

ANÁLISIS DE LAS DISTRIBUCIONES DE LOS INTERVALOS ENTRE IMPULSOS NERVIOSOS EN LA ACTIVIDAD NEURONAL ESPONTÁNEA

A. Machado y F. Coro

*Departamento de Fisiología Animal, Facultad de Biología,
Universidad de La Habana, Cuba*

ABSTRACT. A program that receives the electric impulses from the spontaneous bioelectric activity of a computer is shown. Starting from this input signal, it measures up to 3 500 intervals between successive spikes (with 0,1; 1; 10 or 100 ms bin) and makes 2 types of analysis: sequential and non-sequential. This data processing implies the calculus of different stadigraphs and painting various types of graphics, such as: function of probability density, survival function, hazard function, join interval histogram, and autocorrelogram. The program is in Turbo-Pascal (version 4.0) for NEC model PC-9801F microcomputer.

RESUMEN. Se presenta un programa que recibe a través de un puerto de la computadora los impulsos eléctricos provenientes de la actividad bioeléctrica espontánea de una neurona. A partir de esta señal de entrada se calculan los intervalos (hasta 3 500) entre espigas sucesivas (con una ventana de tiempo (bin) de 0,1; 1; 10 ó 100 ms) y se aplican dos tipos de análisis: secuencial y no secuencial. Estos análisis implican el cálculo de distintos estadígrafos y la realización de distintos tipos de gráficos. Entre estos están: función de densidad de probabilidad, función de sobrevivencia, función de riesgo, histograma de los intervalos pareados, tacograma y autocorrelograma. El programa fue realizado en Turbo-Pascal (versión 4.0) para microcomputadora NEC 9801F.

INTRODUCCION

A inicios de la década del 80 se comienzan a utilizar los métodos de cómputo electrónico para analizar la actividad eléctrica impulsiva generada por las neuronas en ausencia de estímulos adecuados.¹ Las posibilidades de las computadoras permitieron medir con alta precisión los intervalos entre los impulsos nerviosos (espigas) generados por una neurona; además, fue posible al análisis estadístico de miles de estos valores, lo que ha permitido caracterizar la actividad espontánea de diferentes neuronas en el estudio del sistema auditivo.²⁻⁴

El programa que a continuación se describe permite medir los intervalos entre las espigas sucesivas durante la actividad espontánea, y el posterior procesamiento estadístico de estos datos por la computadora o por computación. La actividad eléctrica impulsiva de las neuronas, objeto de estudio, se registró en una grabadora de cinta magnetofónica de amplitud

modulada y se observó en la pantalla de un osciloscopio de rayos catódicos. La señal de la grabadora se procesó fuera de línea (off line) mediante el uso de un discriminador de amplitudes (de ventana) y una microcomputadora NEC 9801F.

La adquisición de los datos, o sea, la medición de los intervalos entre los impulsos nerviosos, se realizó al conectar la señal de salida del discriminador de amplitud a un puerto del controlador programable del Interfaz 8255. En este proceso el programa ofrece la posibilidad de escoger el poder de resolución temporal de la medición (bin) que va a emplear (0,1; 1; 10; 100 ms) y el número de datos a obtener (hasta 3 500).

Para realizar la lectura desde el puerto se confeccionó una subrutina escrita en lenguaje ensamblador. Esta posee un ciclo de instrucciones a las cuales se les calculó el tiempo de ejecución (en número de ciclos de máquina). Esto permite comprobar el puerto de entrada cada vez que transcurre un bin y calcular el intervalo

entre espigas sucesivas sumando la cantidad de estas unidades transcurridas entre la aparición de una señal impulsiva y la siguiente. El resultado de esta adquisición de datos se almacena en un arreglo y se ofrece la posibilidad de realizar una copia de éste en memoria externa.

El método de procesamiento estadístico empleado comprende dos formas de análisis:

secuencial y no-secuencial. En la primera, se toma la información de entrada sin hacer tratamiento posterior alguno y se realizan los gráficos de los histogramas de autocorrelación (Figuras 1c y 2d), de intervalos pareados (Figuras 1d y 2e) (según la definiciones)^{1,5-7} y de valores de los intervalos sucesivos (tacograma)

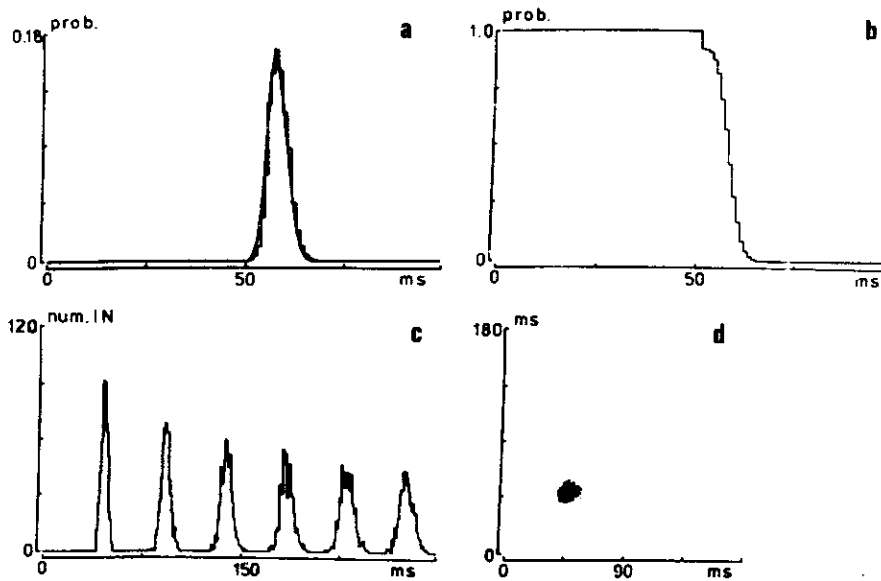


Fig. 1. Gráficos que realiza el programa; se ejemplifica con una célula en la que la distribución de los intervalos entre impulsos nerviosos se aproxima a la distribución normal correspondiente. Se empleó un bin de 1 ms. En la fila superior se presentan los gráficos correspondientes al análisis no secuencial: a. gráfico de la comparación de la distribución real con la normal teórica correspondiente; b. gráfico de la función de sobrevivencia. En la fila inferior se presentan los gráficos del análisis secuencial; c. gráfico de la autocorrelación; d. gráfico de los intervalos pareados

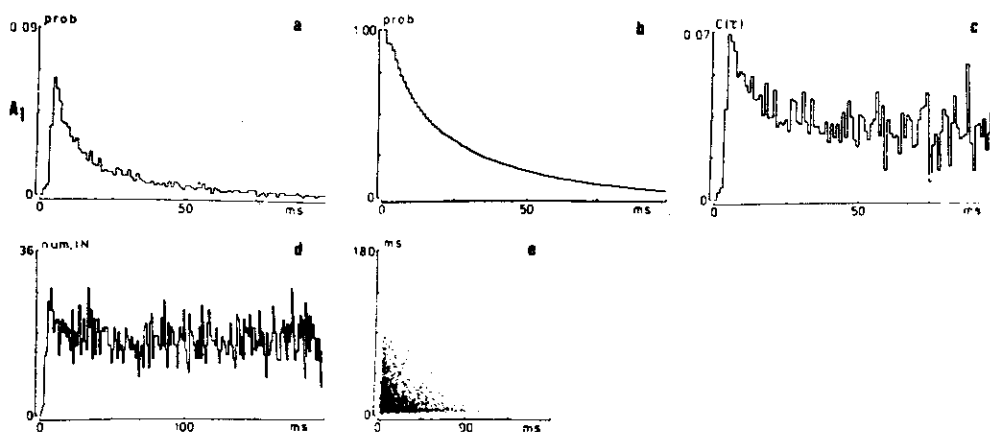


Fig. 2. Gráficos que realiza el programa; se ejemplifica con una célula en la que la distribución de los intervalos entre impulsos nerviosos se asemeja a una distribución exponencial. Se usó un bin de 1 ms. En la fila superior se presentan los gráficos correspondientes al análisis no secuencial: a. gráfico de la densidad de probabilidades; b. gráfico de la función de sobrevivencia; c. gráfico de la función de riesgo. En la fila inferior se presentan los gráficos del análisis secuencial: d. gráfico de la autocorrelación; e. gráfico de los intervalos pareados

Por otra parte, en el análisis no-secuencial valores de los intervalos entre espigas se ponen en orden ascendente, y se clasifican en clases, cada una de las cuales tiene asociada la frecuencia de aparición y la probabilidad. Con esta información se calcula el intervalo promedio, la desviación típica, el coeficiente de variabilidad, la varianza, la frecuencia de descarga promedio (calculada como el inverso del intervalo promedio) y la cantidad de información (en bits) que contiene en la distribución. Estos resultados, así como los valores de los intervalos, su frecuencia y probabilidad de aparición pueden ser visualizados en la pantalla o escritos en la impresora. Todos estos datos permiten realizar la cuantificación de la actividad neuronal impulsiva en ausencia de estimulación.

El análisis no-secuencial permite también la realización de distintos tipos de gráficos que hacen posible analizar la distribución de los intervalos entre espigas, lo que resulta imprescindible para la caracterización matemática de esta actividad. Estos gráficos son los histogramas de densidad de probabilidad (Fig. 2a), de frecuencia de aparición de cada intervalo y del logaritmo neperiano de esta frecuencia, de las funciones de sobrevivencia (Figuras 1b y 2b) y de riesgo (Fig. 2c) (según las definiciones)^{1,5,6} y la comparación de las distribuciones real y teórica correspondientes (Fig. 1a). Todos estos gráficos presentan las características siguientes:

Son histogramas de barras, excepto el gráfico de la distribución teórica por ser una función continua; las escalas se escogen de forma interactiva (el usuario puede decidir cuántos puntos de la escala representan un valor de intervalo). Para el eje de las abscisas se ofrece un criterio para tener la certeza de que se está representando en dicha escala el 90; 95 ó 99 % del número total de datos. La escala del eje de las ordenadas se puede ampliar o disminuir, según el deseo del usuario; en el eje de las abscisas siempre se representan los valores de los intervalos entre impulsos nerviosos; en el eje de las ordenadas se permite escoger entre representar la probabilidad de aparición de cada valor de intervalo, su frecuencia, el logaritmo neperiano de la frecuencia, la función de sobrevivencia o la de riesgo.

Además, se ofrece la posibilidad de valorar si la distribución real analizada cumple o no con la distribución normal o exponencial teórica correspondiente. Esta valoración se realiza mediante la comparación gráfica de las distribuciones real y teórica correspondientes (Fig. 1a), así

como mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov ($p < 0,05$). En el caso de la comparación con la distribución normal teórica se calcula la curtosis y su error estándar, valores con los cuales se realiza una prueba de hipótesis (prueba t) que permite comprobar si las distribuciones real y teórica difieren en forma significativa ($p < 0,05$).

En el análisis no-secuencial se pierde información acerca del orden en que aparecen los valores de los intervalos sucesivos, por lo que se hace necesario aplicar también otro procesamiento en que esto no ocurra, como el análisis secuencial. El aspecto de los gráficos obtenidos con este análisis (histogramas de autocorrelación y de intervalos pareados) también constituye un criterio para saber si la distribución real cumple o no con una teórica.

El programa que se realizó en Turbo-Pascal (versión 4.0), es fácilmente manipulable por usuarios no expertos en computación, realizando la interacción a través de distintos niveles de menús, en cada uno de los cuales se realizan procesos de validación. Este programa ya ha sido utilizado para el análisis de la actividad impulsiva en ausencia de estimulación en 3 células receptoras.

En el proceso de adquisición de datos se realizaron también validaciones. La subrutina confeccionada con este fin fue declarada como un procedimiento externo al programa y se enlazó con este utilizando las directivas de enlace del Turbo-Pascal. En la implementación del método estadístico antes expuesto se utilizaron varios tipos de algoritmos, algunos creados para resolver problemas implícitos en el procesamiento de estos datos, y otros clásicos, como el de ordenamiento "compara y distribuye". La contradicción espacio-tiempo, presente en toda realización computacional, se trató de resolver asignándole mayor peso al tiempo, ya que este trabajo tiene como característica el manejo y procesamiento de un gran volumen de información de manera interactiva.

RECONOCIMIENTO

Los autores desean expresar su agradecimiento al Ing. Elias Rada, del departamento de Desarrollo de la F. res de Servicios de la Educación Superior, del Ministerio de Educación Superior, por su valiosa ayuda en la elaboración de la subrutina en lenguaje ensamblador.

BIBLIOGRAFIA

1. Rodieck R.W., Kiang N.Y.S. and Gerstein G. L. *Biophysical J.*, 2, 351, 1962.
2. Kiang N.Y.S. Discharge patterns of single fibres in the cat's auditory nerve, MIT Press, Cambridge, Mass, 1965.
3. Manley G.A. *Progr. Sensory Physiol.*, 2, 49, 1981.
4. Manley G.A. En: Lewis B. Bioacoustics, A comparative approach. 207-232, Springer- Verlag, Berlin, Heidelberg, 207-232, 1983.
5. Moore G.P. Perkel D.H. and Segundo J.P. *Ann. Rev. Physiol.*, 28, 493, 1986.
6. Perkel D.H. Gerstein G.L. and Moore G. P. *Biophysical J.*, 7, 391, 1967.
7. Mesherskii R.M. Análisis de la actividad neuronal (en ruso), ed. Nauka, Moscú, 1972.
8. Coro F., Machado A., Mojena O. y Pérez M. *Biología II*, 17, 1988.

DIGITAL ELECTROENCEPHALOGRAPH SOFTWARE PROGRAM FOR THE MEDICID - 03M SYSTEM

The DIGITAL ELECTROENCEPHALOGRAPH combines the functions of a traditional electroencephalographic system with the possibilities of quantitative analysis of the electroencephalogram, permitting the integration of both techniques.

Software capability:

- EEG "on screen" instead of "on paper"
- User defined clinical data
- User defined EEG data acquisition strategy: up to 20 EEG states with variable duration, up to 9 on-line event marks
- On-line monopolar recording. off-line up to 10 bipolar views
- Edition of selected EEG segments for analysis
- Zero-crossing and amplitude difference computation
- Creation of the standardized report of the visual interpretation of the EEG
- Spectra and multivariate generalized spectra display
- Broad Band Spectral Parameters analysis
- Xi-Alpha parametric multivariate spectral analysis
- Population age regression norms for all measures (5 to 97 years)
- Z transform brain maps for all measures (neurometric approach)
- Off-line current source density computation
- Topographic voltage and current source density maps

Hardware capability:

- Up to 23 amplifiers for EEG with gain 10 000, filters from 0.3 to 30 Hz and notch filter at 60 Hz (50 Hz), with noise of 2 μV (RMS)
- Square wave for the calibration of 10 Hz and 50 μV (peak to peak)
- A/D converter of 12 bits with sign
- Any IBM XT/AT compatible microcomputer

