprendidos entre $0 < \Delta\varphi < \pi$ y negativos los comprendidos entre $-\pi < \Delta\varphi < 0$). Así podemos obtener un índice que determine el valor de asimetría de toda la señal, calculado a partir de los valores de diferencia de fase en cada instante $\Delta\varphi(t_k), k = 1 \dots N$.

$$PLI = |E\{\text{sign}[\Delta\varphi(t_k)]\}| \quad (14)$$

El PLI calcula la media de los signos de toda la serie temporal calculada anteriormente con la ecuación (1), es decir, la media de los signos de las diferencias de fases instantáneas, para luego obtener el valor absoluto, por lo que el PLI toma valores en el rango $[0,1]$. Un valor de 1 significa que todas las diferencias de fases tienen el mismo signo, por lo que se encuentran o bien entre $0 < \Delta\varphi < \pi$ o bien entre $-\pi < \Delta\varphi < 0$. Por el contrario, con un valor de índice igual

a 0 estamos ante una distribución simétrica de las diferencias de fases entre los dos rangos anteriores.

Una consecuencia directa de la definición del PLI implica que si las diferencias de fases se concentran en 0 o en π , es decir no existe un retardo de fase o simplemente hay una inversión de fase, el PLI resultante será nulo. Los autores que defienden que se trata de un hecho fisiológicamente inexplicable, debido a que a conectividad en un medio físico biológico no puede ser instantánea, consideran que estas fases son debidas a una influencia de un foco común. Otros autores, sin embargo, consideran que sí que es posible que en el rango de frecuencias del EEG se den comunicaciones instantáneas y por lo tanto el PLI no tendría en cuenta estas interacciones en la estimación de la sincronización de fases [Nunez et al, 2006].

Cálculo del Phase-Lag Index en frecuencia

Aunque la definición original del PLI se basa en la obtención de la distribución de diferencias de fases entre dos señales temporales, es mucho más habitual en la literatura el cálculo realizado en el dominio frecuencial [Vinck et al, 2011, Ortiz et al, 2012], por lo que en el presente proyecto también se ha calculado en el dominio frecuencial. La mayoría de publicaciones recientes obtienen el PLI mediante el cálculo del espectro cruzado entre señales, a partir de la transformada de Fourier:

$$X(f) = \int_{-\infty}^{\infty} x(t)e^{-2\pi itf} dt \quad (15)$$

Mediante el producto de $X(f)$ por el complejo conjugado de $Y(f)$ se obtiene el espectro cruzado:

$$S_{xy}(f) = X(f)Y(f)^* \quad (16)$$

Si consideramos la parte imaginaria de S_{xy} como Z , se puede definir el PLI como el valor absoluto de la parte imaginaria de Z :

$$PLI = |E\{sign(Im(Z))\}| \quad (17)$$

Se puede observar que la fórmula es muy similar a la definición temporal de la ecuación 14 y también se calcula en base a la asimetría de fases detallada anteriormente. A diferencia del PLI calculado en tiempo, el cual considera el signo de las diferencias de fase, éste considera el signo de la parte imaginaria del espectro cruzado.

3.4. Weighted Phase-Lag Index

El principal inconveniente del PLI surge de su propia definición, puesto que al tomar el valor absoluto de las diferencias de fase, cuando estas se encuentran cercanas a los valores 0 o π , la presencia de ruido en la estimación de estas fases puede hacer que el signo del PLI cambie y su estimación no sea fiable.

Para resolver este problema, en 2011 se propuso una nueva medida de sincronización de fase basada en el PLI llamada Weighted Phase-Lag Index (WPLI) [Vinck et al, 2011]. El principal añadido es la ponderación del índice por la componente imaginaria del espectro cruzado. El WPLI pondera el PLI mediante el espectro cruzado de acuerdo con la magnitud de la su componente imaginaria:

$$WPLI = \frac{|E\{Im(Z)\}|}{E\{Im(Z)\}} = \frac{|E\{|Im(Z)|sign(Im(Z))\}|}{E\{|Im(Z)\}} \quad (18)$$

En la ecuación anterior se puede ver claramente la relación con el PLI (véase ecuación 17), que queda también ilustrada por la figura siguiente:

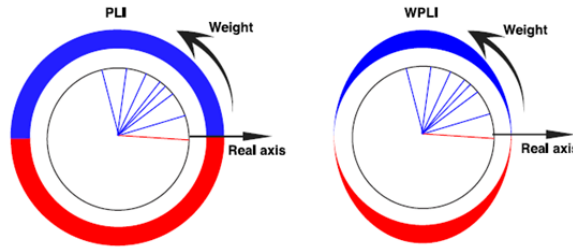


Figura 11. Ilustración PLI y WPLI, Modificación de [Vinck et al, 2011]

3.5. Imaginary Coherency

La coherencia entre dos señales es una medida de relación/acoplamiento lineal en función de la frecuencia. A partir la definición de espectro cruzado (ecuación 16), la coherencia compleja se define como el espectro cruzado dividido entre el producto de las dos potencias espectrales:

$$C(x, y) = \frac{X(f)Y(f)^*}{\sqrt{(X(f)X(f)^*) * (Y(f)Y(f)^*)}} \quad (19)$$

Nótese esta definición sería equivalente a la ecuación 2 de la introducción si tomásemos el módulo del numerador.

Una vez calculada la coherencia compleja, tomamos su parte imaginaria $IC = Im\{C\}$. En general, IC puede tomar valores entre -1 y 1, y será más cercano a 0 cuanto menor sea la sincronización de fases entre las señales estudiadas. Se ha demostrado que esta medida también es robusta a los efectos del volumen de conducción [Nolte et al, 2004].

3.6. Estudios de fármacos

Para estudiar el efecto inducido por el fármaco en la conectividad cerebral, se debe considerar tanto los ritmos circadianos como la variabilidad del estado de la persona en los diferentes días de registro. Por ello las sesiones se iniciaron siempre a la misma hora, y los cálculos deben realizarse mediante un procedimiento concreto.

El cálculo de los índices se aplica a cada instante de registro y las medidas obtenidas se corrigen restando el registro basal previo a la ingestión del fármaco. Además, para comprobar de manera adecuada los efectos netos producidos tras la administración de alprazolam, se comparan estadísticamente los resultados obtenidos en la sesión correspondiente al fármaco con la sesión correspondiente al placebo (véase Figura 12).



Figura 12. Procedimiento para el estudio de fármacos

Duración de las señales estudiadas

Los estudios publicados que calculan PLI y WPLI realizan el análisis en tramos de entre 2 y 10 segundos [Ortiz et al, 2012, Stam et al, 2007, Rawal & Vettel, 2011]. Dado que en la base de datos de alprazolam se realizó una eliminación de artefactos automática en períodos de 5 segundos, los cálculos se han basado en un tramo de 5 segundos libre de artefactos

3.7. Análisis estadístico

El estudio de los efectos farmacológicos producidos sobre los índices de conectividad cerebral calculados exige la comparación de los resultados obtenidos para las sesiones correspondientes a placebo y fármaco. Mediante la aplicación de las pruebas estadísticas adecuadas, se obtiene un valor de significación estadística (habitualmente llamado p-valor) que nos indica la probabilidad de que los cambios observados sean fruto del azar.

En el presente trabajo se ha utilizado la prueba estadística de los rangos con signo de Wilcoxon para evaluar las medidas obtenidas. Se trata de una prueba no paramétrica para medidas relacionadas, y por lo tanto es adecuada para comparar los índices que se han calculado sobre las señales de las mismas personas en dos sesiones diferentes, pero sin tener que hacer ninguna suposición sobre la distribución de los valores obtenidos que sería necesaria para una prueba paramétrica.

Para asegurarnos de que los resultados obtenidos reflejan el efecto neto producido por el fármaco, se tienen que corregir los valores obtenidos en cada instante de registro restando el valor del registro basal, para luego comparar el valor obtenido entre las sesiones de placebo y fármaco.

Puesto que se desea evaluar la conectividad cerebral entre diferentes zonas cerebrales, todas las parejas posibles de electrodos (o canales) han sido tenidas en cuenta. Esto implica la realización de 171 pruebas estadísticas en cada instante de registro. Dado que habitualmente las diferencias significativas producidas por los efectos farmacológicos son sutiles, una corrección post-hoc para tener en cuenta estas múltiples comparaciones es necesaria, pero los métodos habituales como la corrección de Bonferroni son demasiado estrictos y limitan en gran medida poder observar algún cambio significativo. Por este motivo se ha optado por establecer un umbral basado en el teorema binomial [Cross y Chaffin, 1982], que ya ha sido utilizado en otros estudios [Alonso et al, 2010, 2011].

La significación estadística ha sido fijada en $\alpha=0,1$ para cada una de las pruebas individuales, mientras que para considerar significativas las diferencias observadas de manera global en un instante de registro la significación ha sido establecida en $\alpha=0,05$. De esta manera, son necesarios 25 resultados significativos en un mismo instante de registro para que se pueda considerar que los resultados no son producidos por azar.

En cuanto a la representación de los resultados de estas pruebas estadísticas, se han utilizado mapas topográficos de significación, en los cuales se aparece una línea entre cada pareja de electrodos de EEG con un color y grosor determinados. Los colores fríos indican disminuciones significativas del índice (fármaco respecto a placebo) y con los colores cálidos los incrementos significativos. Se han establecido 3 escalas correspondientes a tres rangos según los p-valores obtenidos en las pruebas individuales: líneas estrechas indican un p-valor menor a 0,1; líneas gruesas un p-valor menor a 0,05; y líneas gruesas y de color más oscuro un p-valor menor a 0,01.

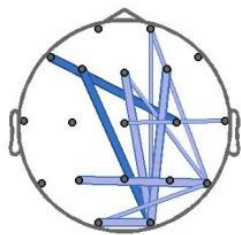


Figura 13. Mapa topográfico decrementos

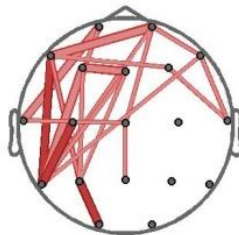


Figura 14. Mapa topográfico incrementos

CAPÍTULO 4: RESULTADOS

En éste capítulo se muestran los resultados más significativos del estudio realizado mediante el cálculo de los índices de sincronización presentados en la metodología, con el objetivo de evaluar la eficacia de éstos al aplicarlos a una nueva disciplina como es la farmacología.

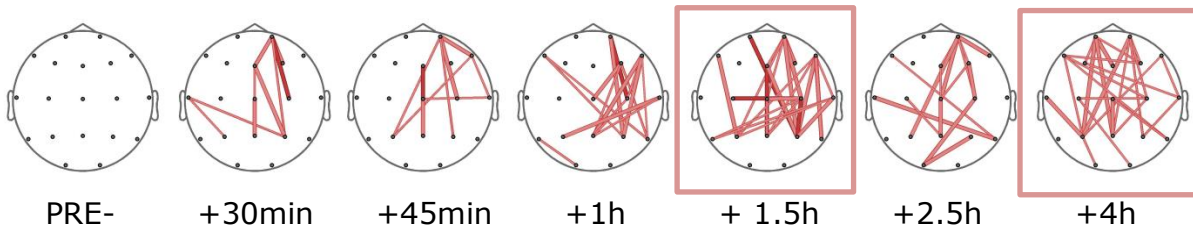
4.1. Efecto farmacológico: resultados estadísticos

A continuación se presentan los mapas topográficos que presentan diferencias estadísticamente significativas entre dosis y placebo calculados mediante los tres índices presentados en la metodología, para todas las parejas de canales, obtenidas mediante la prueba de Wilcoxon.

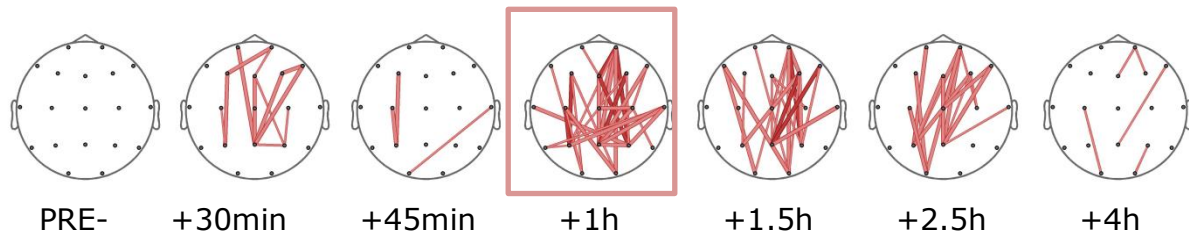
Se presentan los resultados para las bandas de frecuencias analizadas, detalladas en la tabla 1.

ONDAS LENTAS (0,5 a 7,5 Hz)

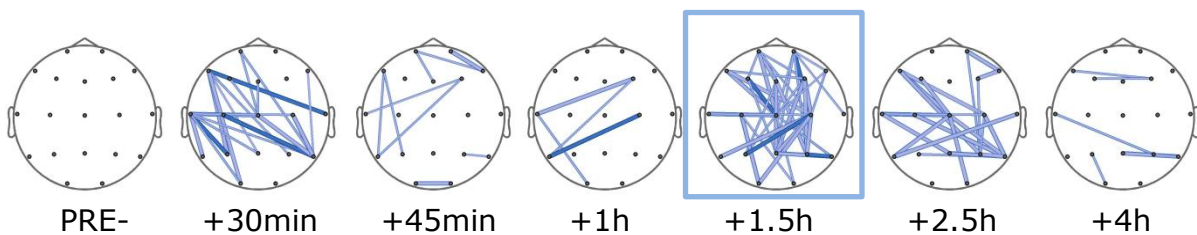
- **Phase-Lag Index**



- **Weighted Phase-Lag Index**

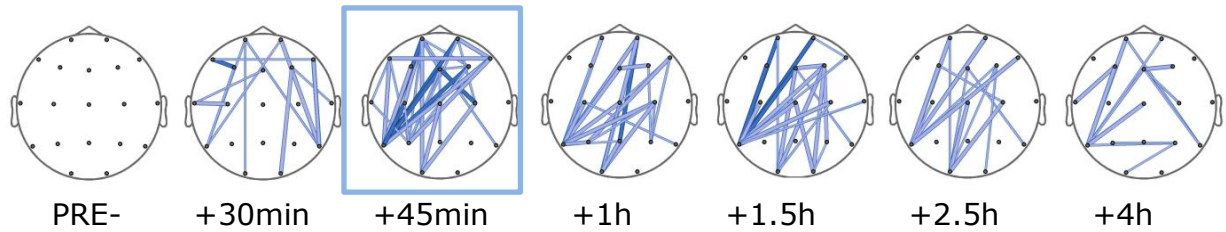


- **Imaginary Coherency**

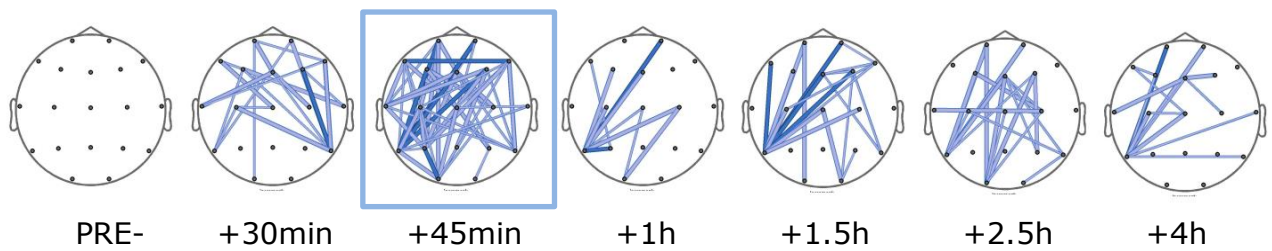


ALFA 1 (7,5 a 10,5 Hz)

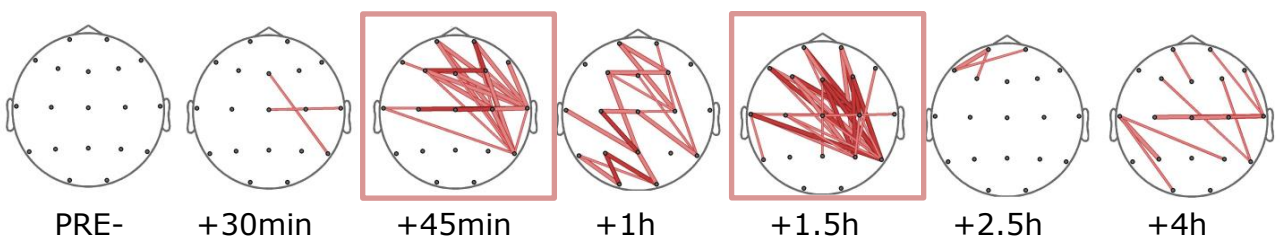
- **Phase-Lag Index**



- **Weighted Phase-Lag Index**

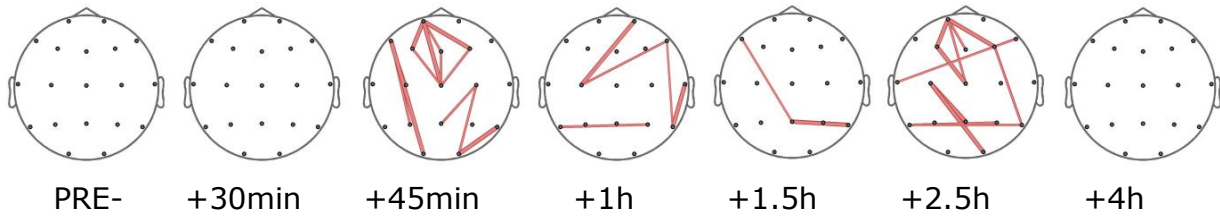


- **Imaginary Coherency**

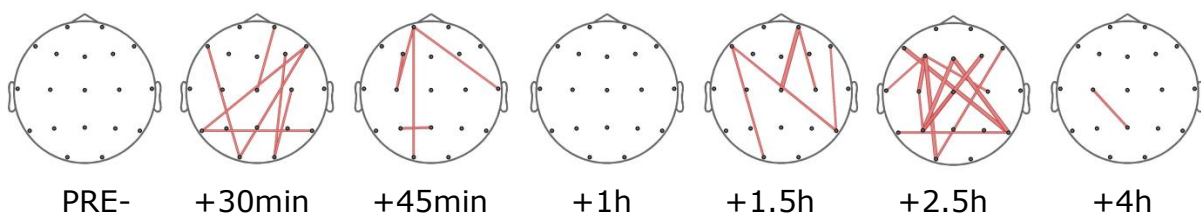


BETA (13 a 35 Hz)

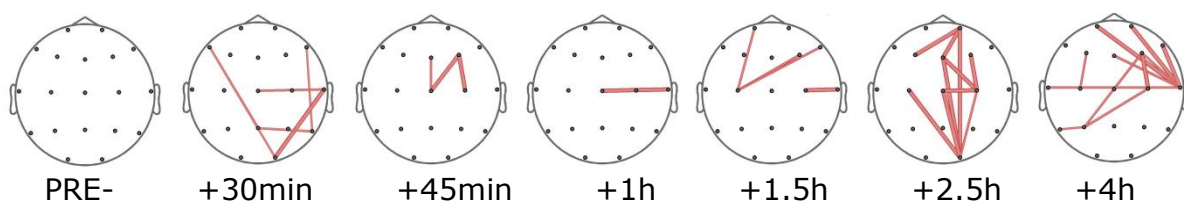
- **Phase-Lag Index**



- **Weighted Phase-Lag Index**

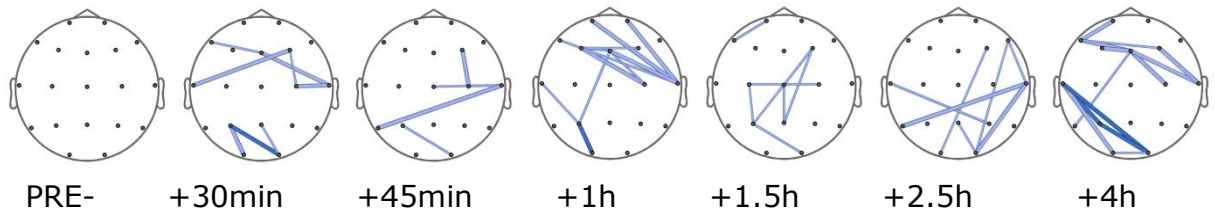


- **Imaginary Coherency**

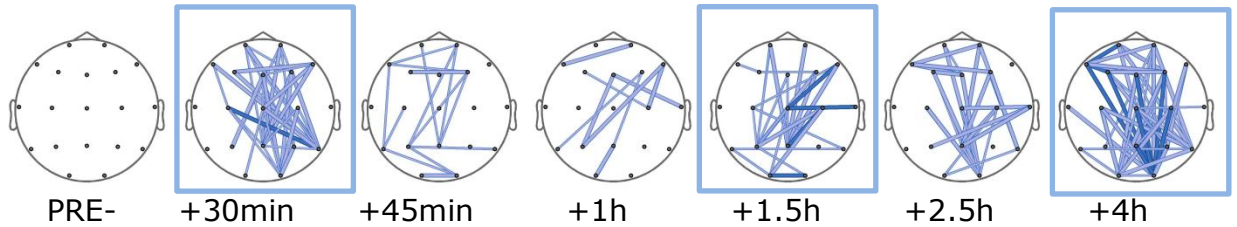


BANDA COMPLETA (0,5 a 35 Hz)

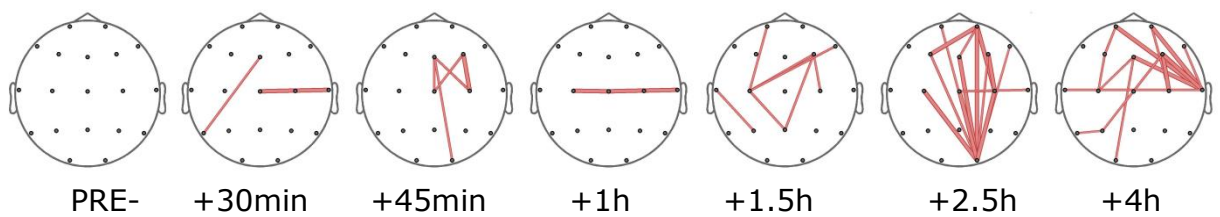
- **Phase-Lag Index**



- **Weighted Phase-Lag Index**



- **Imaginary Coherency**



Recordando el valor establecido por el umbral basado en el teorema binomial, cualquier representación con menos de 25 líneas podría ser debida al azar y por lo tanto debe interpretarse como un efecto que puede no estar producido por el fármaco.

Asumiendo dicha restricción encontramos cambios significativos en algunos registros de las bandas de frecuencia alfa 1 (PLI, WPLI, IC), ondas lentas (PLI, WPLI, IC) y banda completa (WPLI). En la tabla 2 se presentan los instantes que presentan más de 25 diferencias significativas, los cuales se pueden identificar en los mapas anteriores.

	PLI	WPLI	IC
Ondas Lentas	1.5h, 4h	1h	1.5h
Alfa 1	45min	45min	45min, 1.5h
Beta	-	-	-
Banda completa	-	30min, 1.5h, 4h	-

Tabla 2. Resultados significativos estudios estadísticos (número de cambios estadísticos ≥ 25)

Se ha reportado con anterioridad que el máximo efecto del fármaco aparece entre 30 min y 1,5 h después su ingestión y que afecta principalmente a las potencias de las bandas alfa 1 y beta [Barbanoj et al, 1994].

En los resultados obtenidos con los índices estudiados se puede apreciar que únicamente en la banda alfa 1 aparecen cambios significativos debidos al fármaco que encajen con la evolución temporal de los efectos conocidos. Cabe destacar que únicamente se obtiene un instante significativo en esta banda mediante el PLI y WPLI (45 min), mientras que la IC muestra el máximo después de 1,5h de su ingestión, posterior a los obtenidos mediante los otros índices, pero dentro del rango de efecto algido del fármaco, con otro mapa casi significativo tras 1 h.

4.2. Comparación entre los índices de conectividad y la concentración plasmática de alprazolam

A efectos generales, mediante los resultados de las comparaciones estadísticas con estos tres nuevos índices no puede apreciarse una evolución coherente con la dinámica del alprazolam. Para valorar desde otra perspectiva su la evolución sus resultados y poder compararlos con el fármaco, se han analizado los valores promedio de las medidas en todo el cuero cabelludo y se han comparado con la concentración plasmática en sangre.

De manera análoga al procedimiento utilizado antes de realizar las pruebas estadísticas, los valores de los índices han sido corregidos por el valor del instante basal para eliminar el efecto del ritmo circadiano. Seguidamente se han restado los valores obtenidos para fármaco y para placebo, en cada una de las parejas de canales analizadas, para luego obtener un valor promedio.

Para calcular el promedio representativo de toda la cabeza en cada registro se ha tenido en cuenta la tendencia mayoritaria indicada por las pruebas estadísticas, de manera que se han promediado los valores positivos o negativos en función de los cambios obtenidos en el apartado anterior.

Para cuantificar la similitud en la evolución de la concentración plasmática en sangre del fármaco y los resultados de los índices (promedios y número de cambios significativos), en las siguientes tablas se presentan los coeficientes de correlación de Pearson.

OL	Coeficiente correlación (promedio)	Coeficiente correlación (dif. significativas)
PLI_FR	0.9065	0.7396
WPLI_R	0.8231	0.6904
IC	0.8855	0.5921

Tabla 3. Coeficientes de Pearson Ondas Lentas (0,5-7,5 Hz)

AL1	Coeficiente correlación (promedio)	Coeficiente correlación (dif. significativas)
PLI_FR	0.9163	0.8286
WPLI_R	0.8536	0.6736
IC	0.9567	0.6508

Tabla 4. Coeficientes de Pearson Alfa 1 (7,5-10,5 Hz)

B	Coeficiente correlación (promedio)	Coeficiente correlación (dif. significativas)
PLI_FR	0.8701	0.5387
WPLI_R	0.7920	0.5923
IC	0.7915	0.6109

Tabla 5. Coeficientes de Pearson Beta (13-35 Hz)

BC	Coeficiente correlación (promedio)	Coeficiente correlación (dif. significativas)
PLI_FR	0.8018	0.7026
WPLI_R	0.8023	0.5430
IC	0.8432	0.5971

Tabla 6. Coeficientes de Pearson Banda Completa (0,5-35 Hz)

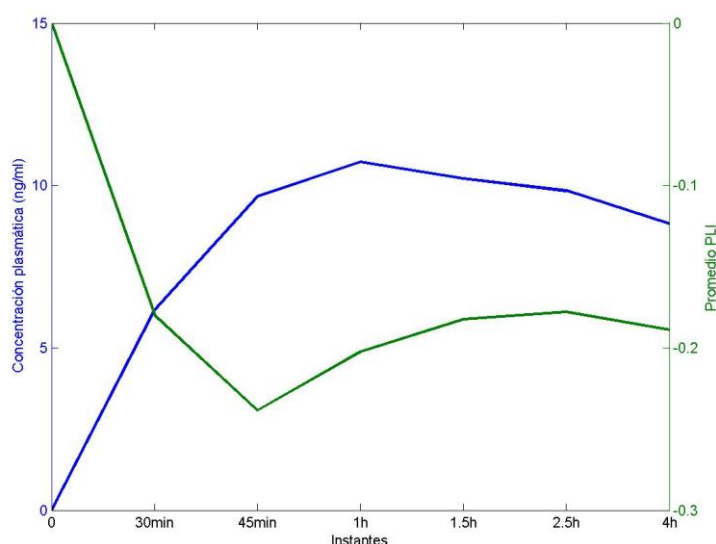
Los resultados de correlación de Pearson son bastante elevados en comparación con los resultados de las pruebas estadísticas, lo cual demuestra que, aunque las medidas consigan seguir los cambios producidos por el fármaco, los cambios detectados no tienen la magnitud suficiente para dar lugar a diferencias significativas entre placebo y fármaco.

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos mediante las pruebas estadísticas de Wilcoxon y los valores de correlación de los índices, se destacan los resultados calculados en la banda alfa 1, con los valores más altos de correlación. A continuación se presentan las gráficas de evolución para la banda alfa 1, puesto que las tres medidas utilizadas han obtenido

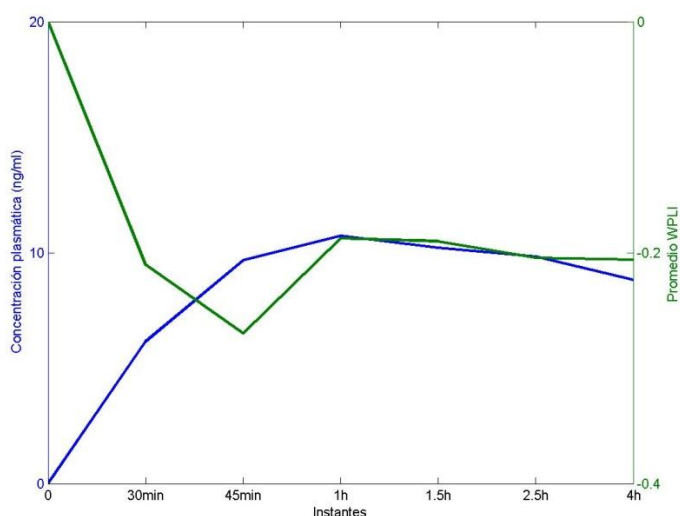
mapas significativos que concuerdan con el periodo de máximo efecto del fármaco.

Las gráficas siguientes representan estos valores promedio en cada instante de registro, comparadas con la evolución temporal de la concentración plasmática de alprazolam. También se muestra la comparación de la concentración de fármaco con el número de líneas (número de diferencias significativas) obtenidas mediante los estudios estadísticos de Wilcoxon en cada instante de registro. Las gráficas correspondientes al resto de rangos frecuenciales estudiados pueden consultarse en el Anexo 1.

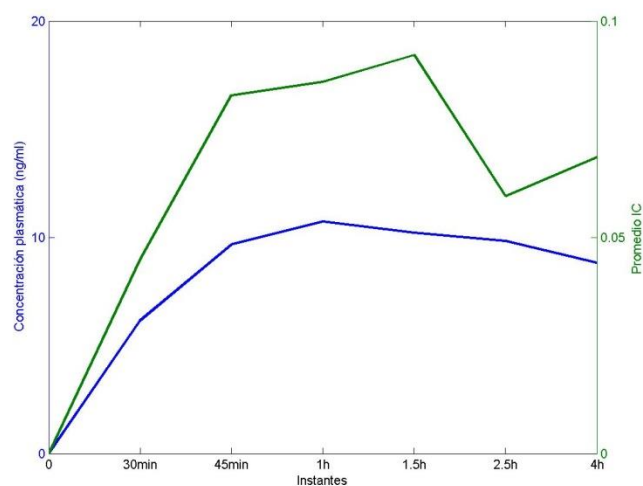
VALORES PROMEDIO



Gráfica 1. Evolución promedio PLI

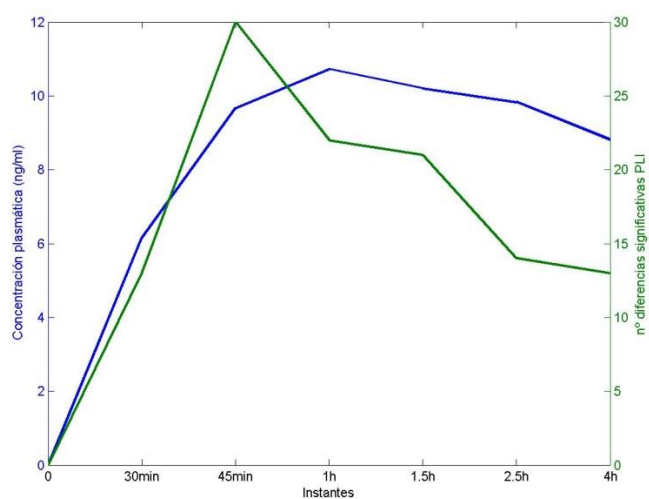


Gráfica 2. Evolución promedio WPLI

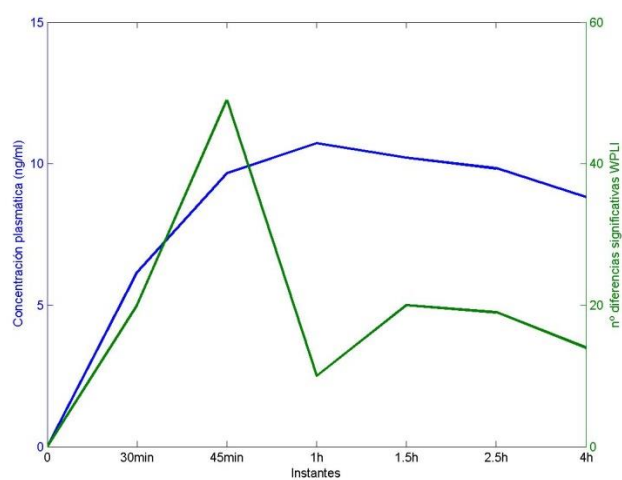


Gráfica 3. Evolución promedio IC

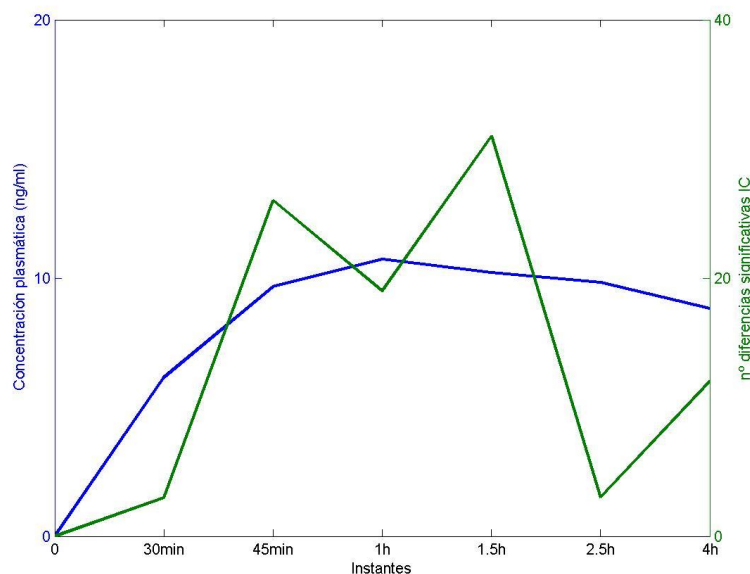
Nº DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS



Gráfica 4. Evolución nº diferencias significativas PLI



Gráfica 5. Evolución nº diferencias significativas WPLI



Gráfica 6. Evolución n° diferencias significativas IC

Puede observarse que la evolución del promedio en los tres casos presentados es similar a la concentración plasmática en sangre, la cual alcanza un máximo de 13,85 ng/ml una hora después de la administración. Los índices PLI y WPLI adquieren valores promedios más elevados (en torno a 0,25 los valores de pico a 45 min) que IC, el cual presenta un máximo de 0,09 después de una hora y media de la administración. Puede apreciarse que IC incrementa en promedio de cada registro por la adecuación a los estudios estadísticos, mientras que PLI y WPLI decremantan, por el hecho de tratarse de índices diferentes.

Puede observarse que PLI presenta una evolución del número de diferencias significativas similar a la concentración plasmática, teniendo en cuenta un único instante significativo a los 45 min. IC también presenta dos instantes signifivativos, aunque la evolución no se asimila la concentración plasmática. Mediante WPLI se ha obtenido un máximo destacado a los 45 min, pero en los demás instantes disminuye la significatividad considerablemente, hecho que no concuerda con la concentración plasmática en sangre ni con los resultados de otros estudios de conectividad inducida por alprazolam [Barbanoj et al, 1994, Alonso et al, 2010].

CAPÍTULO 5: DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Las señales EEG son complejas y no-estacionarias, sus propiedades varían en función del instante de tiempo analizado. Debido a ello, un análisis visual en el dominio del tiempo no permite extraer demasiada información útil. El desarrollo de nuevas técnicas avanzadas de procesamiento de señal se han convertido en una herramienta muy útil para evaluar la actividad cerebral desde diferentes perspectivas. Estas nuevas técnicas aportan, además, información complementaria a estudios de relevantes disciplinas como la psicofarmacología clínica.

Hasta el momento, no se habían aplicado técnicas de sincronización de fase a estudios farmacológicos. Sin embargo, sí se han aplicado con éxito métodos de análisis del acoplamiento, basados tanto en medidas lineales como no lineales, pero que no tienen en cuenta la sincronización instantánea de las señales EEG. En este apartado se realiza una discusión de los resultados finales presentados anteriormente calculados mediante índices de sincronización.

5.1. Análisis y discusión de resultados

En cuanto a los resultados obtenidos, los valores de los tres índices únicamente han mostrado cambios significativos congruentes a los efectos del alprazolam en la banda alfa 1, en la cual se ha demostrado en estudios anteriores que el fármaco produce una disminución de las potencias absolutas y relativas. Por otra parte, no se aprecian resultados significativos en la banda beta donde las potencia absoluta y relativa incrementan [Barbanoj et al, 1994]. Cabe destacar que los estudios anteriores del fármaco se han realizado mediante análisis espectral univariable, sin embargo en el presente trabajo se ha analizado la sincronización o acoplamiento entre las diferentes zonas del cerebro, por lo que no necesariamente deben coincidir sus resultados.

En PLI y WPLI los decrementos significativos en alfa 1 aparecen a los 45 min de la ingesta del fármaco, con un número de cambios significativos de 30 y 49 respectivamente. Aunque este instante no coincide exactamente con el instante de máxima concentración de fármaco en sangre, sí que se encuentra en el intervalo en el que se espera el máximo efecto. Por otra parte, la IC presenta incrementos significativos entre 45 min y 1.5, y aunque el mapa a 1 h no resulta significativo, la evolución temporal de los cambios observados también concuerda con la de la concentración de alprazolam. Teniendo en cuenta que son medidas diferentes, PLI y WPLI muestren decrementos y IC incrementos, por lo que puede estar cuantificando diferentes aspectos del mismo fenómeno, como se demuestra entre la parte lineal y no lineal de la Información Mútua [Alonso et al, 2010].

Sin embargo, en comparación con otras medidas previamente utilizadas, los índices estudiados no consiguen obtener resultados en la banda beta, y el número de diferencias significativas observado es menor, lo cual hace que sea más difícil aplicarlos en estudios con dosis menores o efectos farmacológicos mucho más sutiles.

En cuanto a los resultados de los coeficientes de correlación respecto a la concentración plasmática en la banda alfa 1, se han obtenido valores altos, entre 0,85 y 0,95. Además de un decremento del ritmo alfa 1 inducido por el fármaco [Barbanoj et al, 1994], en el presente proyecto se ha cuantificado un decremento de la sincronización entre las derivaciones. Mediante otros análisis de coherencia espectral, la correlación global mostraba decrementos en la banda alfa 1 con correlaciones más bajas (0,84) [Alonso et al, 2012] que las obtenidas con los nuevos índices de sincronización.

En base a los resultados obtenidos, a pesar de que WPLI ha sido diseñado 'mejorando' la definición de PLI y su robustez al volumen de conducción, parece más adecuado analizar la conectividad inducida por éste fármaco mediante PLI que con WPLI, puesto que se han obtenido valores más altos de correlación. Por otra parte, comparando los tres índices, IC ha mostrado un valor mayor de correlación (0,95) y dos instantes significativos en el rango de efecto álgido del fármaco, por lo que junto con el PLI, son los dos índices que se presentan más adecuados en el estudio de cambios en sincronización inducidos por alprazolam.

Es importante destacar que los índices seleccionados y calculados en este trabajo han mostrado su utilidad en diferentes estudios con señales cerebrales (tanto electroencefalográficas como magnetoencefalográficas, así como potenciales locales y registros intracraneales), aplicados a la caracterización de la actividad cerebral de animales [Vink et al, 2011], sujetos sanos [Lau et al, 2012; Ortiz et al, 2012], y pacientes con Alzheimer [Stam et al, 2007, Stam et al, 2009]. Sin embargo, en todos esos estudios la metodología difiere en un punto importante respecto a la de los estudios farmacológicos, que es la corrección respecto al instante basal. En todos los estudios se comparan dos situaciones (sanos con enfermos, actividad cognitiva con reposo, actividad motora con reposo), pero ninguno de los experimentos necesita de la corrección respecto a un instante previo y los valores calculados se comparan directamente mediante pruebas estadísticas.

Es posible que este hecho, unido a los bajos valores de los índices obtenidos al aplicar el cálculo en señales de EEG espontáneo bajo tratamiento farmacológico, haga que los cambios en la sincronización de fases sean demasiado débiles como para arrojar resultados significativos dada la variabilidad inter-sujeto existente en cualquier estudio con señales biomédicas, aunque la evolución de los cambios sí que sigue el comportamiento mostrado por la concentración de fármaco, tal y como demuestran los valores de correlación obtenidos.

La eficacia de los índices PLI, WPLI e IC también ha sido demostrada en diferentes aplicaciones que prueban su insensibilidad a los efectos del volumen conductor, de manera que se etiqueta a estas medidas como indicadoras de la interacción neuronal real. Sin embargo, otros autores consideran que para el rango de frecuencias habitual del EEG la interacción casi instantánea puede producirse y por lo tanto estas medidas estarían descartando información válida, aunque la interacción no fuese estrictamente real y tuviera añadido el efecto de la propagación por los tejidos entre la corteza cerebral y el cuero cabelludo. Hay que recordar que las medidas de sincronización utilizadas no tienen en cuenta las sincronizaciones instantáneas, que podrían estar jugando el papel principal en este caso concreto.

5.2. Extensiones futuras

A pesar de los inconvenientes observados con estas medidas, no deja de tratarse de índices propuestos recientemente que deben ser estudiados en detalle y que pueden ser útiles en otras aplicaciones. A continuación se describen posibles extensiones del presente trabajo:

- Estudiar el efecto sobre los índices calculados al variar la duración de los tramos de señal seleccionados, puesto que en los diferentes estudios se utilizan diversas longitudes. Al tratarse de índices tan sensibles, la variabilidad de ésta duración puede obtener diversos resultados.

- Probar los índices en otras bases de datos con otros fármacos que induzcan cambios más pronunciados en la sincronización del EEG para determinar si éstas técnicas son adecuadas para revelar cambios en la actividad cerebral inducidos por otras familias de fármacos.
- Estudiar los índices de sincronización mediante registros de EEG que utilicen otra referencia, puesto que el promedio mastoides se ve influenciado por la propagación de la zona temporal y en algunos casos occipital, de manera que se podría estar eliminando actividad cerebral susceptible de ser analizada.
- Aplicar estos nuevos índices en otras bases de datos, como por ejemplo de pacientes con Enfermedad de Alzheimer, o en señales corticales para replicar y verificar los resultados reportados por otros grupos de investigación.

CAPÍTULO 6: PRESUPUESTO

En éste capítulo se presenta el presupuesto correspondiente a la realización del presente estudio de investigación. Al tratarse de un proyecto mediante Software los costes generados son básicamente a nivel de personal y horas de trabajo, además de un pequeño incremento en gasto material en cuanto a licencias de programas y ordenador.

Para la realización del proyecto de final de grado se ha requerido el trabajo personal de alumno y del director del proyecto, el cual debe supervisar y revisar el trabajo presentado.

En cuanto al coste materiale, se ha calculado el presupuesto en base a la utilización del mismo, es decir, con la devaluación el material utilizado. No se han tenido en cuenta los costes de adquisición de las señales puesto que se habían registrado con anterioridad y no se contempla en os objetivos del proyecto.

El presupuesto total necesario para realizar el estudio de nuevos índices de sincronización en señales adquiridas anteriormente se presenta en la tabla 7.

ANÁLISIS				
Estudiante	Concepto	Horas	€/h	Total (€)
	Documentación y planteamiento	300	50	15.000,00 €
	Programación	200	35	7.000,00 €
	Análisis resultados	50	35	1.750,00 €
	Administración	80	20	1.600,00 €
Doctor	Soporte al proyecto	80	120	9.600,00 €
	Revisión y verificación	20	120	2.400,00 €
Material	Concepto	Meses	€/mes^[1]	Total (€)
	Ordenador	4	13,33	53,32 €
	Licencia Matlab 2012b	4	20,33	81,32 €
	Licencia Microsoft Office 2010	4	7,33	29,32 €
	Gastos generales ^[2]	4	100€	400,00€
TOTAL (sin 21% IVA)				37.884,64 €

Tabla 7. Presupuesto total del proyecto de final de grado

- [1] Para calcular la devaluación del material y licencias utilizadas se ha considerado el precio del ordenador de 800,00€ con una vida útil de 5 años. La licencia de Matlab 2012b para un año equivalente a 244,00€ y la licencia para estudiantes de Microsoft Office 2010 equivalente a 88,00€.
- [2] Los gastos generales se consideran los equivalentes a luz, transporte y material utilizado.

CAPÍTULO 7: BIBLIOGRAFIA

7.1. Referencias Bibliográficas

- Alonso JF, Mañanas MA, Romero S, Hoyer D, Riba J, Barbanoj MJ.** 2010. Drug Effect on EEG Connectivity Assessed by Linear and Nonlinear Couplings, *Human Brain Mapping*; 1(3):487–497, ISSN 1097-0193.
- Alonso JF, Mañanas MA, Romero S, Rojas-Martínez, Riba J.** 2012. Cross-conditional entropy and coherence analysis of pharmaco-EEG changes induced by alprazolam. *Psychopharmacology* Volume 221, Issue 3, pp397-406.
- Barbanoj MJ, Anderer P, Antonijoan RM, Torrent J, Saletu B, Jané F,** 1994. Topographic pharmaco-EEG mapping of increasing doses of buspirone and its comparison with diazepam, *Human Psychopharmacology: Clinical and Experimental* 9(2):101–109, ISSN 0885-6222.
- Barbanoj MJ, Antonijoan R, Riba J, Valle M, Romero S, Jané F,** 2006. Quantifying drug-drug interactions in pharmaco-EEG, *Clinical EEG and Neuroscience* 37(2):108–120, ISSN 1550-0594.
- Cross E, Chaffin W,** 1982. Use of the binomial theorem in interpreting results of multiple tests of Significance, *Educational and Psychological Measurement* 42:25–34, ISSN 0013-1644.

- Greenblatt D, Wright C**, 1993. Clinical pharmacokinetics of alprazolam. Therapeutic implications, *Clinical Pharmacokinetics* 24(6):453–471, ISSN 0312-5963.
- Nolte G, Bai O, Wheaton L, Mari Z, Vorbach S, Hallett M**, 2004. Identifying true brain interaction from EEG data using the imaginary part of coherency *Clinical Neurophysiology* 115 (10), 2292-2307.
- Nunez P**, 2006. *Electric Fields of the Brain*, Oxford University Press, 2a edón., ISBN 978 0195050387.
- Ortiz E, Stingl K, Münßinger J, Braun C, Preissl H, Belardinelli P**, 2012. Weighted Phase Lag Index and Graph Analysis: Preliminary Investigation of Functional Connectivity during Resting State in Children. *Comput Math Methods Med.* 2012; 186353.
- Rawal S, Vettel J**, 2011. Weighted Phase Lag Index (WPLI) as a Method for Identifying Task-Related Functional Networks in Electroencephalography (EEG) Recordings during a Shooting Task. *Translational neuroscience branch*.
- Romero S, Mañanas MA, Barbajon MJ**, 2008. A comparative study of automatic techniques for ocular artifact reduction in spontaneous EEG signals based on clinical target variables: A simulation case, *Computers in Biology and Medicine* 38(3):348–360, ISSN 0010-4825.
- Sherman D, Walterspacher D**, 2006. .Electroencephalography, *Encyclopedia of Medical Devices and Instrumentation de Webster J*.
- Stam CJ, Nolte G, Daffertshofer A**, 2007. Phase lag index: assessment of functional connectivity from multichannel EEG and MEG with diminished bias from common sources. *Hum. Brain Mapp.*,
- Vinck M, Oostenveld R, van Wingerden M, Battaglia F, Pennartz C**, 2011. An improved index of phase-synchronization for electrophysiological data in the presence of volume-conduction, noise and sample-size bias. *Neuroimage*, 55(4), 1548-1565.

7.2. Bibliografía de consulta

- Alonso JF, Mañanas MA, Romero S, Fernández A & Hornero R**, 2011. MEG Connectivity Analysis in Patients with Alzheimer's Disease Using Cross Mutual Information and Spectral Coherence, *Annals of Biomedical Engineering*, 39(1):524–536, ISSN 0090-6964.
- Alonso JF, Mañanas MA, Hoyer D, ToporZL y Bruce EN**. 2007. Evaluation of Respiratory Muscles Activity by Means of Cross Mutual Information Function at Different Levels of Ventilatory Effort, *IEEE Transactions on Biomedical Engineering* 54(9): 1573–1582.

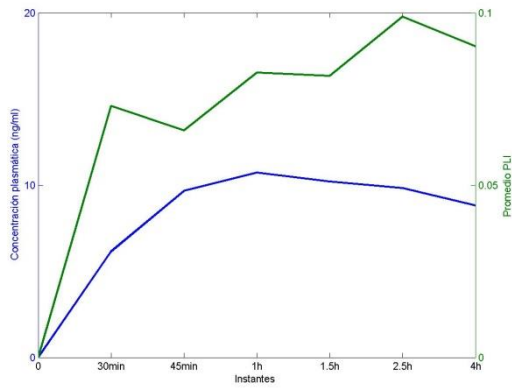
- Astolfi L, Babiloni F & Serenella S**, 2010. Principi di stimdell'attività e della connettività cerebrale da dati neuroelettrici. Human Brain Mapping, Collana di Ingegneria Biomedica.
- Astolfi, Laura**. "Patrones de las señales electroencefalográficas". Neurociencia Industrial. La Sapienza, Università di Roma. 5 Noviembre 2013.
- Astolfi, Laura**. "Problema directo e inverso. Brain Mapping". Neurociencia Industrial. La Sapienza, Università di Roma. 20 Noviembre 2013.
- Babiloni, Fabio**. "Electrofisiologia neuronal". Neurociencia Industrial. La Sapienza, Università di Roma. 24 Octubre 2013.
- Clifford GD**. 2008. Blind Source Separation: Principal & Independent Component Analysis. *Biomedical Signal and Image Processing*, 1- 6.
- Fingelkurts A, Kivisaari R, Pekkonen E, Ilmoniemi RJ & Kähkönen S**, 2004. Enhancement of GABA-related signalling is associated with increase of functional connectivity in human cortex, Human Brain Mapping; 22(1):27-39.
- Giovana, Nadia**. Fisicoquímica-Transmisión sináptica, 2011, <http://ziickpaininfiniteoo.blogspot.com.es/2011/11/transmision-sinaptica.html>
- Guerri M**, <http://www.psicoactiva.com/atlas/corteza.htm> ,1998-2014. Atlas Cerebral.
- Iruarrizaga M^a I & Miguel J**, 1999.Alteraciones neuropsicologicas en el alcoholism y la politoxicomania. Tesis Dosctoral, UCM Facultad de pricologia.
- Manolakis DG, Proakis JG**. 1996. Digital SignalProcessing: Principles, Algorithms and Applications, 230- 366.
- Martínez NP, Alonso JF & Mañanas MA**, 2009. Evaluación de la conectividad cerebral bajo fármacos mediante análisis no lineal del EEG, Proyecto final de Master Ingenieria Biomédica UPC-UB.
- Moya J, Mortal D & Canals S**, 2013.Estudio de la conectividad funcional en cerebros de animales de experimentación a partir del análisis de imágenes de resonancia magnética mediante técnicas de clasificación no supervisada. Tesis Doctoral, UPV.
- Nunez PL, Srinivasan R, Westdorp AF, Wijesinghe RS, Tucker DM, Silberstein RB & Cadusch PJ**, 1997. EEG coherency. I. Statistics, referenceelectrode, volume conduction, Laplacians, cortical imaging, and interpretation at multiple scales. *Electroencephalogr. Clin Neurophysiol*; 103:499-515

ANEXO 1 – GRÁFICAS EVOLUCIÓN

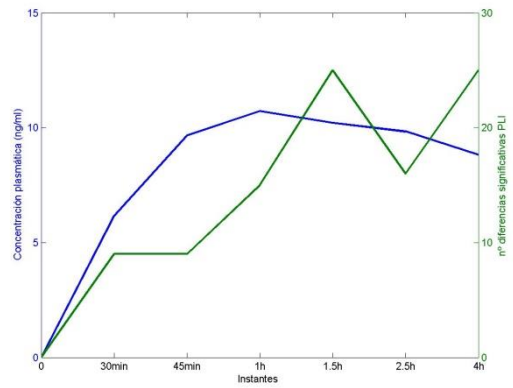
ONDAS LENTAS (0.5 – 7,5 Hz)

[C. PLASMÁTICA – PROMEDIO]

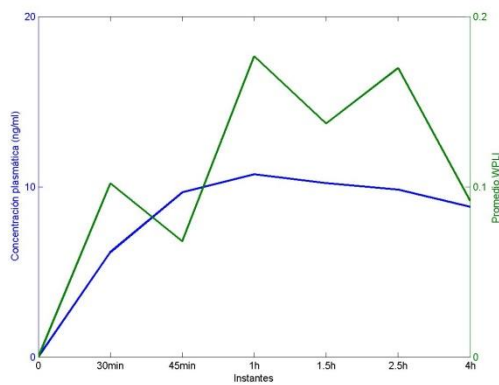
[C. PLASMÁTICA – nº Dif. SIGNIF.]



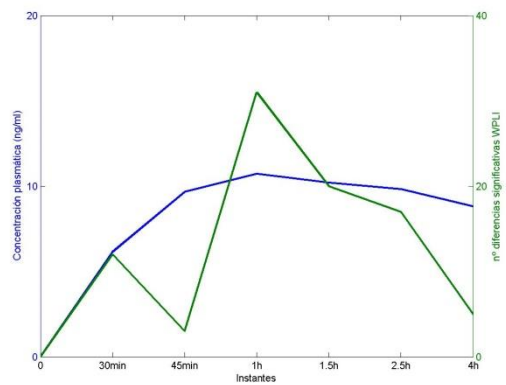
Gráfica A1.1. Promedio PLI



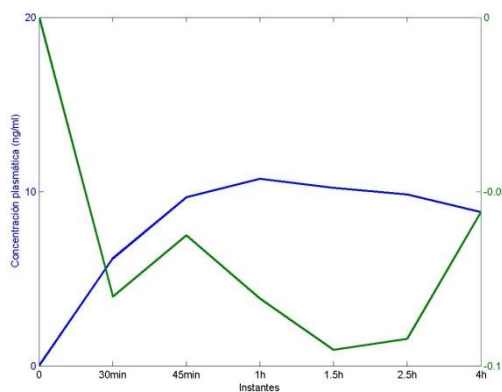
Gráfica A1.2. nº dif significativas PLI



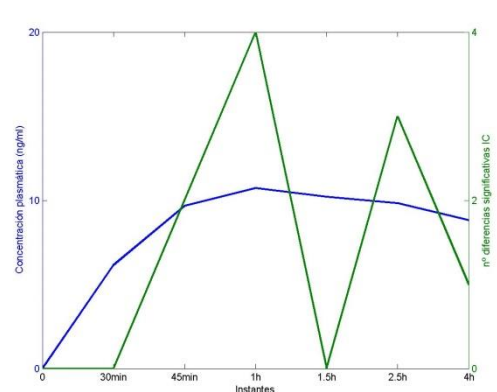
Gráfica A1.3. Promedio PLI



Gráfica A1.4. nº dif significativas PLI



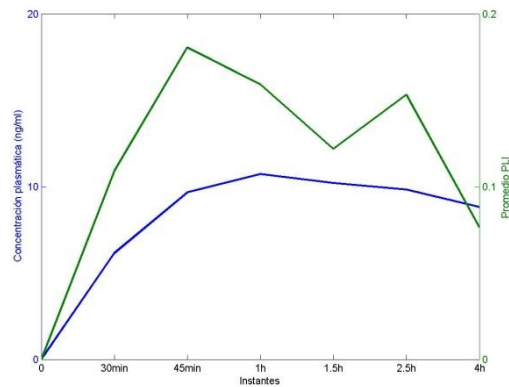
Gráfica A1.5.. Promedio PLI



Gráfica A1.6.. nº dif significativas PLI

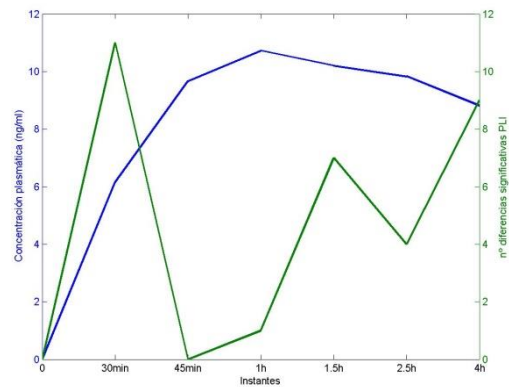
BETA (13 - 35Hz)

[C. PLASMÁTICA – PROMEDIO]

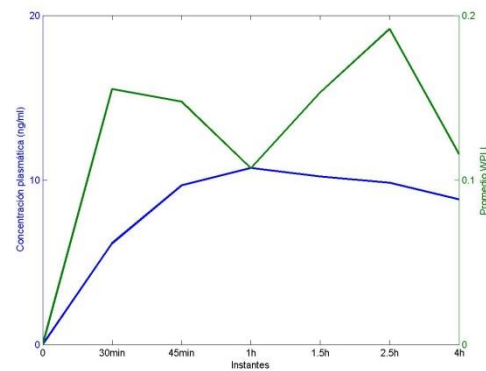


Gráfica A1.7. Promedio PLI

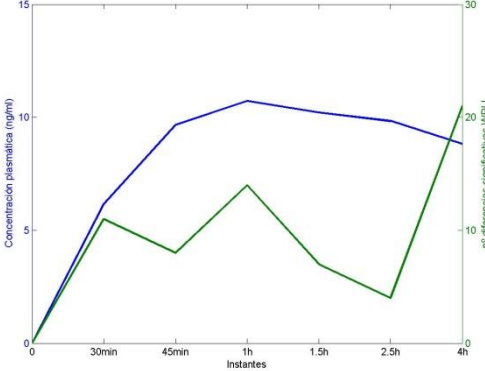
[C. PLASMÁTICA – nº Dif. SIGNIF.]



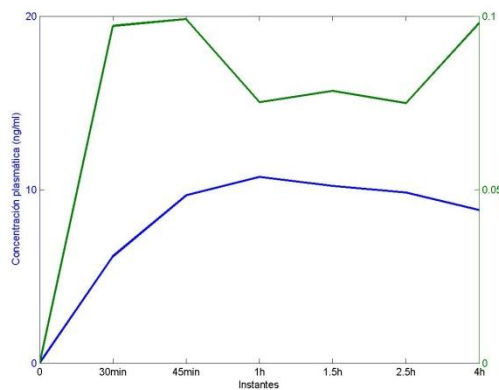
Gráfica A1.8.. nº dif significativas PLI



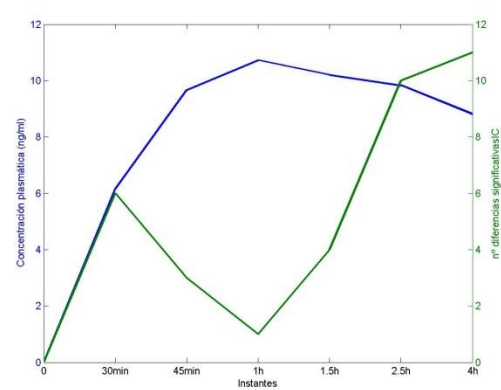
Gráfica A1.9. Promedio WPLI



Gráfica A1.10. nº dif significativas WPLI



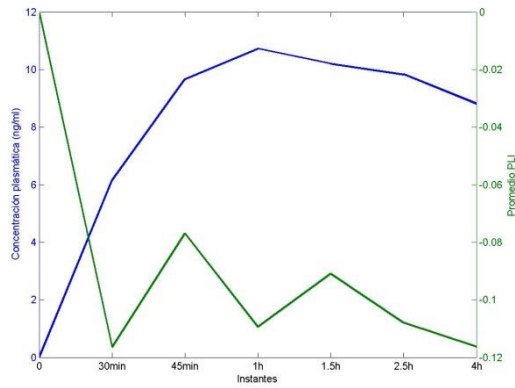
Gráfica A1.11. Promedio IC



Gráfica A1.12. nº dif significativas IC

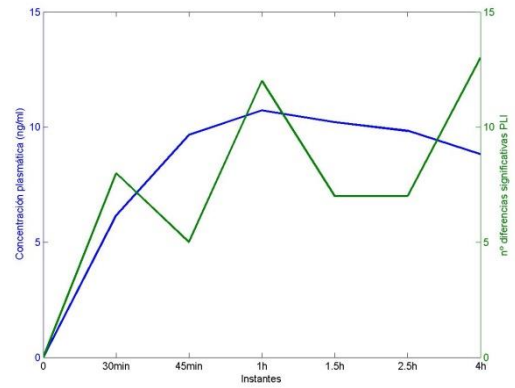
BANDA COMPLETA (0.5 – 35Hz)

[C. PLASMÁTICA – PROMEDIO]

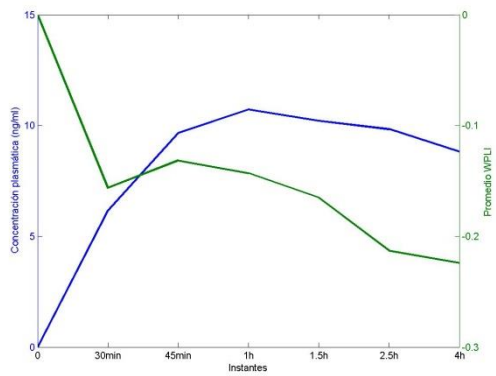


Gráfica A1.13. Promedio PLI

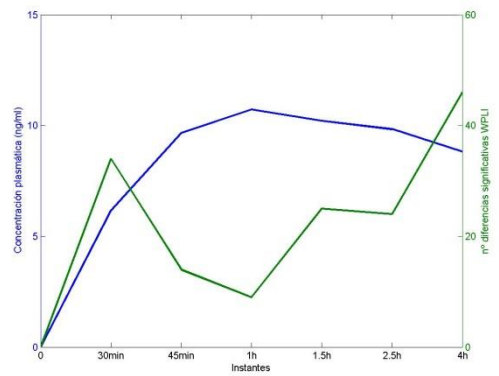
[C. PLASMÁTICA – nº Dif. SIGNIF.]



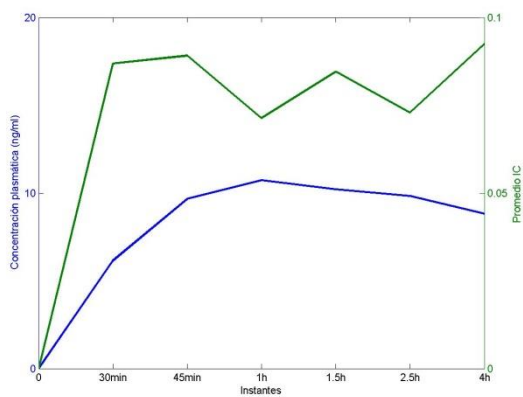
Gráfica A1.14. nº dif significativas PLI



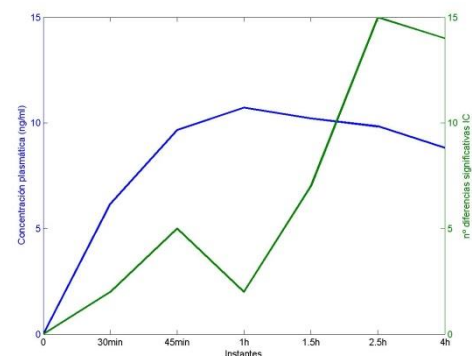
Gráfica A1.15. Promedio WPLI



Gráfica A1.16. nº dif significativas WPLI



Gráfica A1.17. Promedio IC



Gráfica A1.18. nº dif significativas IC

ANEXO 2 – CÓDIGO MATLAB (Funciones Índices)

Phase-Lag Index

$$PLI = |E\{\text{sign}[\Delta\varphi(t_k)]\}|$$

Weighted Phase-Lag Index

$$WPLI = \frac{|E\{|Im(Z)|\text{sign}(Im(Z))\}|}{E\{|Im(Z)|\}}$$

Imaginary Coherency

$$C(x,y) = \frac{X(f)Y(f)^*}{\sqrt{(X(f)X(f)^*) * (Y(f)Y(f)^*)}}$$

$$IC = Im\{C\}$$

Phase-Lag Index

```
function val = pli_fr(s1, s2,f1,f2)
% CREADO: 2014.03.24
% Per: Aitana Sabater Camps

%% COMPROVACIÓN DE ARGUMENTOS
narginchk(4,4);
nargoutchk(0,1);

%% CÁLCULO Phase-Lag Index
NumFFT=pow2(nextpow2(length(s1)));
FFT_s1=fft(s1,NumFFT);
FFT_s2=fft(s2,NumFFT);
FFT_s1=FFT_s1(1:ceil((NumFFT+1)/2));
FFT_s2=FFT_s2(1:ceil((NumFFT+1)/2));
freqs = (0:NumFFT/2)'*100/NumFFT;

C12 = FFT_s1.*conj(FFT_s2);
%Restricción de frecuencias
C12r = C12(freqs>=f1 & freqs<=f2);
val = abs(mean(sign(imag(C12r)))));

end
```

Weighted Phase-Lag Index

```
function val = wpli_r(s1, s2, f1, f2)
% CREADO: 2014.03.24
% Por: Aitana Sabater Camps

%% COMPROVACIÓN DE ARGUMENTOS
narginchk(4,4);
nargoutchk(0,1);

%% CÁLCULO DE Weighted Phase-Lag Index
NumFFT=pow2(nextpow2(length(s1)));
%DFT
FFT_s1=fft(s1,NumFFT);
FFT_s2=fft(s2,NumFFT);
FFT_s1=FFT_s1(1:ceil((NumFFT+1)/2));
FFT_s2=FFT_s2(1:ceil((NumFFT+1)/2));
freqs = (0:NumFFT/2)'*100/NumFFT;

C12=FFT_s1.*conj(FFT_s2);
%Restricción de frecuencias
C12r = C12(freqs>=f1 & freqs<=f2);

val = abs ( mean ( abs( imag(C12r) ) .* sign(imag(C12r))) ) / mean ( abs (
imag(C12r) ) );

end
```

Imaginary Coherency

```
function val = ic(s1, s2)
% CREAT: 2014.05.12
% Per: Aitana Sabater Camps

%% COMPROVACIÓN DE ARGUMENTOS
narginchk(2,2);
nargoutchk(0,1);

%% CALCULO DE LA IC
NumFFT=pow2(nextpow2(length(s1)));
FFT_s1=fft(s1,NumFFT);
FFT_s2=fft(s2,NumFFT);
FFT_s1=FFT_s1(1:ceil((NumFFT+1)/2));
FFT_s2=FFT_s2(1:ceil((NumFFT+1)/2));

IC =
(FFT_s1.*conj(FFT_s2))./sqrt((FFT_s1.*conj(FFT_s1)).*(FFT_s2.*conj(FFT_s2))
);
imIC=imag(IC);
val = mean(imIC);

end
```