

## Tesis de Grado

# Identificación de biomarcadores del estrés usando correlaciones espaciales y temporales de las actividades cerebral y periférica del sistema nervioso humano

Álvarez Mercé, Rocío

2017

Este documento forma parte de las colecciones digitales de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en [bibliotecadigital.exactas.uba.ar](http://bibliotecadigital.exactas.uba.ar). Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the digital collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in [bibliotecadigital.exactas.uba.ar](http://bibliotecadigital.exactas.uba.ar). It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Álvarez Mercé, Rocío. (2017). Identificación de biomarcadores del estrés usando correlaciones espaciales y temporales de las actividades cerebral y periférica del sistema nervioso humano. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

[https://hdl.handle.net/20.500.12110/seminario\\_nFIS000002\\_AlvarezMerce](https://hdl.handle.net/20.500.12110/seminario_nFIS000002_AlvarezMerce)

Cita tipo Chicago:

Álvarez Mercé, Rocío. "Identificación de biomarcadores del estrés usando correlaciones espaciales y temporales de las actividades cerebral y periférica del sistema nervioso humano". Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 2017.

[https://hdl.handle.net/20.500.12110/seminario\\_nFIS000002\\_AlvarezMerce](https://hdl.handle.net/20.500.12110/seminario_nFIS000002_AlvarezMerce)

**EXACTAS** UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



**UBA**

Universidad de Buenos Aires



Identificación de biomarcadores del estrés usando  
correlaciones espaciales y temporales de las actividades  
cerebral y periférica del sistema nervioso humano

Rocío Álvarez Mercé

Tesis de Licenciatura en Ciencias Físicas

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

Universidad de Buenos Aires

Febrero 2017



TEMA: Identificación de biomarcadores del estrés usando correlaciones espaciales y temporales de las actividades cerebral y periférica del sistema nervioso humano.

ALUMNA: Rocío Álvarez Mercé

LU N°: 282/09

LUGAR DE TRABAJO: Fundación para la Lucha contra Enfermedades Neurológicas de la Infancia (FLENI)

DIRECTORA DEL TRABAJO: Dra. Mirta Fabiana Villarreal

CODIRECTORA: Dra. Mariana Nair Castro

FECHA DE INICIACIÓN: Abril de 2016

FECHA DE FINALIZACIÓN: Febrero de 2017

FECHA DE EXAMEN:

INFORME FINAL APROBADO POR:

\_\_\_\_\_  
Autor

\_\_\_\_\_  
Jurado

\_\_\_\_\_  
Director

\_\_\_\_\_  
Jurado

\_\_\_\_\_  
Profesor de Tesis de Licenciatura

\_\_\_\_\_  
Jurado



## AGRADECIMIENTOS

A mis directoras Mirta y Mariana, por su constante dedicación y paciencia a lo largo de estos años, desde laboratorio 6 y 7 hasta el día de hoy. Por haber compartido conmigo con gran humildad y generosidad sus conocimientos.

A mis amigos y compañeros, sin ellos el camino hubiera sido muy difícil de transitar. Especialmente a Matías, por acompañarme en los buenos y malos momentos, y ayudarme a seguir adelante.

A todo el equipo de FLENI que participó en los proyectos, charlas y reuniones. Sin ellos, este trabajo no hubiera sido posible.

A mis padres, por sobretodo. Por el amor, la ayuda y el apoyo incondicional de toda una vida.



# Índice

Resumen.....	- 1 -
Abreviaturas y glosario .....	- 3 -
<b>Capítulo 1: Introducción .....</b>	<b>- 7 -</b>
1.1. Generalidades .....	- 7 -
1.2. Detección de las señales del sistema nervioso .....	- 8 -
1.3. Propuesta .....	- 10 -
<b>Capítulo 2: Marco teórico .....</b>	<b>- 11 -</b>
2.1. Señales periféricas.....	- 11 -
2.1.1. EDA.....	- 12 -
2.1.2. ECG .....	- 14 -
2.1.3. DA .....	- 16 -
2.2. Actividad cerebral .....	- 17 -
2.2.1. Resonancia magnética nuclear.....	- 18 -
2.2.2. fMRI .....	- 21 -
<b>Capítulo 3: Métodos.....</b>	<b>- 25 -</b>
3.1. Participantes .....	- 25 -
3.2. Paradigmas experimentales .....	- 26 -
3.2.1. Estado de Reposo (RS).....	- 26 -
3.2.2. Inducción de Estrés (SI) .....	- 26 -
3.3. Adquisición simultánea de datos.....	- 28 -
3.4. Análisis estadístico de las variables autonómicas periféricas .....	- 29 -
<b>Capítulo 4: Señales periféricas .....</b>	<b>- 31 -</b>
4.1. Instrumental.....	- 31 -
4.1.1. EDA100C-MRI .....	- 32 -
4.1.2. ECG100C-MRI.....	- 33 -
4.1.3. DA100C.....	- 35 -
4.2. Filtros y procesamiento .....	- 36 -
4.2.1. Filtros.....	- 36 -



4.2.2. Cortes.....	- 42 -
4.2.3. Procesamiento de datos .....	- 44 -
4.3. Resultados .....	- 49 -
4.3.1. Señales Periféricas vs. bloques.....	- 49 -
4.3.2. Variabilidad del aEDA a lo largo del paradigma .....	- 57 -
<b>Capítulo 5: Correlato periférico.....</b>	<b>- 61 -</b>
5.1. Relación entre señales periféricas .....	- 61 -
5.2. Acoplamiento cardio-respiratorio .....	- 64 -
<b>Capítulo 6: Señales Centrales .....</b>	<b>- 69 -</b>
6.1. Instrumental y parámetros.....	- 69 -
6.2. Modelado de las imágenes .....	- 70 -
6.2.1 Pre-procesado .....	- 70 -
6.2.2 Modelado de la señal BOLD .....	- 72 -
6.3. Resultados .....	- 73 -
6.3.1. Tareas vs. REST .....	- 74 -
6.3.2. ESTRÉS vs. CONTROL .....	- 77 -
<b>Capítulo 7: Correlato periférico-central.....</b>	<b>- 79 -</b>
7.1. Regresiones múltiples .....	- 79 -
7.2. Resultados .....	- 80 -
<b>Capítulo 8: Conclusiones.....</b>	<b>- 89 -</b>
8.1. Señales periféricas.....	- 90 -
8.1.1. Señales periféricas vs. bloques .....	- 90 -
8.1.2. Correlato entre señales periféricas.....	- 93 -
8.2. Señales Centrales.....	- 94 -
8.3. Correlato periférico central .....	- 96 -
8.4. Conclusión general.....	- 97 -
<b>BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>- 101 -</b>

## Resumen

Los equipos de resonancia magnética nuclear de uso clínico permiten registrar imágenes de la actividad cerebral ante estímulos o tareas pautadas. Muchas veces, dado el alto grado de subjetividad del proceso mental a estudiar, no se evidencia una respuesta objetivable externamente. Así, el nivel de estrés generado ante un estímulo de esta índole no se puede cuantificar, por lo que se ignora si la persona alcanzó o no el estado mental esperado. Por tal motivo, resulta conveniente buscar una forma de medirlo.

El cuerpo humano es un sistema biológico en el cual diversos fenómenos físicos y químicos actúan conjuntamente para lograr su funcionamiento. Esto lleva a que muchos modelos de la física y métodos de análisis sean aplicables a las señales biológicas, con la finalidad de comprender y modelar su dinámica. El sistema nervioso autónomo (SNA) es un mediador de las respuestas emocionales, por lo que medir sus variables periféricas como la actividad electrodérmica, las características de la frecuencia respiratoria o la frecuencia cardíaca y su variabilidad frente a estímulos externos; y sus variables centrales, como la actividad cerebral, posibilitaría la cuantificación objetiva de la respuesta emocional.

El objetivo de este trabajo es estudiar, para pacientes con Trastorno Depresivo Mayor y pacientes con Trastorno Límite de la Personalidad, en comparación con un grupo control, el comportamiento de las variables autonómicas periféricas y la actividad cerebral, bajo un paradigma de inducción de estrés. Además, se propuso registrar, en forma simultánea, todas las variables (tanto periféricas, como centrales), para poder estudiar la relación entre ellas, y su acoplamiento. El análisis conjunto de estas variables es fundamental, tanto para extender la comprensión de la fisiopatología de las enfermedades estudiadas, como para aportar nuevos marcadores neurobiológicos de especificidad para dichas patologías neuropsiquiátricas.

Se caracterizaron las distintas señales autonómicas periféricas, tanto individualmente como en conjunto. Se determinó la existencia de diferentes biomarcadores basados en la modificación de la dinámica de dichas variables en respuesta al estrés. Para el caso de las señales centrales, se caracterizó la actividad cerebral presente durante el paradigma mediante la técnica de resonancia magnética funcional. Además, se determinó la dinámica de correlación entre las áreas cerebrales involucradas en el procesamiento del estímulo y los biomarcadores periféricos. Adicionalmente, se encontró una nueva forma de clasificación de las señales, en función de la condición en la que se encuentra el individuo (reposo, estrés, entre otras), y del grupo al que pertenece.

## Abreviaturas y glosario

### Abreviaturas generales

BOLD: contraste dependiente del nivel de oxígeno en sangre (*Blood Oxygenation Level Dependent*)

CBSF: filtro peine o *comb* (*Comb Band Stop Filter*)

DSM-V: Quinta edición del Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales (*Statistical Manual of Mental Disorders – 5th edition*)

EPI: secuencia de imagen de gradiente eco-planar

FOV: campo de visión (field of vision)

GLM: modelo lineal general

HP: filtro pasa altos (*High Pass*)

hrf: función de respuesta hemodinámica (*hemodynamic response function*)

LP: filtro pasa bajos (*Low Pass*)

RF: radiofrecuencia

RMf/fMRI: resonancia magnética funcional (*functional Magnetic Resonance Imaging*)

RMN: resonancia magnética nuclear

SNA: sistema nervioso autónomo

TDM: Trastorno Depresivo Mayor

TE: tiempo de eco

TLP: Trastorno Límite de la Personalidad

TR: tiempo de repetición

## **Paradigmas**

C<sub>i</sub>/C: bloque/condición CONTROL

P<sub>i</sub>/P: bloque/condición POST

R<sub>i</sub>/R: bloque/condición REST

S<sub>i</sub>/S: bloque/condición ESTRÉS

RS: paradigma de reposo

SI: paradigma de inducción de estrés

## **Señales periféricas**

aEDA: área bajo la curva de la señal electrodérmica

ASR: arritmia sinusal respiratoria

DA: señal respiratoria

DA-aFFT: área bajo la curva de la FFT normalizada de la señal respiratoria

DA-mF: frecuencia media respiratoria

ECG: electrocardiograma (señal cardíaca)

EDA: señal electrodérmica

HF: potencia de la VFC en la banda de alta frecuencia (*high frequency*)

LF: potencia de la VFC en la banda de baja frecuencia (*low frequency*)

RR: intervalo entre dos ondas R sucesivas

SCL: nivel de la conductancia de la piel (*skin conductance level*)

SCR: respuesta de la conductancia de la piel (*skin conductance response*)

VFC: variabilidad de la frecuencia cardíaca

## **Áreas cerebrales**

AM: área motora

Amg: amígdala

CA: cíngulo anterior

CAn: circunvolución anterior

CFIO: circunvolución frontal inferior orbital

CFIP: circunvolución frontal inferior opercular

CFIT: circunvolución frontal inferior triangular

CFM: circunvolución frontal media

CFMO: circunvolución frontal media orbital

CFS: circunvolución frontal superior

CFS: circunvolución frontal superior

CFSMd: circunvolución frontal superior medial

CM: cíngulo medio

CTM: circunvolución temporal media

CTS: circunvolución temporal superior

---

H: hipocampo

IS: ínsula

PH: parahipocampo

Pm: putamen

SPM: circunvolución supramarginal

# Capítulo 1: Introducción

## 1.1. Generalidades

El cuerpo humano es un sistema biológico en el cual diversos fenómenos físicos y químicos actúan conjuntamente para lograr su funcionamiento. Esto implica que muchos modelos de la física y métodos de análisis sean aplicables a las señales biológicas con la finalidad de comprender y modelar su dinámica.

El cerebro en particular, está compuesto por una red de conexiones neuronales cuya dinámica está relacionada tanto con el funcionamiento básico del cuerpo, como con la injerencia de eventos externos. La actividad cerebral está formada por la transmisión de impulsos eléctricos o potenciales de acción entre las billones de neuronas que contiene el cerebro humano. Este proceso provee la conducción de la información desde la entrada -el caso de los ojos en un estímulo visual- hasta el objetivo final (por ejemplo, resolver una cuenta aritmética). Para ello, la información debe ingresar primero por el sistema sensorial, luego irá a sectores del cerebro encargados del procesamiento básico del impulso de entrada, desde allí se distribuirá a otras zonas del cerebro que se ocupan de procesamientos de mayor nivel de complejidad y asociación, y finalmente producirá una respuesta. En consecuencia, el cerebro opera como una gran supercomputadora que, en forma colectiva e integradora, recibe una señal, la procesa y genera otra de salida.



## 1.2. Detección de las señales del sistema nervioso

La resonancia magnética funcional (fMRI), debido a su excelente resolución espacial y relativamente buena resolución temporal, ha sido una de las metodologías dominantes de monitoreo de la actividad cerebral a gran escala durante las últimas décadas. La misma proporciona un método indirecto para detectar la actividad neuronal, basándose en los cambios de las propiedades magnéticas que experimenta la hemoglobina como consecuencia de la actividad neuronal. La metodología más utilizada en estudios de fMRI consiste en registrar la actividad cerebral de un sujeto mientras realiza una tarea dada, y/o se le presenta una secuencia de estímulos (auditivos y/o visuales generalmente). De esta manera, pueden detectarse cambios en la oxigenación sanguínea local del área cerebral involucrada, dando origen a la llamada señal BOLD (Blood Oxygen Level Dependent, o dependiente de nivel de oxigenación sanguínea; Ogawa et al., 1990). El resultado indica qué áreas del cerebro fueron empleadas en el procesamiento de la tarea realizada al momento del estudio.

El estudio de las regiones del cerebro humano asociadas a tareas específicas ha resultado de mucho interés en los últimos tiempos. En particular, el modo en que el cerebro procesa eventos más abstractos (como el estrés, el cálculo matemático, o el proceso emocional) ha tomado un rol preponderante en los últimos cinco años ya que no sólo permite conocer más sobre el cerebro humano sano, sino que posibilita entender los mecanismos cerebrales empleados por personas con disfunciones que dificultan su inserción social (Villarreal et al., 2014; de Achával et al., 2010; Castro et al., 2008, 2009, 2015). Sin embargo, la evaluación de estos eventos resulta de gran dificultad dada la enorme subjetividad y la gran variabilidad de un individuo a otro. Así, el nivel de estrés o emoción generado ante un estímulo de esta índole no se puede cuantificar, por lo que se ignora si la persona alcanzó o no el estado mental esperado. Por tal motivo resulta conveniente buscar una forma de medirlo.

Es sabido que existe a nivel corporal un correlato físicamente medible del estado emocional, dado por la actividad del sistema nervioso autónomo (SNA), una parte del sistema nervioso caracterizada por ser no voluntaria. Anatómicamente posee un sector central, conformado por estructuras cerebrales; y otro periférico, el cual se extiende sobre los principales órganos que regula, como el corazón, los músculos respiratorios o la piel

(Cardinali, 2007). Funcionalmente, se divide en dos ramas, simpática y parasimpática, que modulan como un sistema de doble rienda a cada órgano. Así, la división simpática prepara al organismo para la lucha o la huida, llevando a un aumento de la frecuencia cardíaca, respiratoria y de la conductancia de la piel, procesos que conllevan un gasto de energía. Por otra parte, la división parasimpática conduce a la recuperación de la energía, llevando a una disminución de las variables mencionadas (Cardinali, 2007). El sector jerárquico superior del SNA es el sistema límbico, conformado por una serie de estructuras cerebrales encargadas del procesamiento emocional y motivacional. En consecuencia, situaciones emocionales o de estrés tendrán influencia sobre las variables periféricas mencionadas, por lo que su medición permitiría cuantificar de manera más objetiva el estado emocional del sujeto de estudio. El análisis de la variabilidad de dichos sistemas permite obtener propiedades de los mismos y detectar eventuales anomalías. Más aún, cuantificar los desórdenes de este sistema puede también ayudar a comprender enfermedades o alteraciones de las cuales aún se desconocen los mecanismos subyacentes.

Un ejemplo de aplicación de estos análisis yace en el estudio de las enfermedades psiquiátricas, en donde a pesar de no evidenciarse lesiones cerebrales visibles, se han encontrado claras alteraciones en la dinámica de la actividad del sistema nervioso autónomo, tanto a nivel central como periférico (Castro et al., 2008, 2009, 2015). Los avances en el estudio de la enfermedad mental han permitido identificar patrones de alteración de la respuesta adaptativa al estrés y de la regulación emocional comunes a diferentes patologías, que implican cambios a nivel funcional en áreas cerebrales como por ejemplo áreas límbicas, paralímbicas y prefrontales, entre otras. Sin embargo, además de estos cambios transdiagnósticos, la evidencia apunta a la existencia de variaciones que podrían ser útiles como biomarcadores de especificidad para una determinada patología. De este modo, existen algunos hallazgos que indican cierta especificidad asociada a determinados trastornos. El Trastorno Depresivo Mayor (TDM), está caracterizado por un déficit funcional de las regiones prefrontales de control cognitivo en respuesta a situaciones que pueden resultar demandantes para el sujeto (Etkin, Gyurak, y O'Hara, 2013). Por otro lado, en un estudio mediante técnicas de neuroimagen de pacientes con Trastorno Límite de la Personalidad (TLP) se han observado alteraciones funcionales en la corteza orbitofrontal durante la realización de pruebas de regulación emocional

dirigida, lo que indicaría una alteración en el sustrato neurobiológico de la capacidad de control emocional voluntario (Schulze et al., 2011).

### **1.3. Propuesta**

Si bien hay una relativa cantidad de trabajos abordados sobre las señales mencionadas, no se reportan estudios que hayan analizado el sector periférico y central en forma conjunta (fMRI, actividad cardíaca, respiratoria y cutánea), por lo que se desconocen los mecanismos de acoplamiento entre ellas. Para tal fin, se propone en este trabajo registrar en forma simultánea todas las variables mencionadas durante el reposo y ante un paradigma de estrés mental aritmético, en un grupo de pacientes con TDM y un grupo con TLP, en comparación con controles sanos. El análisis conjunto de estas variables es fundamental, tanto para extender la comprensión de la fisiopatología de las enfermedades estudiadas, como para aportar nuevos marcadores neurobiológicos de especificidad de dichas patologías neuropsiquiátricas.

## Capítulo 2: Marco teórico

### 2.1. Señales periféricas

A lo largo de esta tesis trabajaremos con tres señales periféricas del SNA: la conductancia de la piel (EDA), la respuesta cardíaca (ECG) y la señal respiratoria (DA).

La respuesta cardíaca y la señal respiratoria son moduladas tanto por la división simpática (procesos de alerta) como por la parasimpática (procesos de recuperación), por lo que su estudio nos permite un análisis detallado del SNA. Las oscilaciones respiratorias están asociadas con el ciclo cardíaco. Por tal motivo, sus cambios son generalmente estudiados sólo como un complemento de la oscilación cardíaca y poco se han investigado sus características propias y cómo se ven modificadas por la vivencia de un estímulo externo. Se sabe por ejemplo, que en condiciones de reposo, cada vez que inspiramos la frecuencia cardíaca aumenta, y cada vez que exhalamos disminuye (arritmia sinusal respiratoria). Un aumento de la frecuencia cardíaca está asociado a estrés o esfuerzo, hecho que se corresponde también con un aumento de la frecuencia respiratoria. En otras situaciones particulares, por ejemplo, durante la meditación controlada, ambos ciclos se hallan completamente sincronizados, siendo la frecuencia de variabilidad cardíaca igual que la respiratoria (Cysarz et al., 2005). Por otro lado, la conductividad de la piel es un proceso multifacético que no refleja un único fenómeno psicológico, dado que recibe inervación únicamente de la rama simpática. Se ha empleado su medición en un amplio espectro de investigaciones, tales como indicador de atención, habituación, excitación, esfuerzo cognitivo y toma de decisiones (Dawson et al., 2011).

El análisis en la variabilidad de dichos sistemas permite obtener propiedades de los mismos que podrían ayudar a encontrar biomarcadores emocionales en las muestras de estudio. A continuación, se detallan las características propias de cada una de las señales periféricas adquiridas a lo largo de este trabajo.

### **2.1.1. EDA**

La piel tiene propiedades eléctricas que varían en el orden de los segundos, y están estrechamente relacionadas con algunos procesos psicológicos (Figner y Murphy, 2010). Muchos términos se han utilizado para referirse a la actividad electrodérmica: *Electrodermal Activity*, EDA, conductancia de la piel o respuesta galvánica, a veces de manera indistinta. En particular, el término “conductancia de la piel” hace referencia a cuán bien la piel conduce la electricidad cuando se aplica una corriente externa de voltaje constante, y se mide en microSiemens ( $\mu\text{S}$ ).

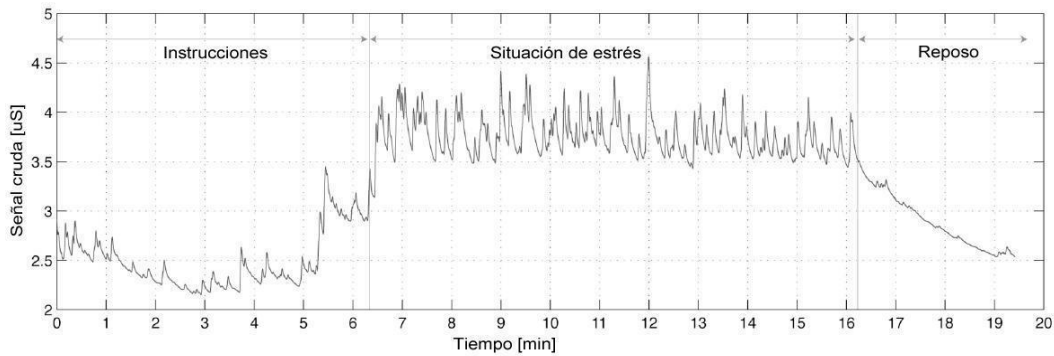
Los cambios en la actividad electrodérmica están relacionados con cambios en las glándulas sudoríparas ecrinas que están, a su vez, vinculados con la actividad en la rama simpática del sistema nervioso autónomo. En consecuencia, las adquisiciones del EDA se han utilizado para estudiar los procesos relacionados con la activación simpática, como situaciones emocionales, de estrés o toma de decisiones (Figner y Murphy, 2010).

Hay distintas variables que reflejan uno u otro aspecto de esta actividad, así como diferentes formas de medir cada una de ellas. A las adquisiciones del EDA que no requieren de una corriente externa se las llama endosomáticas, mientras que a aquellas que sí lo requieren (como en nuestro caso, la conductancia de la piel) se las llama exosomáticas. El proceso de medición consiste en aplicar una tensión constante entre dos electrodos ubicados en la mano y medir la conductancia de la piel. Las tensiones aplicadas son del orden de 500mV y las respuestas medidas están en el orden de los 10 $\mu\text{S}$ . Asimismo, la respuesta galvánica de la piel puede clasificarse como tónica o fásica, dependiendo de su escala temporal y su relación al estímulo como indica la Tabla 2.1:

Respuesta	Escala temporal	Variable
Tónica	3s a 10min	SCL ( <i>Skin Conductance Level</i> )
Fásica	3s	SCR ( <i>Skin Conductance Response</i> )

**Tabla 2.1:** Clasificadores de la conductancia de la piel. El SCL es un medidor continuo de la conductancia de la piel durante intervalos largos, del orden del minuto, y presenta diferentes niveles en su comportamiento. Los SCR son discretos, presentándose como diferentes picos de corta duración. Éstos reflejan la variabilidad de alta frecuencia de la señal, y se encuentran montados sobre los cambios de mayores intervalos temporales de la SCL.

A continuación, se muestra un registro típico del EDA (Figura 2.1) adquirido a lo largo de un paradigma<sup>1</sup> de inducción de estrés.



**Figura 2.1:** Registro típico de una señal EDA a lo largo de diferentes tareas. Durante los primeros 6 minutos de registro, se le explicó al sujeto medido la tarea que realizaría a continuación, y se lo dejó practicar libremente sin ninguna restricción. Desde el minuto 6.2 al 16.2 (el área presente entre las líneas grises verticales), el participante realizó un paradigma de inducción de estrés. Finalmente, desde el minuto 16.2 en adelante, el individuo se encontró en reposo.

<sup>1</sup> A la secuencia de estímulos que el individuo recibe dentro del resonador se lo denomina “paradigma”.

En la Figura 2.1 pueden observarse tanto las respuestas tónicas (SCL) como fásicas (SCR) en la señal. Las respuestas del orden de los minutos corresponden al SCL, como se mencionó anteriormente: la línea basal del EDA es menor para las zonas de “Instrucciones” y “Reposo”, que para la fase de estrés. Durante la respuesta SCL se observan los picos SCR de alta frecuencia, montados sobre la línea base. Los picos SCR definen una fluctuación corta en la conductancia de la piel y están conformados por un patrón característico: una pendiente inicial pronunciada, seguida por un pico bien definido, para luego retornar más suavemente a la línea base correspondiente.

Como puede verse en la figura anterior, hay una mayor cantidad de SCR durante la etapa de inducción de estrés del paradigma, mientras que su frecuencia disminuye notablemente para los bloques de instrucción y reposo. De aquí se desprende que la señal fásica está íntimamente relacionada al estímulo, mientras que la tónica no tiene una relación directa (Figner y Murphy, 2010).

Es importante señalar que existe un porcentaje no menor de personas, que por razones que aún se desconocen, no producen una actividad electrodérmica visible y por lo tanto son catalogados como no-respondedores.

### **2.1.2. ECG**

El corazón es un músculo compuesto por células contráctiles excitables que van modificando su voltaje durante cada ciclo cardíaco. Para contraerse y eyectar la sangre, cada célula se despolariza mediante iones que se encuentran en los compartimentos intra y extracelular. Esta despolarización se produce al generarse una corriente neta positiva hacia adentro a través de canales voltaje-dependientes. Luego, durante la fase de “repolarización”, los canales voltaje-dependientes de dichos iones se comportan de forma tal que aseguran una corriente neta positiva hacia fuera, lo que causa la repolarización celular.

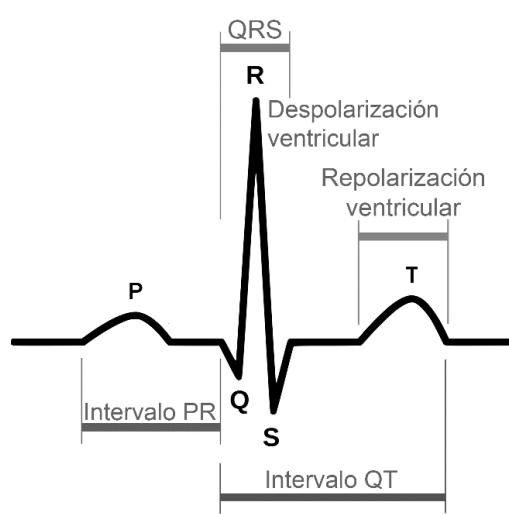
El ECG (electrocardiograma) es una técnica utilizada para registrar la actividad cardíaca. A través de este proceso se puede medir la señal eléctrica, en la zona precordial (región o parte del pecho que corresponde al corazón), causada por la despolarización de

las células musculares del corazón. Un amplificador es utilizado para incrementar el voltaje medido para su mejor visualización y posterior análisis. Puede observarse un registro típico de ECG en la Figura 2.2.



**Figura 2.2:** Registro típico del ECG [mV] en función del tiempo [s] para un sujeto en reposo fuera del electroimán (resonador magnético).

Durante cada ciclo cardíaco, el corazón sigue una onda de despolarización que representa fluctuaciones en el voltaje: esta onda se conoce como complejo QRS (Figura 2.3), y representa la contracción o latido cardíaco.



**Figura 2.3:** Complejo de la señal cardíaca (ECG). En la parte central se observa el complejo QRS, que corresponde la despolarización de los ventrículos.

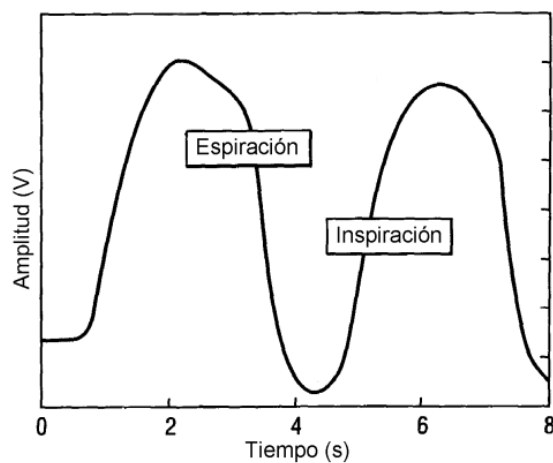
El registro del ECG resultará de la modulación de la contractilidad cardíaca por diversos factores como las hormonas, la temperatura, como así también por el SNA. Tal como fue explicado en la sección anterior, la división simpática aumentará la frecuencia cardíaca y la parasimpática la disminuirá.



El ECG se ha utilizado desde hace más de 100 años con diferentes objetivos, desde diagnóstico hasta investigación. Es por esto que sus características intrínsecas han sido sujeto de análisis en numerosos trabajos (Tranchesì, 1973; Rautaharju, 1987; Bär et al, 2007). De esta manera, en investigaciones anteriores se han encontrado alteraciones en la variabilidad de la frecuencia cardíaca, que describen un estado de “*hyperarousal*”, o de alerta excesiva (Castro et al., 2008), en individuos con esquizofrenia bajo un paradigma de inducción de estrés. Así, esta variable será importante a la hora de estudiar estímulos de índole emocional.

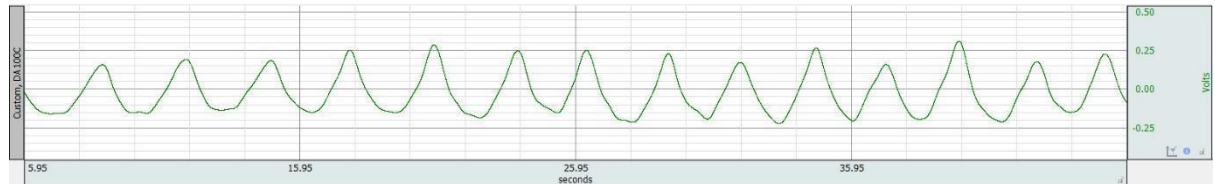
### 2.1.3. DA

La mecánica del ciclo respiratorio consiste en procesos alternados de inspiración y espiración (ver Figura 2.4). Durante estos procesos, los músculos esqueléticos como el diafragma e intercostales externos, se contraen y se expanden respectivamente. El desplazamiento de la pared torácica arrastra los pulmones de tal forma que al aumentar o disminuir el volumen de la cavidad torácica, se producirá un cambio en el mismo sentido en el volumen pulmonar. Esta variación volumétrica se observa también en el abdomen, el cual se expande durante la inspiración y se contrae durante la espiración. A través de un transductor de presión, puede obtenerse una señal eléctrica en la cual se diferencian los dos procesos.



**Figura 2.4:** Esquema de un ciclo respiratorio, procesos de espiración e inspiración.

La señal DA es una curva de tipo sinusoidal (ver Figura 2.5) que varía con los cambios respiratorios. Estos últimos, a su vez, pueden ser modulados por una situación emocional o estresante, dado que la respiración también está regulada tanto por la rama simpática como la parasimpática del SNA periférico.



**Figura 2.5:** Registro típico de DA [V] en función del tiempo [s], para un sujeto en reposo fuera de un recinto magnético.

Es sabido que la señal respiratoria, si bien ha sido mayormente estudiada como complemento de la señal cardíaca, presenta diferentes parámetros característicos que se modifican tanto frente a variaciones voluntarias como frente a un estímulo externo de índole emocional. La variabilidad de estos parámetros nos demostrará que la señal respiratoria por sí misma, podría ser un posible biomarcador a la hora de cuantificar el estado emocional adquirido.

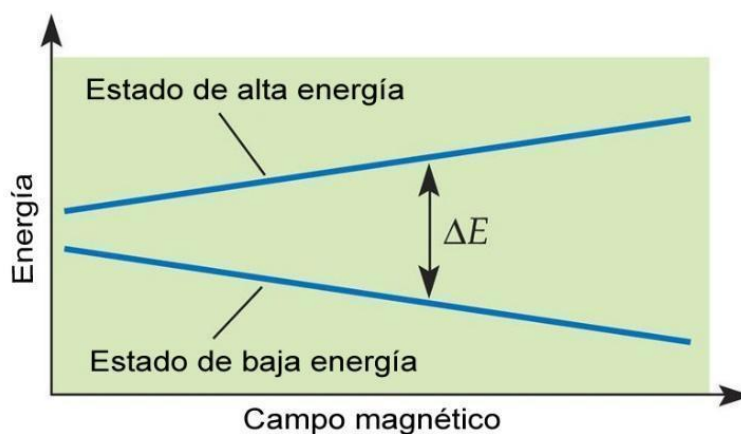
## 2.2. Actividad cerebral

Las neuronas son las unidades básicas del cerebro que realizan los cálculos necesarios para generar un amplio rango de procesos mentales. Se comunican entre sí a través de procesos electroquímicos, que transmiten la información de una neurona a otra. Esta comunicación es denominada sinapsis. Un aumento en la actividad neural en una región cerebral determinada, en particular debido a la despolarización post-sináptica y a procesos de señalización de neurotransmisores, está asociado con un incremento del flujo o volumen sanguíneo en esa región. Esta premisa es la base de los experimentos de imágenes por resonancia magnética funcional (RMf o fMRI, de su sigla en inglés “functional Magnetic Resonance Imaging). Describiremos a continuación los fundamentos físicos que permiten registrar imágenes de la actividad cerebral.

### 2.2.1. Resonancia magnética nuclear

La resonancia magnética nuclear (RMN) surge, en términos generales, de la interacción entre el momento magnético de un núcleo y un campo magnético aplicado, y forma la base de todas las técnicas modernas de obtención de imágenes por resonancia magnética (MRI - de su sigla en inglés *Magnetic resonance imaging*).

En ausencia de un campo magnético externo, no hay una orientación preferencial del momento magnético de un cuerpo, por lo que el espín de diferentes átomos apuntará a diferentes direcciones al azar y el objeto no presentará un momento magnético macroscópico neto. Al aplicarse un campo magnético externo estático ( $B_0$ ), los espines toman preferentemente dos posibles estados: uno paralelo a  $B_0$  y otro anti-paralelo. Los espines en el estado paralelo tienen un nivel de energía más bajo, mientras que los espines en el estado anti-paralelo tienen un nivel de energía más alto. El número de espines paralelos aumenta, por efecto Zeeman, con la intensidad del campo externo, y se necesitará más energía para pasar de un estado de baja energía a un estado de alta energía, como puede verse en la Figura 2.6. De esta manera, para aumentar la magnetización neta, se somete al cuerpo a un campo magnético externo estático muy intenso. Los escáneres utilizados para MRI en seres humanos, por lo general tienen campos magnéticos de aproximadamente 1.5 a 4T.



**Figura 2.6:** Efecto Zeeman. La diferencia de energía ( $\Delta E$ ) entre los estados paralelo (baja energía) y anti-paralelo (alta energía) aumenta linealmente con la intensidad del campo magnético externo aplicado. A medida que  $\Delta E$  aumenta, mayor cantidad de espines permanecerán en el estado de menor energía, lo que aumentará la magnetización neta y por lo tanto la señal medida.

Para medir la magnetización neta de espines se debe perturbar el estado de equilibrio y capturar la señal emitida durante el decaimiento. Básicamente el procedimiento consiste en excitar la muestra con un campo magnético alterno adicional  $B_1$ , a un ángulo distinto que el de  $B_0$ . La frecuencia del campo utilizada es aquella que maximiza la perturbación, la cual es llamada frecuencia de resonancia y depende de las propiedades intrínsecas del núcleo y del campo magnético estático. Esta relación viene dada por la ecuación de Larmor:

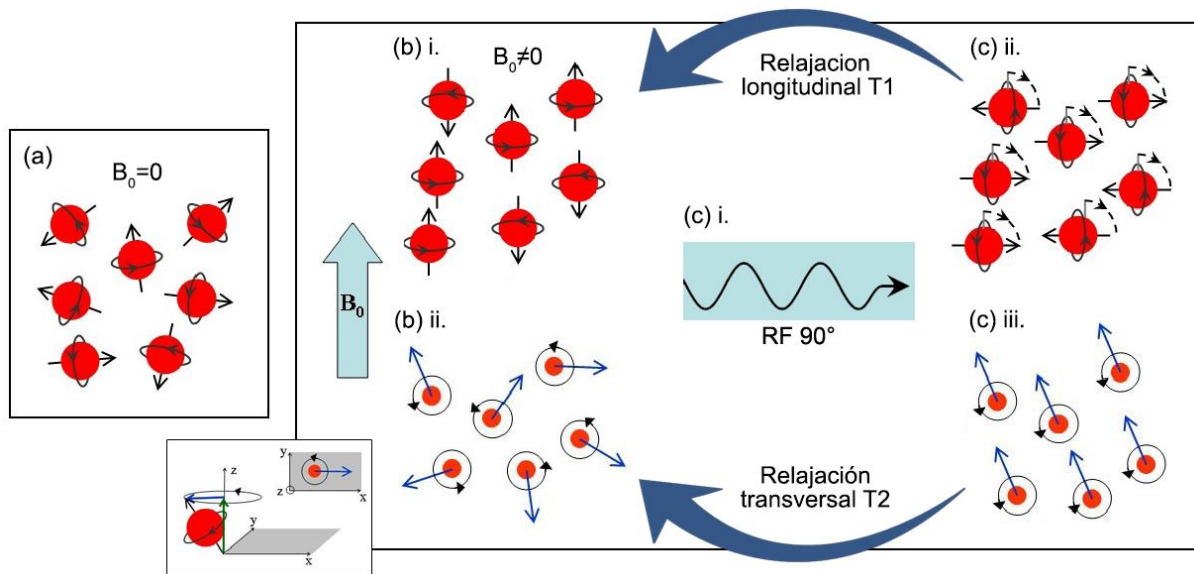
$$\nu = \gamma B_0 \quad [2.1]$$

donde  $\nu$  es la frecuencia en MHz,  $\gamma$  la relación giromagnética del espín en MHz/T y  $B_0$  la amplitud del campo magnético estático en [T]. El rango de frecuencias de resonancia generalmente utilizadas pertenece al espectro de radiofrecuencias, por lo que suele llamarse “pulso de radiofrecuencia” (RF) al campo magnético  $B_1$  aplicado. Se tiene, por ejemplo, para el hidrógeno, un  $\gamma = 42.577$  MHz/T, el cual resonará a 64 MHz para un campo de 1.5T, y a 128 MHz para un campo de 3T.

Cuando el pulso de RF es retirado, los espines vuelven al estado inicial de equilibrio a lo largo del eje de  $B_0$  (ver Figura 2.7). Este proceso de recuperación en que la energía adquirida es liberada, y eventualmente capturada por una bobina, es la relajación longitudinal, y está gobernada por una constante temporal  $T_1$  que depende del medio circundante de los espines. Las diferencias en los valores de  $T_1$  de la sustancia gris, la sustancia blanca y el fluido cerebro-espinal proveen las bases para la identificación de tejidos por imágenes de RMN.

Además de la componente longitudinal paralela al campo magnético externo, cada espín posee una componente rotatoria transversal. La dirección de esta componente es diferente para distintos núcleos (fuera de fase), por lo que el momento magnético neto en el plano transversal es cero. Sin embargo, el pulso de RF que rota a los espines, también causa que los protones realicen su precesión en fase, creando un momento magnético neto en el plano perpendicular al campo magnético estático. Cuando se apaga el pulso de RF, los espines pierden su coherencia debido a su interacción y se desfasan gradualmente, con lo que el momento magnético transversal neto desaparece (Figura 2.7). Este tipo de relajación transversal tiene una constante temporal  $T_2$ . Adicionalmente, las inhomogeneidades magnéticas locales también causan que espines en diferentes lugares

realicen su movimiento de precesión a diferentes frecuencias (de Larmor). El efecto combinado de interacción espín-espín e inhomogeneidades magnéticas transversales locales se caracterizan por una constante temporal  $T2^*$ , en la cual se basan las imágenes de resonancia magnética funcional (fMRI), técnica utilizada a lo largo de este trabajo para las variables centrales.



**Figura 2.7:** Esquema del proceso de relajación. (a) Estado natural sin campo. (b) i. Al aplicar un campo  $B_0 \neq 0$ , los espines se alinean en dirección al mismo, (b) ii. aunque preceden a distintas fases. (c) i. Se aplica un pulso de RF a  $90^\circ$  que (c) ii. rota a los espines en esa dirección y (c) iii. los pone en fase. Al apagar el RF, la coherencia entre espines se va perdiendo mediante el proceso de relajación transversal  $T2$  y a su vez, éstos van retornando a la dirección dada por  $B_0$  a través de la relajación  $T1$ .

Es importante destacar que la obtención de imágenes por resonancia magnética nuclear no es una fotografía del objeto que se escanea, sino un mapa que se construye en el espacio  $k$  de frecuencias (Huettel y Song, 2009), y que luego, mediante transformadas de Fourier es devuelto al espacio conocido. La codificación espacial en el plano  $k$  se logra mediante combinaciones de gradientes de campo magnético en los planos  $z$  e  $y$ , más desfases controlados para el plano  $x$ . A su vez, dado que se adquiere en el espacio  $k$ , es necesario una excitación por RF para cada línea  $k$ , denominando TR al tiempo de

repetición entre pulsos. Diferentes combinaciones de TR, de angulación del RF respecto a  $B_0$ , y del tiempo en que se recoge la señal de relajación TE (tiempo de eco) permiten contrastar mejor distintas propiedades relacionadas con los espines dentro de la muestra (y así realzar más uno u otro tejido), determinando lo denominado *secuencias de MRI*.

### **2.2.2. fMRI**

La resonancia magnética funcional (fMRI) es una técnica de imágenes cerebrales no invasiva que permite registrar la actividad neuronal en forma indirecta, midiendo los cambios de susceptibilidad magnética que se producen cuando el nivel de oxígeno en sangre cambia. Ante estímulos externos, como puede ser la realización de una tarea determinada, la actividad neuronal generada trae aparejado un cambio local del flujo sanguíneo y, por ende, un cambio de intensidad de la señal, que permitirá inferir una asociación posterior entre dicha tarea y las áreas cerebrales en que se detecta el cambio de señal (Kim y Ogawa, 2012).

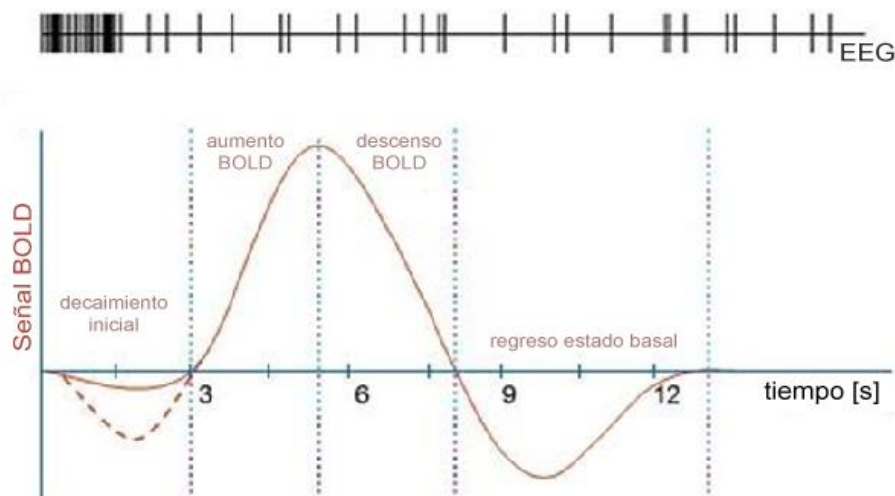
#### Señal BOLD

Las propiedades magnéticas de la sangre difieren de acuerdo a su grado de oxigenación. La molécula de hemoglobina presenta propiedades magnéticas que varían según si la molécula está unida o no al oxígeno (Pauling y Coryell, 1936). La oxihemoglobina (Hb) es diamagnética, produciendo cierto rechazo en la alineación de los protones según el campo magnético, mientras que la desoxihemoglobina (dHb, sangre no oxigenada) es paramagnética, lo que produce un aumento en la atracción de los protones hacia el campo magnético principal. Estas diferencias en la susceptibilidad magnética producen que diferentes tejidos decaigan a tiempos distintos dependiendo del nivel de oxígeno de las moléculas en ese momento.

El aumento de la actividad neuronal provocada por un estímulo externo incrementa la demanda metabólica del tejido nervioso circundante. Esto genera primero descenso de la Hb (y aumento de la dHb) a nivel local, y un posterior proceso compensatorio de aumento en exceso de la Hb hasta una lenta recuperación al nivel basal. Esto provoca que la señal  $T2^*$  captada sea localmente de mayor intensidad (mayor  $T2^*$ )

en el momento compensatorio, difiriendo de la señal captada en esa misma región fuera del estímulo (Ogawa, 1990; Kim y Ogawa, 2012). En resumen, la obtención de imágenes por fMRI se basa en medir, a partir de un cambio en la susceptibilidad magnética, el nivel de oxigenación en sangre a través de la señal denominada BOLD “Blood Oxygenation Level Dependent”.

Debido a que los cambios en la relación oxi/desoxihemoglobina dependen del flujo sanguíneo, esto hace que la señal BOLD comience 1.5 a 2 segundos después de la actividad electroquímica neuronal, alcance su pico máximo a los 5 segundos, y regrese al nivel basal en los siguientes 15 segundos (Figura 2.8). Si el evento permanece en el tiempo, la señal lo hará también, y comenzará a decaer una vez cesado el estímulo. A la variación en el tiempo de la señal BOLD frente a un evento neural breve se la conoce como función de respuesta hemodinámica o hrf (Hemodynamic Response Function).



**Figura 2.8:** Perfil de la señal BOLD en función del tiempo (hrf). Se grafica en la parte superior un registro EEG (electroencefalograma), indicando el evento neuronal eléctrico.

Para adquirir la señal BOLD se emplea una secuencia de pulsos llamada EPI-GRE (gradient echo-planar imaging). A diferencia de las demás secuencias de MRI, en ella se adquiere todo el plano  $k$  con un mismo RF, lo que la hace muy rápida, pero a su vez de menor resolución espacial. La misma queda determinada por el tamaño mínimo en el que es posible diferenciar cambios de señal entre distintas regiones del cerebro. Se procede

dividiendo el volumen a adquirir en planos o cortes y, a su vez, cada uno de ellos en una grilla. Cada cubo formado se denomina voxel. Sus dimensiones se definen a partir de 3 parámetros: campo de visión (FOV), tamaño de la matriz, y espesor del corte. El campo de visión determina el tamaño de extensión de un corte, medido en cm. El tamaño de matriz indica, dentro de ese FOV, cuántos datos van a obtenerse; es decir, la cantidad de píxeles de cada corte. Habitualmente se usan matrices cuadradas con potencias de 2, para hacer más sencilla la aplicación de la transformada de Fourier (FFT). Si el campo de visión es de 24cm x 24cm y el tamaño de la matriz es de 64 x 64, entonces los píxeles serán de 3.75 mm x 3.75 mm. Para la tercera dimensión del voxel, el espesor del corte, se suele usar un tamaño igual o mayor al de las otras dimensiones.

La señal BOLD es de muy baja intensidad, apenas un ~ 3% mayor que la señal debida a ruido (efectos térmicos, fisiológicos, movimiento, etc.). Debido a ello, es necesario realizar distintas repeticiones del estímulo para así adquirir también diferentes repeticiones de los volúmenes de modo de poder aplicar, posteriormente, modelos matemáticos y estadísticos sobre los datos, aumentar la relación señal-ruido y poner de manifiesto la activación.

La resolución temporal queda determinada por el tiempo de adquisición entre las imágenes sucesivas. Usualmente los tiempos de repetición (TR) se establecen entre 2 y 4 segundos, de modo que es posible registrar varias imágenes durante la evolución de la señal BOLD. Tiempos menores son posibles, pero la resolución espacial tendría que disminuirse. En definitiva, la resolución temporal está dada en parte por el TR, pero también está asociada con las limitaciones del sistema vascular, ya que la resolución temporal depende del período de la señal BOLD.



---

## Capítulo 3: Métodos

### 3.1. Participantes

Se evaluaron 10 pacientes que cumplían los criterios diagnósticos según DSM-V de Trastorno Límite de la Personalidad (grupo B) y 9 con Trastorno Depresivo Mayor (grupo D), que tenían: (a) diagnóstico confirmado mediante una entrevista semi-estructurada administrada por un psiquiatra, (b) entre 18 y 60 años, y (c) medicación estable durante al menos dos semanas. También se evaluaron 10 individuos sanos (grupo C) comparables en sexo y edad.

Los criterios de exclusión fueron: (a) uso de sustancias ilegales en los 6 meses previos o historia de abuso/dependencia de sustancias (b) síntomas activos teniendo recientemente (por 2 semanas) ajuste de medicación antipsicótica o se haya admitido en el hospital, (c) historia de retraso mental, (d) arritmias cardíacas, (e) presencia de enfermedad asociada a neuropatía o que involucre al SNA (por ej. diabetes), (f) uso de medicación con actividad anticolinérgica en la semana precedente. Del mismo modo, fueron excluidos todos los sujetos que presentaron cualquier característica que impedía la realización de la resonancia magnética (claustrofobia, marcapasos, etc.).

Todos los participantes dieron su consentimiento informado aprobado por el Comité de Ética local, por escrito.

## 3.2. Paradigmas experimentales

Para cada individuo se registraron dos secuencias temporales de la actividad cerebral, una durante el estado de reposo, y otra durante un paradigma de inducción de estrés mental aritmético.

### 3.2.1. Estado de Reposo (RS)

La adquisición en estado de reposo consistió en registrar las imágenes de la actividad periférica y central mientras el sujeto permanecía inmóvil dentro del resonador, sin realizar ninguna tarea. La duración total de este registro fue de 6 minutos y 40 segundos.

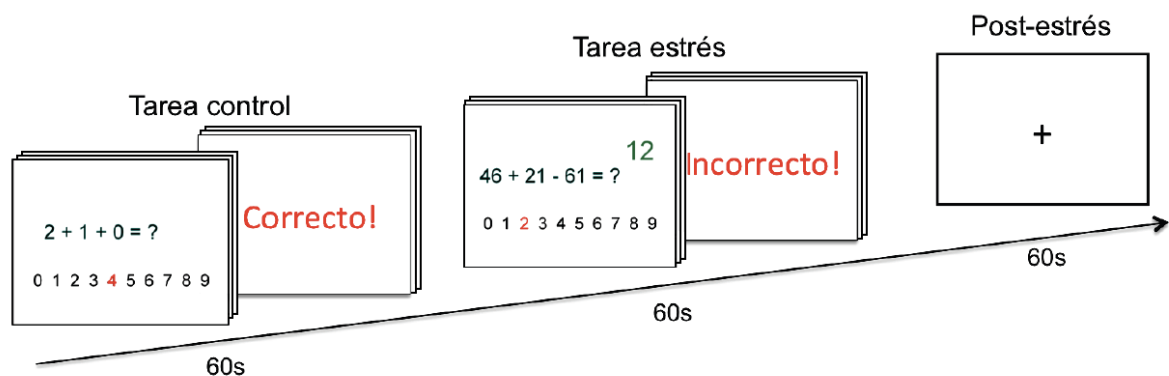
### 3.2.2. Inducción de Estrés (SI)

Se utilizó un test mental aritmético para provocar estrés moderado en los sujetos (Castro et al., 2015). El paradigma estuvo formado por tres condiciones de tres bloques cada una. Los bloques consistían en: a) un minuto de una tarea CONTROL, en la que el participante realizaba ecuaciones sencillas, consistentes en sumas de números enteros de una cifra (Tarea control, Figura 3.1); b) un minuto de tarea de ESTRÉS, que consistía en una serie de ecuaciones aritméticas más complejas, cuya operación eran restas y sumas combinadas, de tres números enteros, dos de ellos de dos cifras; esta actividad tenía un contador en cuenta regresiva usado para apremiar al sujeto (Tarea estrés, Figura 3.1); y c) un minuto de descanso post-estrés (POST), en el que se mostraba una cruz en la pantalla (post-estrés; Figura 3.1). Todas las ecuaciones tenían un resultado entre cero y nueve, y el participante debía elegir la respuesta correcta de una escala numérica, del 0 al 9, que figuraba debajo de la ecuación a resolver (Figura 3.1). Se le otorgaba a cada participante una botonera con la cual debía seleccionar la opción que consideraba correcta. Se realizaba un breve entrenamiento inicial dentro del resonador que consistía en cinco ecuaciones complejas, luego del cual se determinaba el promedio en el tiempo de resolución empleado para cada individuo. Al tiempo promedio de cada sujeto se le restaba un 20%, y éste era el tiempo inicial empleado para la resolución de la tarea de ESTRÉS

posterior, de modo que este tiempo era específico para cada sujeto. A su vez, este tiempo era nuevamente regulado durante el paradigma de la siguiente manera: si el sujeto contestaba correctamente dos ecuaciones consecutivas, se le restaba otro 5% al tiempo específico; mientras que se le sumaba el 5% si fallaba en dos respuestas consecutivas.

Estas modificaciones se realizan con el fin de asegurar que el sujeto se estrese suficientemente por la tarea, y para evitar que se frustre y abandone el ejercicio, respectivamente. En la pantalla se muestra, asimismo, un contador que va indicando los segundos que le restan al individuo para completar la actividad, con el objetivo de generar mayor estrés. Este contador se utiliza únicamente para los bloques ESTRÉS.

Todos los participantes fueron advertidos de resolver las tareas lo mejor posible, y que se estarían controlando sus respuestas, con el fin de generar también un estrés social negativo. El paradigma tuvo una duración total de 9.5 minutos.

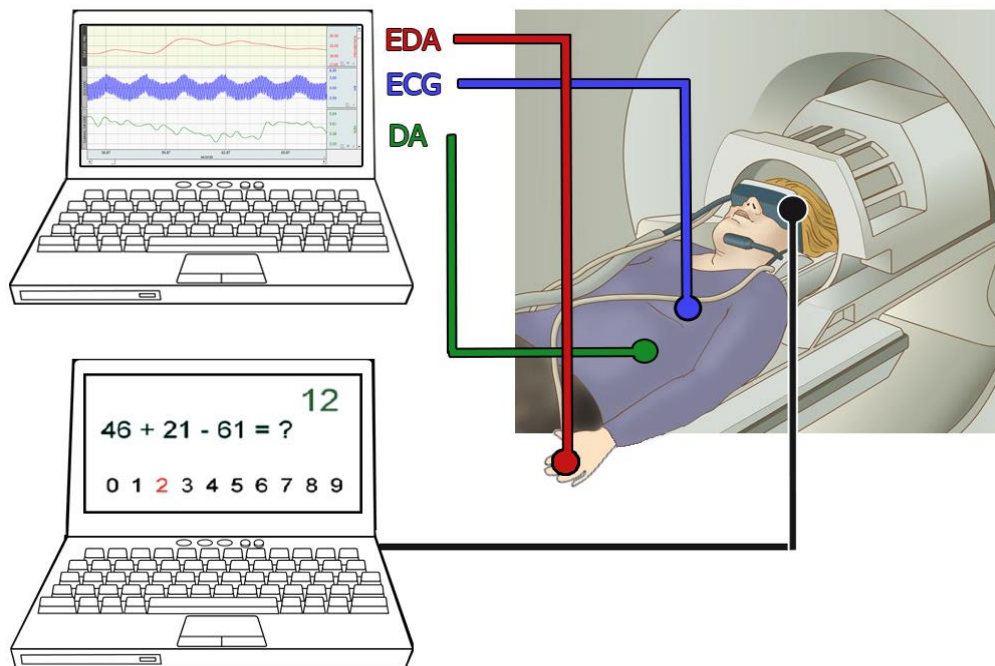


**Figura 3.1:** Paradigma que visualiza el paciente en el resonador. Se observan los bloques CONTROL, ESTRÉS y POST.

### 3.3. Adquisición simultánea de datos

En este trabajo se midieron simultáneamente las respuestas periférica y central del SNA. La primera se obtuvo mediante el registro de la conductancia de la piel (EDA), la señal cardíaca (ECG) y la señal respiratoria (DA) a través de distintos electrodos descartables; la segunda, a través de imágenes de resonancia magnética funcional (fMRI). Una vez que el sujeto se encontraba dentro del recinto, se le colocaron electrodos en los dedos de la mano izquierda (EDA), en el pecho (ECG) y en el abdomen (DA) limpiando previamente la superficie con alcohol. En caso de que el sujeto tuviese problemas de visión, se le brindaban anteojos aptos para resonador con la corrección correspondiente. Los sujetos se recostaron en una camilla boca arriba con una bobina de radiofrecuencia dispuesta en forma similar a un casco (Figura 3.2). La misma constaba de un sistema de espejos que permitía al individuo mirar hacia adelante cómodamente. Frente a ellos se colocó una pantalla, en la cual se proyectaron las imágenes del paradigma a través de un sistema proyector-pc dispuesto fuera del recinto magnético. Asimismo, se utilizaron auriculares y micrófono para poder mantener comunicación una vez comenzado el registro. También se les proveyó la botonera en la mano derecha, para responder a la tarea aritmética a realizar, la cual se conectó a una computadora que registró su actividad. Esta botonera presentaba dos botones, uno de ellos para moverse por la escala del 0 al 9 presente en el paradigma de estrés, y otro para seleccionar la respuesta.

A través de una computadora portátil, se adquirieron en tiempo real las tres señales periféricas (ver Figura 3.2), sincronizadas con el inicio del paradigma y el registro de la actividad cerebral. De esta forma, es posible posteriormente evaluar en qué momento o bloque del paradigma ocurren los eventuales cambios de las variables.



**Figura 3.2:** Esquema de la adquisición simultánea de variables periféricas (EDA, ECG y DA) y centrales (fMRI) del SNA. Las señales periféricas se adquirieron a través del software AcqKnowledge.

### 3.4. Análisis estadístico de las variables autonómicas periféricas

Las comparaciones de las distintas fases (REST<sup>2</sup>, CONTROL, ESTRÉS y POST) de los paradigmas SI y RS entre cada grupo diagnóstico, se realizaron mediante una prueba estadística univariada, usando la corrección de Bonferroni para comparaciones múltiples. Las comparaciones entre las distintas fases, para cada grupo diagnóstico, se realizaron con un ANOVA de medidas repetidas seguido por un test *post hoc* con corrección de Bonferroni.

<sup>2</sup> Llamamos REST a la condición de reposo del paradigma RS, que se detallará en la sección 4.2.2.

---

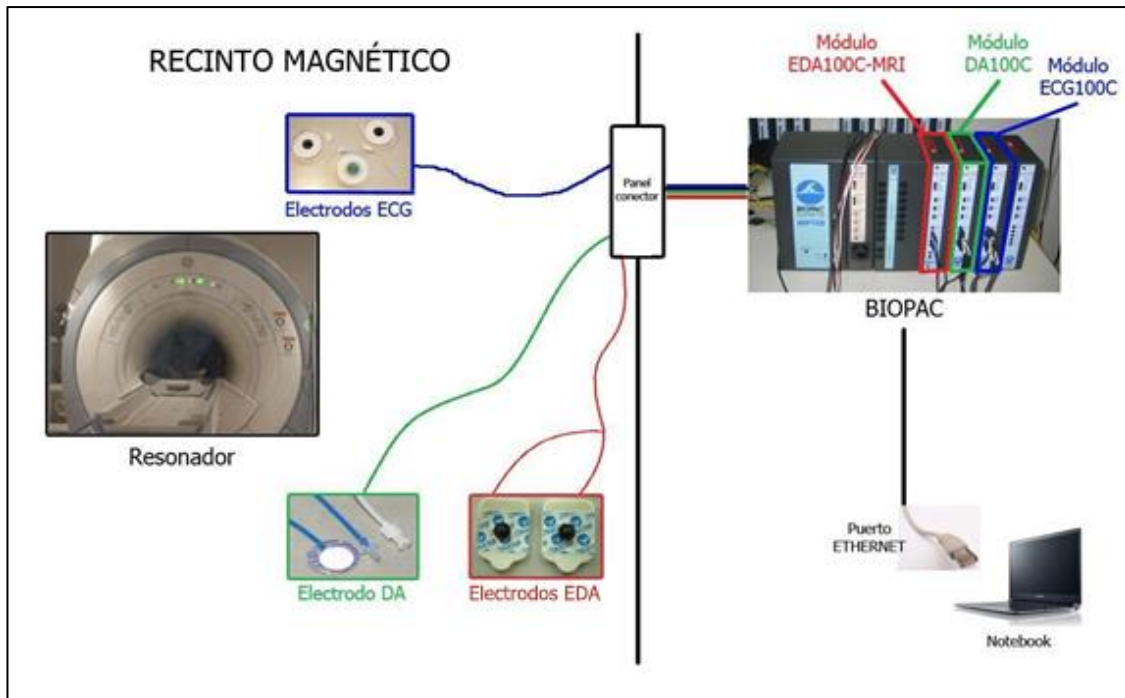
## Capítulo 4: Señales periféricas

### 4.1. Instrumental

Todas las señales periféricas se registraron a través de un dispositivo de adquisición de datos en tiempo real, marca BIOPAC MP150, durante las dos secuencias de adquisición. Los datos fueron adquiridos en un recinto magnético, dentro de un resonador magnético General Electric Signa HDxt 3T perteneciente al Servicio de Imágenes de FLENI. El mismo estaba conformado por un imán superconductor refrigerado con helio líquido y un sistema de bobinas que generan gradientes de campo magnético de 0,5 mT alrededor de 3T.

El dispositivo experimental BIOPAC utilizado consistió en una unidad principal a la cual podían adherirse diferentes módulos para la medición simultánea de distintas señales periféricas (Figura 4.1). En este caso se utilizaron tres módulos: EDA100C-MRI, ECG100C-MRI y DA100C, junto con sus respectivos electrodos adheridos al sujeto, a través de los cuales se obtuvieron las respuestas cutánea, cardíaca y respiratoria respectivamente. Dichos módulos están especialmente diseñados para la adquisición de señales en tiempo real dentro de un resonador magnético. A través de un panel comunicador se extendían cables sin mallar BIOPAC que conectaban a los electrodos con los módulos correspondientes, ubicados fuera del recinto magnético (Figura 4.1). La señal se adquirió a través de una computadora conectada al módulo principal mediante un puerto Ethernet. El software utilizado fue el Acqknowledge 4.2, el cual podía registrar los datos en tiempo real, y permitía realizar análisis matemáticos de señales ya adquiridas.





**Figura 4.1:** Esquema de la disposición del BIOPAC y los electrodos dentro del recinto magnético.

Cada uno de los módulos presentaba diferentes opciones de configuración, ganancia y filtrado desde el hardware. Se eligieron los parámetros óptimos para cada canal, a partir de trabajos anteriores de calibración (Álvarez y Pereyra, Laboratorio 6 y 7, 2014). La configuración adoptada fue aquella que minimizaba el ruido y optimizaba las señales a adquirir. Aun así, si bien los módulos estaban adaptados para adquirir señales dentro de un resonador magnético, las secuencias y gradientes de éste influían en el ruido presente en la adquisición obtenida.

#### 4.1.1. EDA100C-MRI

El EDA100C-MRI mide tanto el nivel de conductancia de la piel (SCL) como la respuesta de conductancia de la piel (SCR). Este módulo utiliza un voltaje constante  $V_{CTE} = 0,5 V$  como técnica para medir la conductividad de la piel. La medición de la conductancia de la piel se realiza en unidades de Siemens sobre Volts:  $\frac{\sigma}{V}$ , siendo  $\sigma = \frac{1}{R}$  con  $\sigma =$  Siemens ó Mhos,  $R =$  resistencia, y  $V =$ Volts.

El amplificador EDA100C-MRI funciona conectado a un par de electrodos descartables (Figura 4.2): EL509 Ag-AgCl (plata y cloruro de plata), siendo éstos transductores de actividad electrodérmica. Sobre la almohadilla presente en los electrodos se aplica un gel electrodérmico (GEL100 BIOPAC), que a su vez funciona como conductor, para favorecer la medición del registro de la señal periférica.



**Figura 4.2:** Electroodos descartables EL509 Ag-AgCl para la medición del EDA.

Debemos considerar que el gel isotónico GEL100 es una solución que tiene la misma concentración de sal que las células normales del cuerpo y la sangre. Por ende, es el único tipo de gel que puede ser utilizado con los electrodos de registro de conductancia. Este gel está especialmente formulado con un 5% de solución salina en una base neutra. El uso de gel no isotónico llevaría a la saturación de las glándulas sudoríparas ecrinas. Los electrodos EL509 tienen un área de contacto de 6mm de diámetro, y una cavidad de 1.6mm, en la cual yace la almohadilla donde se aplica el GEL100. Luego, se adhieren en los dedos índice y mayor de la mano izquierda del sujeto a medir. Se conectan los electrodos al BIOPAC con el recaudo de esperar al menos 5 minutos antes de empezar a adquirir datos, tiempo necesario para lograr una óptima absorción del gel en la piel, y así obtener un mejor contacto y, por lo tanto, una señal EDA con una línea base estable.

#### **4.1.2. ECG100C-MRI**

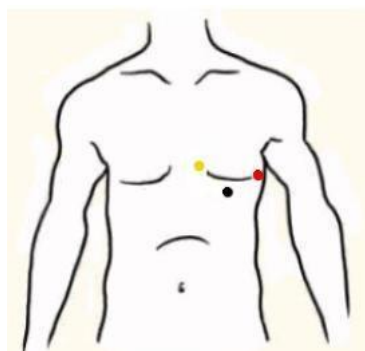
El ECG100C-MRI mide la despolarización de las células musculares del corazón (ver sección 2.1.2). Se utilizan tres electrodos descartables EL258RT (Figura 4.3) para la adquisición de la señal cardíaca.



**Figura 4.3:** Electrodo EL258RT descartable utilizado para la medición del ECG.

El módulo ECG presenta tres cables: positivo, negativo y neutro, diseñados específicamente para ser conectados a los electrodos utilizados. Éstos consisten en una pequeña pieza de metal que hará contacto indirecto con la piel del individuo a través de un disco adhesivo y flexible, de plástico. Los electrodos están pre-gelados, por lo tanto, no necesitamos de un gel externo como en el caso de la respuesta cutánea. Este gel, ubicado en el centro del disco de plástico, sobre una pequeña almohadilla, optimiza la conductividad eléctrica obteniéndose así una señal con menos ruido.

Se ubicaron los electrodos en la zona precordial del sujeto (Figura 4.4): el polo positivo específicamente en el área donde se sensa el choque de punta cardíaco (donde mejor se palpa el latido del corazón), generalmente ubicado en el quinto espacio intercostal izquierdo línea clavicular anterior; el polo negativo en el tercer espacio intercostal borde izquierdo del esternón; y el polo neutro entre medio de los otros dos, formando una curva entre los tres.



**Figura 4.4:** Ubicación de los tres electrodos ECG en la zona precordial: polo positivo (en rojo), polo negativo (en amarillo) y polo neutro (en negro).

Esta disposición surge de diferentes estudios realizados anteriormente (Deschle, Laboratorio 6 y 7, 2012-2013) en los cuales se optimizó la relación señal/ruido del ECG en función de la posición de los electrodos sobre el sujeto. Dado que el ECG mide directamente una señal eléctrica, fue la señal que más distorsión presentó al ser adquirida dentro de un resonador magnético. Los campos magnéticos y las diferentes secuencias del resonador disminuyen la relación señal/ruido del ECG en comparación con las otras dos señales periféricas, por lo que (veremos luego) necesitamos un mayor pre-procesado a la hora de filtrar la señal.

### 4.1.3. DA100C

La medición de la señal respiratoria se logró a través del módulo DA100C. Éste es un amplificador diferencial, y puede ser utilizado para diversas mediciones, desde presión sanguínea hasta desplazamientos o fuerza muscular. En este caso, lo utilizamos para la medición del ritmo respiratorio. Al ser un módulo neumático, no se vio fuertemente afectado por el campo magnético.



**Figura 4.5:** Electrodo DA RX100 utilizado para la adquisición de la señal respiratoria.

El dispositivo consta a su vez de un transductor de presión conectado a un electrodo RX100, consistente en una almohadilla de plástico (Figura 4.5) que se adhiere sobre el abdomen del individuo, teniendo cuidado de no comprimir el sensor, para evitar la saturación de la señal a medir. Luego, al igual que para las otras dos señales periféricas, se conectó al BIOPAC. A través de este electrodo medimos las variaciones de presión

causadas por el ciclo respiratorio. Estas variaciones fueron adquiridas por el transductor integrado al módulo amplificador, obteniendo así una señal en tiempo real de Volts vs. segundos.

Una vez adheridos todos los electrodos (EL508, EL258RT y RX100) al sujeto a medir y al BIOPAC, se ubica al individuo dentro del resonador con las protecciones correspondientes. Se tuvo el cuidado de mantener los cables de los electrodos paralelos al eje del resonador para evitar la concatenación de flujo magnético. De lo contrario, se provocarían corrientes inducidas en los cables. Las tres señales periféricas (EDA, ECG y DA) se obtuvieron simultáneamente, en tiempo real, a través del software AcqKnowledge, utilizando una frecuencia de muestreo de 1000 muestras/segundo, mientras los sujetos se encontraban dentro del resonador, tanto para el paradigma de estado de reposo como para el de estrés, como se explicó anteriormente en la sección 3.3. Una vez adquiridas, las señales debieron ser filtradas para su posterior análisis, proceso que se detalla a continuación.

## **4.2. Filtros y procesamiento**

### **4.2.1. Filtros**

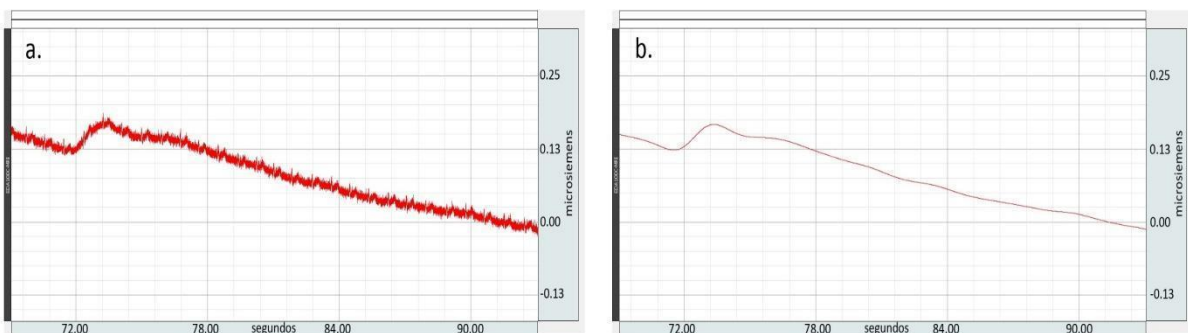
El equipo BIOPAC MP150 presenta distintas opciones de filtrado desde el hardware. Se utilizó un filtro pasabajos (LP) 10Hz para la señal DA, según las indicaciones del fabricante (<http://www.biopac.com/wp-content/uploads/acqknowledge-4-software-guide.pdf>). Se eligió el mismo filtro para las señales EDA y ECG para obtener el mismo retraso al 50% en las tres señales, así se obtuvieron las mismas condiciones de adquisición para todos los módulos. En lo que respecta a las opciones de ganancia, se determinó que la ganancia de  $10\mu\text{V/V}$  es la más adecuada para la señal EDA. De esta manera, se obtiene una buena definición de los picos SCR. En el caso de la señal ECG, en particular, se requirió encontrar una ganancia que tuviera en consideración dos aspectos importantes: por un lado, amplificar la señal para su mejor visualización, dado que es aquella que más se ve afectada por los campos magnéticos circundantes; por otro lado, no

seguir disminuyendo la relación señal/ruido. Es por ello que se utilizó una ganancia de 2000, la cual mantenía un compromiso entre ambos aspectos. Finalmente, dado que se requiere de la mayor amplitud de señal posible para el análisis posterior, se determinó que la ganancia de 5000 era la más adecuada para obtener una señal óptima de DA (Álvarez y Pereyra, Laboratorio 6 y 7, 2014).

Por otra parte, en relación a los filtros del software, se aplicó a las tres señales medidas un filtro de 50Hz a fin de eliminar las interferencias causadas por la frecuencia de línea y sus ruidos espurios. Luego, cada señal debe ser filtrada y pre-procesada por separado, dado que son necesarios distintos tipos de filtrado para cada una de ellas.

### EDA

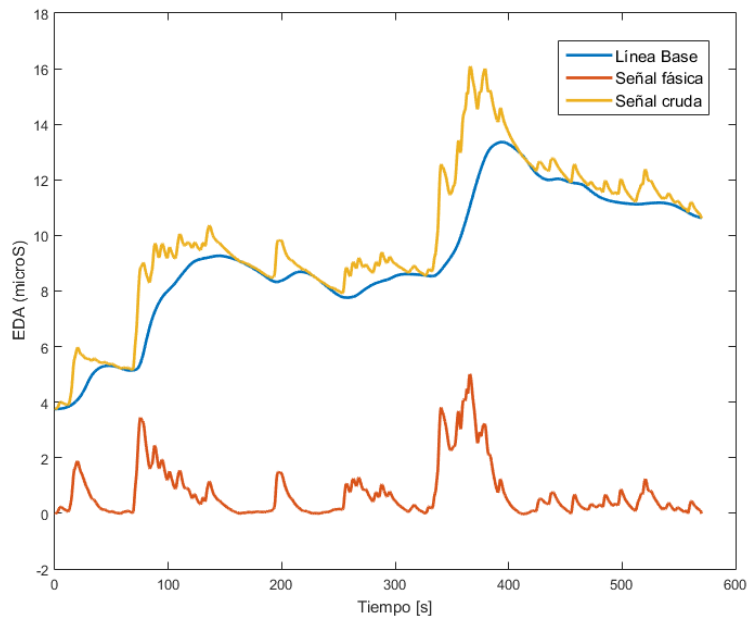
En el caso de la señal EDA, se aplicó un filtro LP de 0.5Hz del software: este filtro pasa bajos se utilizó para eliminar interferencias externas, causadas por los cambios de gradiente dentro del resonador, o por el mismo movimiento del electrodo sobre el sujeto. La señal se pudo recuperar aplicando el filtro propio del software mencionado anteriormente (Figura 4.6).



**Figura 4.6:** a. Señal cutánea cruda. b. Señal cutánea con filtro LP 0.5Hz.

Las señales EDA, a diferencia de las otras variables periféricas, requieren de un pre-procesado adicional, posterior al filtrado de la misma. Estas señales presentan una deriva a lo largo del tiempo, llamada línea base, como se detalla en la sección 2.1.1. La señal fásica (obtenida luego de eliminar esta deriva) está íntimamente relacionada al estímulo, mientras que la tónica no tiene una relación directa (Álvarez y Pereyra, Laboratorio 6 y 7, 2014). Es por ello que debemos necesariamente eliminar la línea base

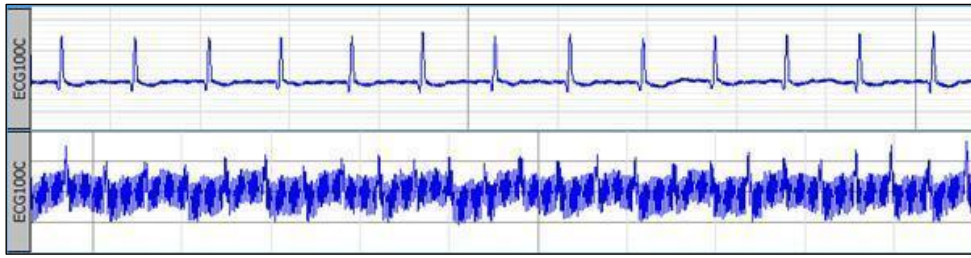
para el posterior análisis de los SCR. Para este proceso, utilizamos el programa Ledalab, implementado en Matlab. Mediante este programa se calculó la línea base para cada señal EDA a través del método de deconvolución no-negativa, el cual permite restaurar las componentes fásica y tónica del EDA. Una vez obtenida esta línea base, se la sustrajo de la señal cruda para así obtener la señal sin deriva, como se muestra en la figura 4.7 a continuación.



**Figura 4.7:** Proceso de deconvolución de la señal EDA. Puede verse la señal cruda adquirida (amarillo), la línea base correspondiente (azul), y la señal fásica (roja) obtenida.

## ECG

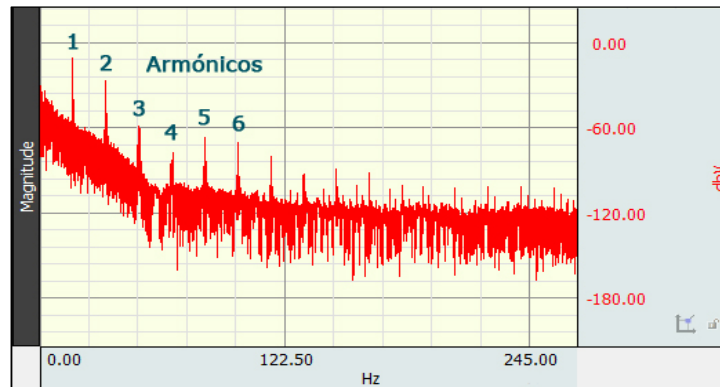
La señal cardíaca es aquella que más se ve distorsionada por el resonador (Figura 4.8) y no puede ser recuperada sólo por filtros LP, dado que su adquisición se basa en la despolarización cardíaca, la cual es directamente una medición eléctrica. A raíz de esto, debe realizarse un procedimiento más exhaustivo para poder eliminar el ruido inducido por las secuencias del resonador.



**Figura 4.8:** Señales ECG adquiridas con las secuencias de resonancia apagadas (arriba) y en funcionamiento (abajo).

De esta manera, es necesario seguir un procedimiento que involucre un filtrado de frecuencias indeseadas, a través del programa AcqKnowledge, en el cual se usarán filtros comb (Comb Band Stop Filter, CBSF) y filtros pasabajos (LP).

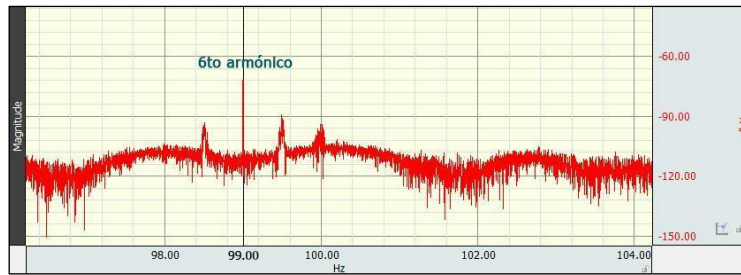
En primer lugar, se realizó una transformada de Fourier (FFT) de la señal ECG a limpiar (Figura 4.9). Puede verse que aparecen distintos armónicos, a través de los cuales podremos encontrar la frecuencia fundamental que debemos filtrar, que corresponde a aquella intrínseca a la secuencia utilizada por el resonador al momento de la medición.



**Figura 4.9:** FFT de la señal ECG. Pueden verse los armónicos de la frecuencia principal a filtrar.

Se eligió uno de los armónicos; por ejemplo, el sexto, y se observó la frecuencia correspondiente al pico principal de éste, como puede verse a continuación. En nuestro caso, la frecuencia será de 99Hz.





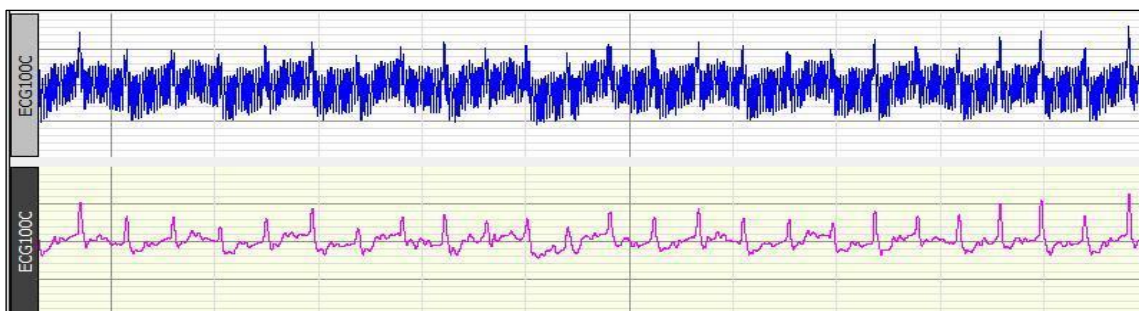
**Figura 4.10:** Zoom de la FFT en el sexto armónico. Puede verse que la frecuencia principal es de 99Hz.

Luego, se dividió la frecuencia encontrada por el número del armónico correspondiente, obteniendo así la frecuencia principal a filtrar por el CBSF, como se muestra en el próximo paso.

$$frec_{CBSF} = F = \frac{frec\ del\ n-ésimo\ armónico}{n} = \frac{99}{6} Hz = 16,5 Hz \quad [4.1]$$

Esta frecuencia está ligada a los parámetros utilizados en el resonador para tomar las imágenes centrales, por lo que será la misma para todos los sujetos, siempre y cuando estemos utilizando la misma secuencia y configuración en el resonador.

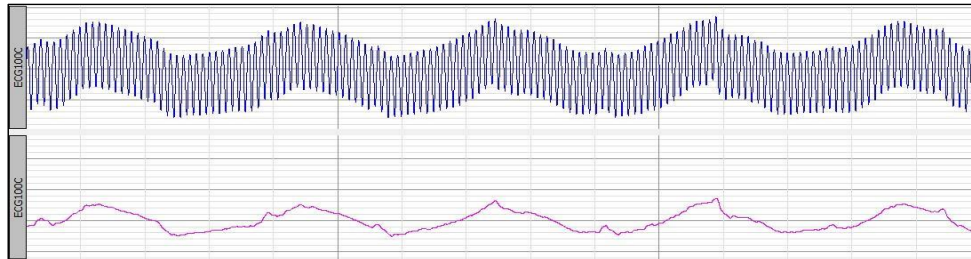
Utilizando la frecuencia obtenida anteriormente, se aplicó el CBSF a la señal, obteniendo así un ECG menos distorsionado (Figura 4.11).



**Figura 4.11:** Señales ECG cruda (arriba) y filtrada (abajo) luego del CBSF.

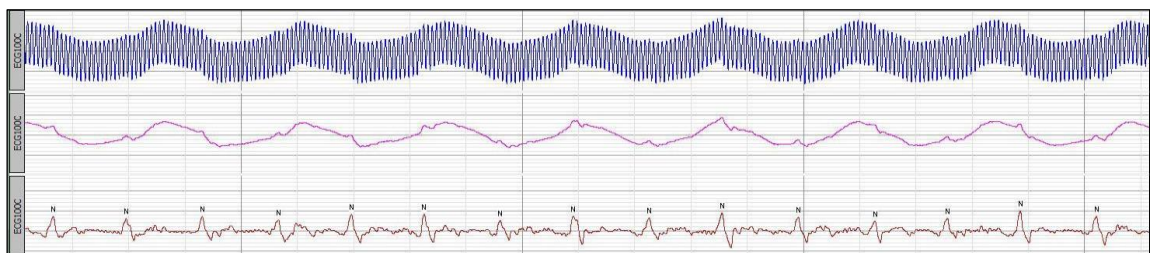
En la figura anterior, se observa que los picos QRS han sido recuperados de manera suficiente para realizar análisis posteriores a la señal. En ciertos casos particulares, se ha encontrado que aún luego de realizado el CBSF no se recuperan los

complejos QRS bien definidos (Figura 4.12), debido a diferentes causas: una mala adhesión de los electrodos, movimiento del paciente y/o de los cables dentro del resonador, o simplemente por cuestiones anatómicas.



**Figura 4.12:** Señal ECG cruda (arriba) y luego del CBSF (abajo). Aún no se observan picos QRS bien definidos luego del filtrado.

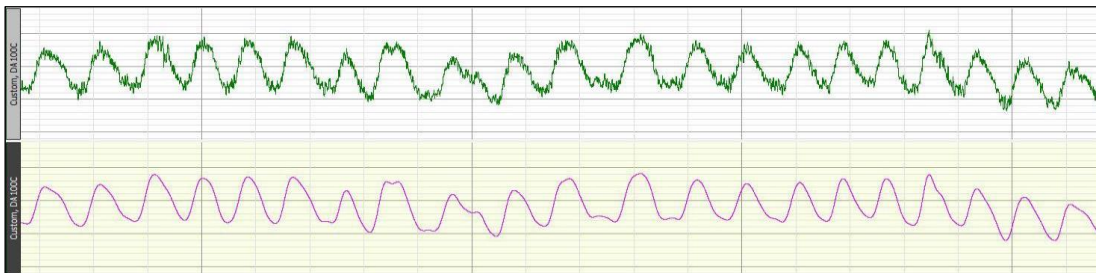
Podemos observar, en la Figura 4.12, que la señal filtrada con el CBSF presenta una modulación espuria de baja frecuencia. Para eliminarla y recuperar la señal ECG se utilizó un filtro pasa altos (HP). Previamente, se realizó una FFT para encontrar la frecuencia de corte indicada. Generalmente ésta se encuentra en el rango de los 0.8Hz a 3Hz, pero puede variar dependiendo el sujeto y la calidad de la señal a filtrar. Podemos ver en la Figura 4.13 cómo se recupera la señal luego de este filtrado.



**Figura 4.13:** Señal ECG cruda (arriba), luego del CBSF (centro), y post CBSF y filtro HP (abajo). Las N indican la ubicación de los complejos QRS.

## DA

Si bien la señal respiratoria es aquella que menos distorsión presenta, dado que se basa en un mecanismo neumático casi en su totalidad, puede mejorarse a través de un breve filtrado. Para eliminar el ruido, se le aplicó un filtro LP con frecuencia de corte variable entre 0.8 y 2Hz, dependiendo la relación señal/ruido de cada adquisición.

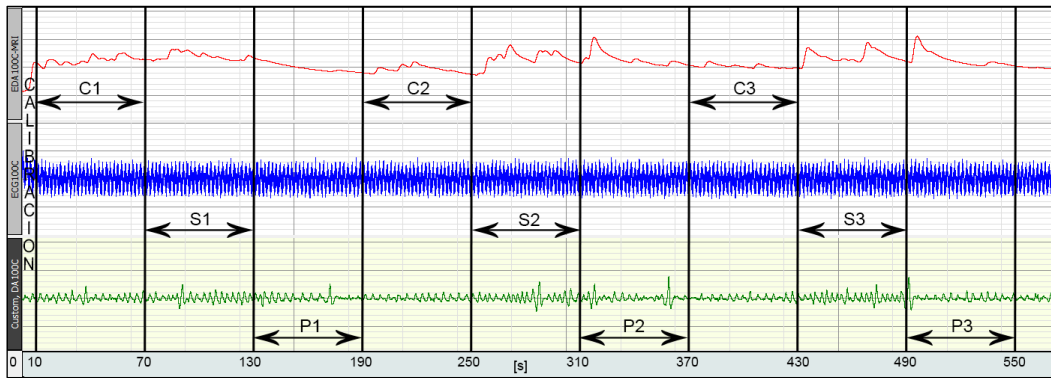


**Figura 4.14:** Señal DA cruda (arriba) y luego del LP (abajo).

De esta manera eliminamos la distorsión causada por los campos presentes en el recinto magnético, que impactan en el transductor y obtenemos una señal respiratoria bien definida.

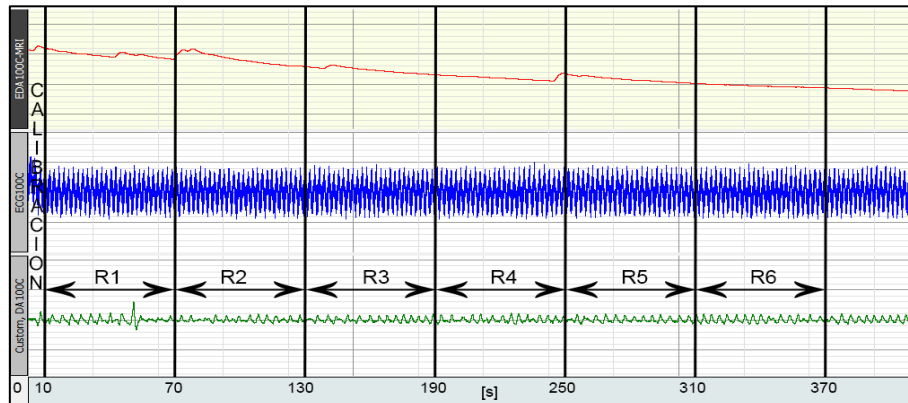
### 4.2.2. Cortes

Una vez terminado el filtrado y pre-procesado de las tres señales periféricas, para cada paradigma y para cada paciente, se cortaron todas las señales obtenidas en nueve bloques diferentes (C1, S1, P1, C2, S2, P2, C3, S3, P3), que corresponden a las tres condiciones (CONTROL  $C_i$ , ESTRÉS  $S_i$ , POST  $P_i$ ) en cada una de sus tres repeticiones. Estos bloques tienen una duración de un minuto cada uno. Podemos ver un esquema de los cortes realizados en la Figura 4.15.



**Figura 4.15:** Cortes realizados posteriormente a la adquisición de las señales periféricas durante el paradigma SI. Los primeros 10 segundos corresponden a la calibración del resonador, por lo que deben eliminarse. Los tramos siguientes, correspondientes a los bloques que forman parte del paradigma, enumerados (C1 a P3), con una duración de 1 minuto.

Para la señal de RS se realizó el mismo proceso de corte (Figura 4.16), obteniendo así 6 bloques de un minuto de duración cada uno (R1, R2, R3, R4, R5, R6), que corresponden a la condición REST. Si bien este registro no presenta originalmente diferentes bloques de actividad, se realizó el mismo proceso para un posterior análisis comparable entre ambas adquisiciones.



**Figura 4.16:** Cortes realizados posteriormente a la adquisición de las señales periféricas durante el paradigma RS. Los primeros 10 segundos corresponden a la calibración del resonador, por lo que deben eliminarse. Los tramos siguientes, enumerados (R1 a R6), tienen una duración de 1 minuto.

Cabe destacar que, a la hora de cortar el EDA de las señales correspondientes al paradigma RS, debió tomarse el recaudo de cortar la señal (ya una vez sustraída la línea base), eliminando los 50 primeros segundos, obteniendo de este modo sólo 5 bloques de un minuto para la señal cutánea. Cuando se realiza la deconvolución de la señal de estado de reposo, al tener ésta una deriva casi constante (por la ausencia de estímulos externos), los primeros segundos deben descartarse porque son utilizados como referencia por el Ledalab para el cálculo de línea base de los segundos posteriores.

Una vez filtradas y cortadas, se procedió al procesamiento de las señales. En esta etapa se obtuvieron diferentes parámetros de las variables periféricas que podrían cumplir la función de biomarcadores o indicadores de estrés. Este análisis se realizó para cada uno de los bloques de cada señal, para ambas adquisiciones. Cuando los registros periféricos son adquiridos durante el reposo (RS), se obtendrán valores autonómicos basales. Asimismo, al realizar la medición mientras el sujeto realiza una tarea determinada (SI), podrá evaluarse la respuesta autonómica periférica frente a dicho estímulo. De esta manera, al comparar ambas señales, durante la tarea y el reposo, podemos inferir el papel del SNA vinculado a la misma.

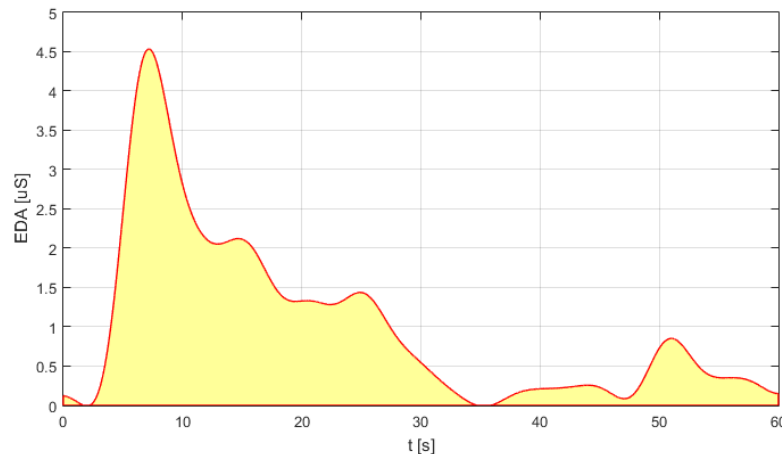
En las secciones siguientes se presentarán los parámetros obtenidos.

### **4.2.3. Procesamiento de datos**

#### EDA: Área bajo la curva

A lo largo de diversas investigaciones se han utilizado parámetros clásicos de los SCR, como puede ser la latencia o amplitud de los mismos, como biomarcadores específicos frente a un paradigma discreto de inducción emocional o de estrés. En estos casos, los paradigmas consisten en eventos discretos de corta duración, aislados en el tiempo, que permiten un análisis más detallado de los SCR particulares relacionados a dichos eventos. En este trabajo, el paradigma SI utilizado presenta tareas de estrés aritmético de un minuto de duración. Por lo tanto, se estudió la posibilidad de un nuevo parámetro que pudiera a su vez cuantificar la señal EDA para eventos largos: el área bajo la curva (aEDA).

Luego de obtener la línea base a través del método de deconvolución no negativa, se calculó el área bajo la curva de la señal física (Figura 4.17) para todos los bloques de ambos paradigmas.



**Figura 4.17:** Señal EDA para un bloque, en función del tiempo (en rojo). Se muestra el área bajo la curva calculada (en amarillo). Este proceso se realizó para todos los bloques, para ambos paradigmas.

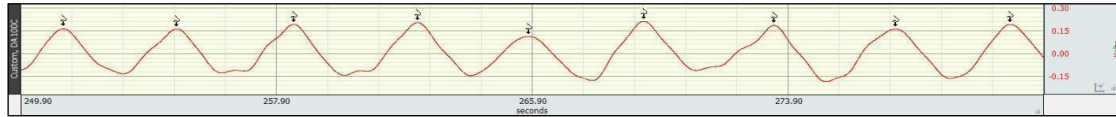
Este parámetro varía sujeto a sujeto, teniendo en cuenta las fluctuaciones de la línea base, el SCL, el número y la amplitud de los SCR presentes. Todas estas variables están directamente relacionadas con el impacto emocional ocasionado por el estímulo externo. Al calcular el área bajo la curva de la señal EDA, se obtiene un parámetro característico que las representa en conjunto, para una señal relacionada a eventos largos.

#### DA: Frecuencia media y área de FFT

En lo que respecta a la señal respiratoria, los parámetros analizados fueron la frecuencia respiratoria media y el área bajo la curva de la transformada de Fourier normalizada para cada bloque de las señales obtenidas.

La frecuencia respiratoria media se obtuvo a través del programa AcqKnowledge. Mediante éste, pueden etiquetarse los diferentes ciclos respiratorios presentes en la señal (Figura 4.18), y luego obtener sus períodos correspondientes. Una vez obtenidos estos datos, puede calcularse la frecuencia respiratoria media para cada bloque. La frecuencia

respiratoria está ligada tanto al sistema simpático como al parasimpático, por lo que sería un buen biomarcador del estrés.



**Figura 4.18:** Señal respiratoria (DA). El etiquetado indica el momento de la espiración en cada ciclo.

Por otro lado, para cada bloque, se obtuvo la transformada de Fourier correspondiente a la señal respiratoria, como puede verse en la figura 4.19.



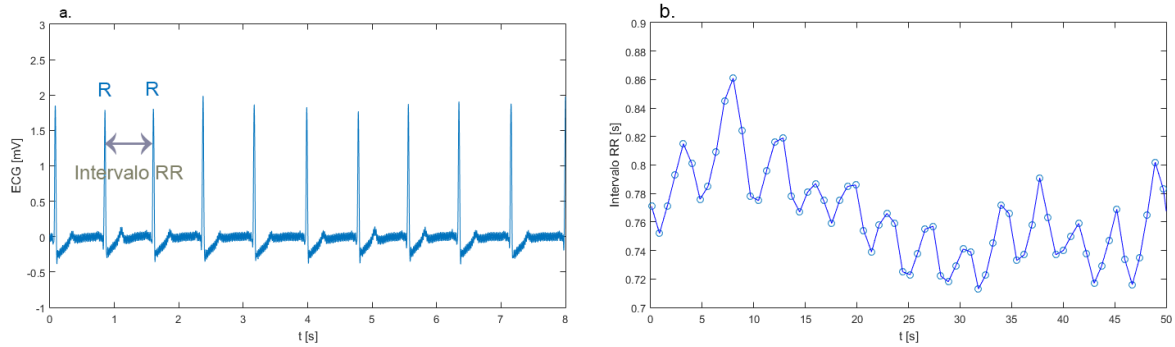
**Figura 4.19:** FFT de la señal DA, para un bloque del paradigma RS.

El interés de estudiar el área bajo la curva de la FFT de la señal DA surge de poder así cuantificar de alguna manera la cantidad de componentes de frecuencia para cada bloque. Es por esto que la amplitud no es de interés, dado que está relacionada simplemente con la amplitud de la señal cruda obtenida, la cual está vinculada a la forma de respirar del sujeto medido y a su anatomía, y no a los estímulos presentados. Por lo tanto, una vez obtenidas las FFT de cada bloque DA, se procedió a normalizarlas para finalmente calcular el área bajo la curva de cada FFT (DA-aFFT).

#### ECG: intervalo RR y variabilidad cardíaca

La frecuencia cardíaca, al igual que la respiratoria, está relacionada directamente con ambas ramas del SNA, por lo que su variación influye directamente en la respuesta frente al estrés. Se puede obtener información acerca de la influencia autonómica a través

del análisis de la variabilidad de la frecuencia cardíaca (VFC). Para ello, en primer lugar, nos interesará el intervalo entre cada uno de los impulsos eléctricos cardíacos, es decir, entre ondas R. De ese modo, se obtienen múltiples intervalos R-R consecutivos para cada bloque (Figura 4.20).

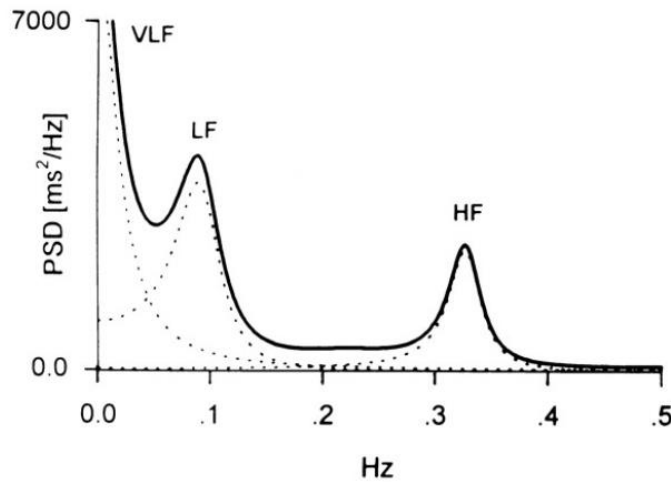


**Figura 4.20:** a. ECG y b. Intervalo RR derivado. Cada punto representa un intervalo RR obtenido a partir de la señal ECG. El eje temporal del gráfico (b) corresponde a los instantes del segundo pico R en cada intervalo.

A partir de estos intervalos RR, se calcularon los RR medios para cada bloque de cada señal, para ambos paradigmas.

En segundo lugar, el espectro en frecuencias de la señal del intervalo RR en función del tiempo (Figura 4.20.b) puede brindar información de utilidad del trasfondo fisiológico presente (A. Malliani, 1999). Al realizar un análisis espectral, para mediciones de 2 a 5 minutos, se diferencian tres componentes principales, identificadas por convención en los siguientes rangos: componentes de muy baja frecuencia (VLF:  $f = [0 - 0.04]Hz$ ), de baja frecuencia (LF:  $f = [0.04 - 0.15]Hz$ ) y de alta frecuencia (HF:  $f = [0.15 - 0.4]Hz$ ). Numerosos factores, tanto en salud como en enfermedad, influyen tanto en la forma del espectro obtenido, como en la aparición de picos definidos en cada uno de los rangos mencionados anteriormente. La distribución de la potencia y la frecuencia central de LF y HF varían en relación a los cambios en las modulaciones autonómicas del ritmo cardíaco. Particularmente, investigaciones recientes han documentado que las componentes LF responden predominantemente a la actividad de la rama simpática del SNA, mientras que las HF se asocian mayormente a la rama parasimpática. En la figura 4.21 se muestra un espectro característico.





**Figura 4.21:** Espectro en frecuencias (PSD) de una serie de intervalos RR. Se muestra el espectro completo en línea llena, y las contribuciones VLF, LF y HF en línea punteada. Fuente: A. Malliani; The Pattern of Sympathovagal Balance Explored in the Frequency Domain. Physiology Published 1999, vol 14 no. 3, 111-117.

Resulta entonces interesante, dada su directa relación con el SNA, analizar las diferentes componentes espectrales de la VFC tanto para el paradigma RS como para el SI, para los tres grupos de sujetos.

Para analizar dichas componentes, se calculó el área bajo la curva del espectro en frecuencias (ver Figura 4.21) para las componentes LF y HF, a partir de los intervalos RR obtenidos. Este proceso se realizó para cada condición (REST, CONTROL, ESTRÉS y POST) y para cada sujeto mediante el programa Kubios, implementado en Matlab. Para simplificar la notación, llamaremos LF al área bajo la curva de las componentes de baja frecuencia, y HF al área bajo la curva de las componentes de alta frecuencia. Tanto la LF como la HF miden la potencia en el rango anteriormente mencionado, y fueron calculadas en unidades normalizadas (u.n.), a través de las ecuaciones:

$$LF(u.n.) = [LF(ms2)/(Potencia\ total(ms2) - VLF(ms2))] * 100 \quad [4.1]$$

$$HF(u.n.) = [HF(ms2)/(Potencia\ total(ms2) - VLF(ms2))] * 100 \quad [4.2]$$

En resumen, luego del filtrado, pre-procesado y análisis de las señales autonómicas periféricas obtenidas, se encontraron distintos parámetros para cada una de ellas, los cuales podrían cumplir la función de biomarcadores del estrés del SNA periférico. En la Tabla 4.1 se presenta cada uno de estos parámetros.

Señal	Parámetro
EDA	Área bajo la curva EDA (aEDA)
DA	Frecuencia respiratoria promedio (DA-mF) Área bajo la curva FFT de la señal respiratoria (DA-aFFT)
ECG	Intervalo RR promedio (RR) Potencia de baja frecuencia (LF) Potencia de alta frecuencia (HF)

**Tabla 4.1:** Parámetros encontrados para cada una de las señales periféricas adquiridas.

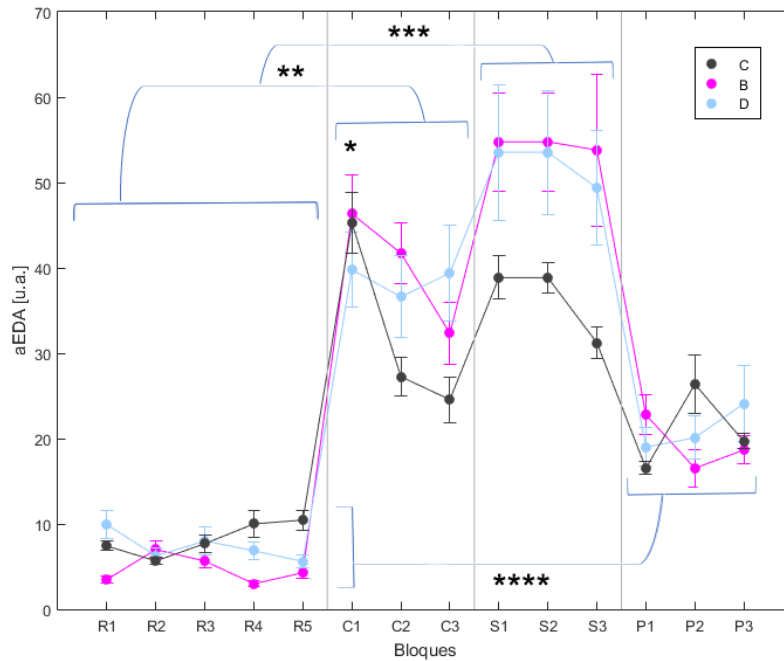
## 4.3. Resultados

### 4.3.1. Señales Periféricas vs. bloques

En primer lugar, se analizaron los parámetros principales de cada señal periférica, en función de los diferentes bloques obtenidos para los paradigmas RS y SI. Este análisis se realizó para la muestra entera de pacientes e individuos sanos.

#### EDA: Área bajo la curva (aEDA)

Se calculó el área bajo la curva de la señal EDA en función de los diferentes bloques para los 3 grupos de sujetos (Figura 4.22).



**Figura 4.22:** aEDA en función de los diferentes bloques de los paradigmas, para los tres grupos de sujetos (B, D y C).  $*p=0.023$  para el bloque C1 vs. C2 para el grupo C.  $**p=0.042$  y  $p=0.021$  para los bloques  $C_i$  vs.  $R_i$ , para los grupos C y B respectivamente.  $***p<0.001$  para los bloques  $S_i$  vs.  $R_i$  para el grupo C.  $****p=0.035$  para los bloques  $R_i$  vs.  $P_i$  para el grupo B. Las barras de error corresponden al error estándar.

Durante los bloques  $R_i$  obtenemos un aEDA promedio significativamente menor en comparación con los bloques  $C_i$  (Rest vs. Control): grupo C) ( $8.3 \pm 2.4$  vs.  $32.4 \pm 8.5$ )u. a., ( $p=0.042$ ); grupo B) ( $4.7 \pm 1.6$  vs.  $40.1 \pm 9.1$ )u. a., ( $p=0.021$ ); grupo D) ( $7.3 \pm 2.7$  vs.  $53.4 \pm 19.5$ )u. a., ( $p=ns$ ). Es decir, a comparación de los  $R_i$ , se obtiene un mayor número y amplitud de SCRs en los bloques  $C_i$ . Este fenómeno se observa también para el caso de los bloques  $R_i$  vs.  $S_i$ : grupo C) ( $8.3 \pm 2.4$  vs.  $40.3 \pm 5.6$ )u. a. ( $p<0.001$ ); grupo B) ( $4.7 \pm 1.6$  vs.  $56.7 \pm 18.5$ )u. a. ( $p=ns$ ); grupo D) ( $7.3 \pm 2.7$  vs.  $53.4 \pm 19$ )u. a., ( $p=ns$ ).

También notamos una menor variabilidad del aEDA a lo largo del RS que en el transcurso del SI. Este fenómeno se debe a la poca o nula presencia de señal fásica en el registro cutáneo durante situaciones de reposo. Para los bloques  $P_i$ , el aEDA disminuye en casi todos los casos, volviendo parcialmente a su estado basal de reposo (Rest vs Post):

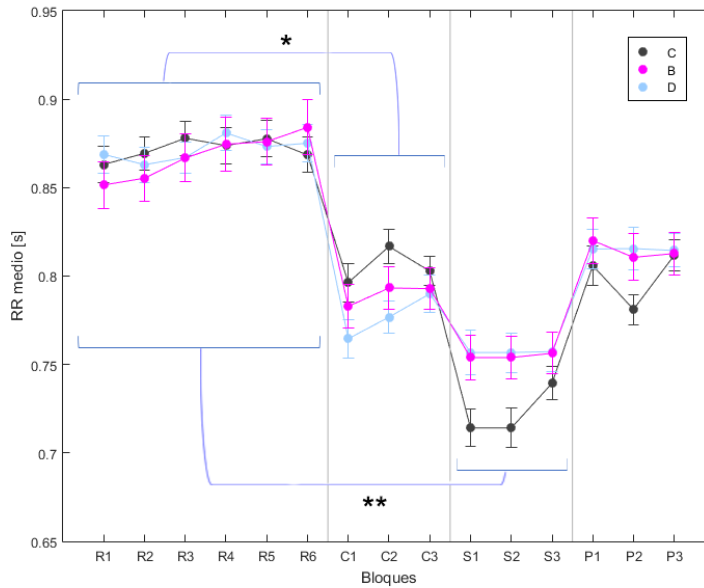
grupo C) ( $8.3 \pm 2.4$  vs.  $20.8 \pm 4.2$ )u. a., ( $p=ns$ ); grupo B) ( $4.7 \pm 1.6$  vs.  $19.3 \pm 4.$ )u. a., ( $p=0.035$ ); grupo D) ( $7.3 \pm 2.7$  vs.  $21 \pm 7.8$ )u. a., ( $p=ns$ ).

En lo que respecta al bloque control, observamos tanto para los sujetos C como para los B, un aumento de la respuesta cutánea en exceso durante el primer bloque del paradigma (bloque C1) respecto al resto de los otros bloques control ( $p=0.023$  para los bloques C1 vs C2 para el grupo C;  $p=ns$  para los grupos B y D). Este efecto probablemente se deba al impacto que produce el inicio del paradigma en el sujeto, en el que no sólo comienza la tarea a realizar, sino también los ruidos característicos de la adquisición de fMRI.

Finalmente, no se encuentran diferencias significativas entre grupos para las diferentes fases del paradigma.

#### ECG: RR medio

En lo que respecta a la señal cardíaca, se estudió la VFC: en particular, los valores medios de RR por bloque. En la Figura 4.23, se muestra el RR medio por bloque, para los tres grupos. A la hora de analizar este parámetro, es válido aclarar que una disminución del RR medio indica un aumento de la frecuencia cardíaca y viceversa, dado que son inversamente proporcionales. A una mayor frecuencia cardíaca, tendremos complejos QRS menos espaciados temporalmente, lo que se traduce en un RR menor.



**Figura 4.23:** RR medio en función de los diferentes bloques de los paradigmas, para los tres grupos de sujetos (B, D y C). \* $p=0.003$ ,  $p=0.021$  para los bloques  $C_i$  vs.  $R_i$  para los grupos C y B respectivamente. \*\* $p<0.001$ ,  $p=0.002$  para los bloques  $S_i$  vs.  $R_i$  para los mismos grupos. Las barras de error corresponden al error estándar.

A lo largo de los diferentes bloques se observa un comportamiento concordante con el de la variable cutánea para todos los grupos. Se obtiene un mayor RR medio para el estado de reposo, el cual disminuye para los bloques  $C_i$ ; durante los bloques de estrés, el RR llega a sus valores mínimos, y finalmente vuelve a aumentar en los bloques  $P_i$ .

Para el grupo C se tienen los siguientes valores de RR promedio por condición:  $R = (0.872 \pm 0.032)s$ ,  $C = (0.805 \pm 0.031)s$ ,  $S = (0.728 \pm 0.034)s$ ,  $P = (0.800 \pm 0.031)s$ , dando diferencias significativas  $R_i$  vs.  $C_i$  ( $p = 0.003$ ),  $S_i$  vs.  $C_i$  ( $p=0.002$ ) y  $S_i$  vs.  $R_i$  ( $p<0.001$ ). Para el grupo B, obtenemos:  $R = (0.868 \pm 0.044)s$ ,  $C = (0.790 \pm 0.044)s$ ,  $S = (0.757 \pm 0.038)s$ ,  $P = (0.815 \pm 0.040)s$ . En este caso, también se observan diferencias significativas para  $R_i$  vs.  $C_i$  ( $p = 0.021$ ),  $S_i$  vs.  $C_i$  ( $p=0.002$ ) y  $S_i$  vs.  $R_i$  ( $p=0.01$ ). Por último, el grupo D presenta los valores de RR medio:  $R = (0.856 \pm 0.027)s$ ,  $C = (0.792 \pm 0.035)s$ ,  $S = (0.780 \pm 0.043)s$ ,  $P = (0.805 \pm 0.032)s$ . A diferencia de los otros dos grupos, éste no presenta diferencias significativas para ninguno de los casos anteriormente mencionados.

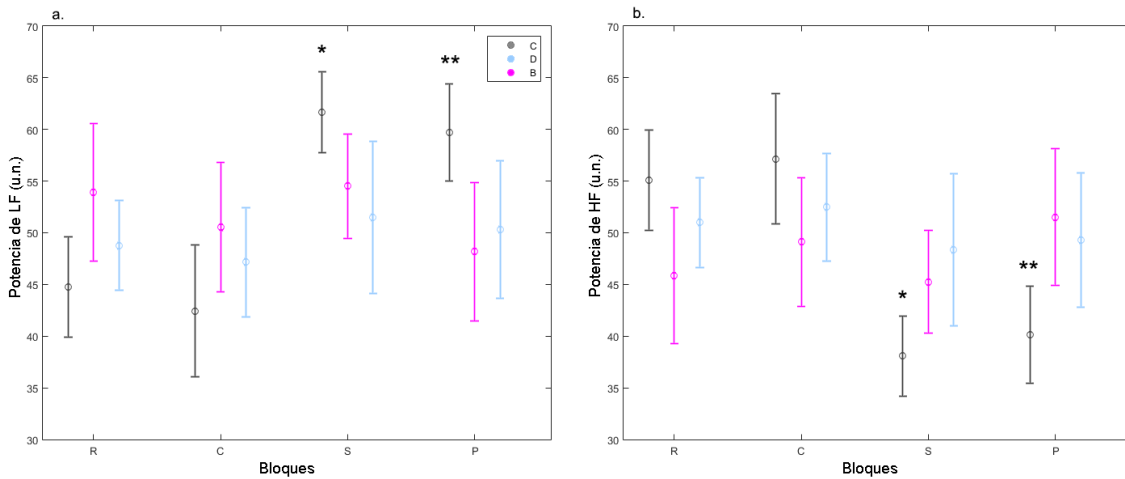
Al igual que en el caso del aEDA, la comparación  $R_i$  vs.  $P_i$  no presenta diferencias significativas para ninguno de los tres grupos ( $p=ns$ ).

El grupo que alcanzó la mayor frecuencia cardíaca en los bloques  $S_i$  es el grupo control, a diferencia del área bajo la curva del EDA, donde era el grupo B el que presentaba los mayores valores paramétricos durante los bloques estrés. Nuevamente observamos el efecto de inicio de paradigma en el bloque control, para todos los grupos de sujetos, y no volvemos a encontrar diferencias significativas entre grupos para ningún bloque.

#### Variabilidad de la frecuencia cardíaca

Observamos en la Figura 4.24, las potencias LF y HF de la VFC para los distintos grupos. El grupo control muestra una respuesta normal al estrés mental: es decir, observamos un incremento de la contribución relativa de LF en el bloque S vs. el bloque R ( $61.7 \pm 3.9$  vs.  $44.7 \pm 4.8$ )*u. n.*, ( $p = 0.015$ ), Figura 4.24.a; y una disminución de la HF ( $38.1 \pm 3.9$  vs.  $55.1 \pm 4.8$ )*u. n.*, ( $p=0.014$ ), Figura 4.24.b). Sin embargo, luego de cesado el estímulo estresante, para el bloque P comparando con el bloque R, no se obtienen valores similares  $LF = (59.7 \pm 4.7$  vs.  $44.7 \pm 4.8)$ *u. n.*,  $HF = (40.3 \pm 4.7$  vs.  $55.1 \pm 4.8)$ *u. n.*, ( $p = 0.005$  para ambos casos).

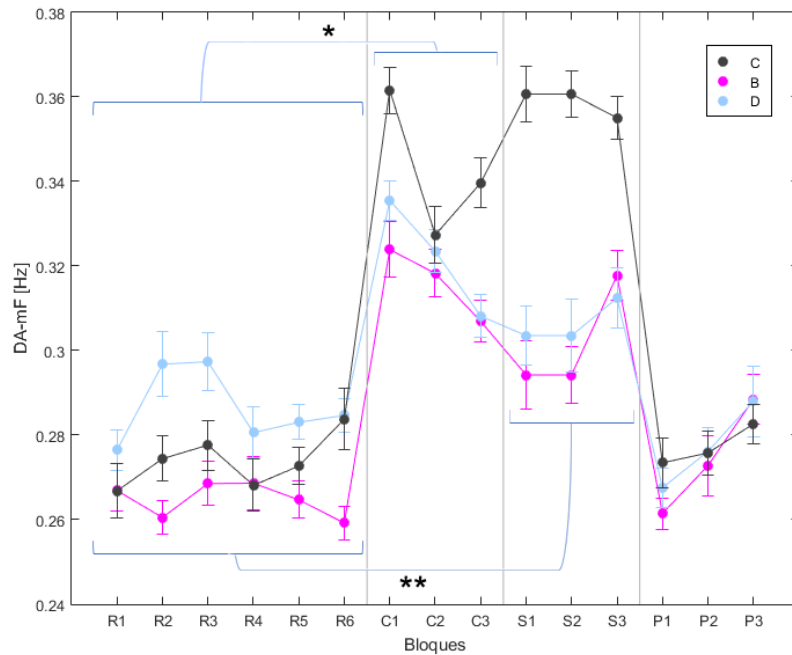
Por otro lado, para ambos grupos de pacientes (B y D), obtenemos respuestas similares a lo largo del paradigma. Tanto para bajas (LF) como para altas (HF) frecuencias, el valor de ambas respuestas autonómicas se mantiene constante, y no alcanzó significancia estadística entre los pacientes del grupo B y aquéllos del grupo D.



**Figura 4.24:** Cambios en las componentes de la VFC a lo largo de las condiciones presentes en los paradigmas, para los tres grupos de sujetos para **a.** LF y **b.** HF. El grupo control presenta una variabilidad típica en situaciones de estrés, mientras que los grupos de pacientes presentan valores constantes a lo largo de los paradigmas. \* $p=0.015$  LF en S vs. LF en R,  $p=0.014$  HF en S vs. HF en R para el grupo C. \*\* $p=0.005$  tanto para LF como para HF en P vs. R, para el mismo grupo.

DA: Frecuencia media (DA-mF) y área bajo la curva de la FFT (DA-aFFT)

Para la señal DA se graficó, en primer lugar, la frecuencia respiratoria media por bloque y por grupo (Figura 4.25). Como se puede ver en la figura correspondiente, obtenemos un comportamiento similar al del aEDA.



**Figura 4.25:** Frecuencia media respiratoria en función de los diferentes bloques de los paradigmas, para los tres grupos de sujetos (B, D y C). \* $p=0.014$  y  $p<0.001$  para los bloques  $C_i$  vs.  $R_i$  para los grupos C y B respectivamente. \*\* $p=0.002$  y  $p=0.043$  para los bloques  $S_i$  vs.  $R_i$  para los mismos grupos. Las barras de error corresponden al error estándar.

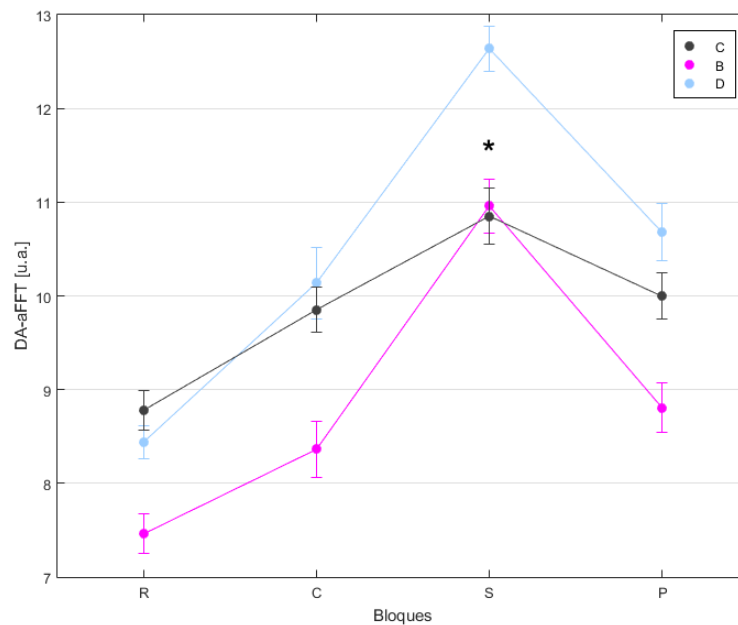
Al igual que para el caso del ECG, el grupo control es aquel que presenta la mayor respuesta al estrés, en este caso con mayor frecuencia respiratoria en los bloques  $S_i$ : grupo C) ( $0.360 \pm 0.017$ )Hz, mientras que los dos grupos de pacientes presentan valores y comportamientos similares entre ellos: grupo B) ( $0.304 \pm 0.019$ )Hz, y grupo D) ( $0.31 \pm 0.022$ )Hz. Sin embargo, en este caso, a diferencia de las dos variables analizadas anteriormente, durante el post se obtienen valores promedio menores a aquellos adquiridos durante reposo ( $P_i$  vs.  $R_i$ ): grupo C) ( $0.268 \pm 0.021$  vs.  $0.274 \pm 0.017$ )Hz, ( $p=ns$ ); grupo D) ( $0.277 \pm 0.017$  vs.  $0.288 \pm 0.016$ )Hz, ( $p=ns$ ); grupo B) ( $0.274 \pm 0.016$  vs.  $0.265 \pm 0.014$ )Hz, ( $p=ns$ ).

Realizando el análisis estadístico mencionado en la sección 4.2.3, obtuvimos un comportamiento similar al encontrado en RR. Los grupos C y B presentan diferencias significativas en DA-mF para las condiciones REST vs. CONTROL ( $p=0.014$  y  $p<0.001$  respectivamente) y REST vs. ESTRÉS ( $p=0.002$  y  $p=0.043$  respectivamente), mientras



que el grupo D no presenta diferencias significativas en ninguno de los casos. Finalmente, no se encuentran diferencias significativas entre grupos para ningún bloque.

En segundo lugar, graficamos el área bajo la FFT de la curva DA (DA-aFFT, Figura 4.26). Se promediaron las DA-aFFT calculadas para cada bloque  $R_i$ ,  $C_i$ ,  $S_i$  y  $P_i$  respectivamente, para cada grupo de sujetos, obteniendo de esta manera un valor por condición (R, C, S y P). Este procedimiento se realizó dado que, al ser la DA-aFFT una medida indirecta del SNA, es conveniente tener una mayor cantidad de mediciones para cada una de las tareas, para así disminuir el error de este parámetro.



**Figura 4.26:** DA-aFFT en función de las distintas condiciones de los paradigmas, para los tres grupos de sujetos. \* $p=0.03$ ,  $p=0.022$  para los bloques S vs. R para los grupos B y D respectivamente. Las barras de error corresponden al error estándar.

Observamos que el máximo valor de la DA-aFFT, para los tres grupos, se obtiene para el bloque de estrés. Los grupos C y B presentan un máximo similar ( $C_{m\acute{a}x} = 10.85 \pm 0.93$ )u. a. y  $B_{m\acute{a}x} = (11.23 \pm 0.844)$ u. a.) respectivamente, mientras que el grupo D alcanza un mayor valor  $D_{m\acute{a}x} = (12.71 \pm 0.808)$ u. a.).

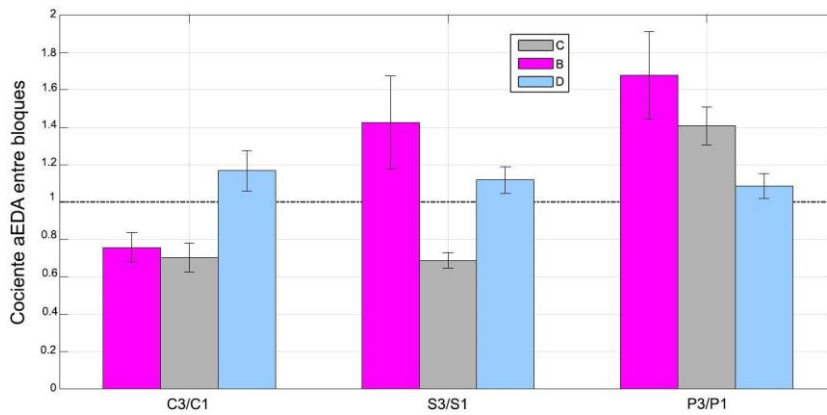
Los tres grupos tienen un comportamiento cualitativo global similar. Al igual que en el caso del aEDA y del RR, la DA-aFFT presenta un mínimo durante el rest, luego aumenta durante el bloque control, llega a su máximo en la tarea estrés, para luego descender durante el post, sin regresar a su nivel basal obtenido en el rest. Sin embargo, en este caso, notamos una gran diferencia en la amplitud global de la curva (la diferencia entre el valor máximo y mínimo alcanzado) entre el grupo control ( $A_C = (2.07 \pm 0.62)u.a.$ ) y los grupos de pacientes ( $A_B = (3.51 \pm 0.75)u.a.$  y  $A_D = (4.51 \pm 0.80)u.a.$ ). Estadísticamente, esto se traduce en una diferencia significativa entre los valores paramétricos obtenidos para los bloques REST vs. ESTRÉS para los grupos de pacientes (B y D), y una diferencia no significativa para el grupo control: grupo B) ( $7.72 \pm 0.64$  vs.  $11.2 \pm 0.85$ )  $u.a.$ , ( $p=0.03$ ); grupo D) ( $8.2 \pm 0.60$  vs.  $12.7 \pm 0.81$ )  $u.a.$ , ( $p=0.022$ ); grupo C) ( $8.78 \pm 0.68$  vs.  $10.9 \pm 0.94$ )  $u.a.$ , ( $p=ns$ ).

De este modo, ambas variables respiratorias presentaron comportamientos semejantes para los dos grupos de pacientes (B y D), diferenciándose del grupo control (C). Este último presenta una DA-mF mayor durante los bloques C y S, pero una aFFT menos variable a lo largo del paradigma.

### 4.3.2. Variabilidad del aEDA a lo largo del paradigma

Al ser el EDA la única señal del SNA analizada que sólo refleja el estado de la división simpática, nos resulta interesante su estudio, a través del cual podemos analizar si el estado mental alcanzado se mantiene a lo largo de todo el paradigma SI, y si el nivel de estrés varía durante los bloques  $S_i$ .

En primer lugar, recordando que el paradigma SI consiste en tres repeticiones de los bloques de cada condición (CONTROL, ESTRÉS y POST), se analizó la diferencia de señal entre la última repetición de cada bloque y la primera. Es decir, el cociente del aEDA entre el bloque final e inicial de cada condición (Figura 4.27). De esta manera podemos cuantificar la evolución de la variable a lo largo del paradigma.

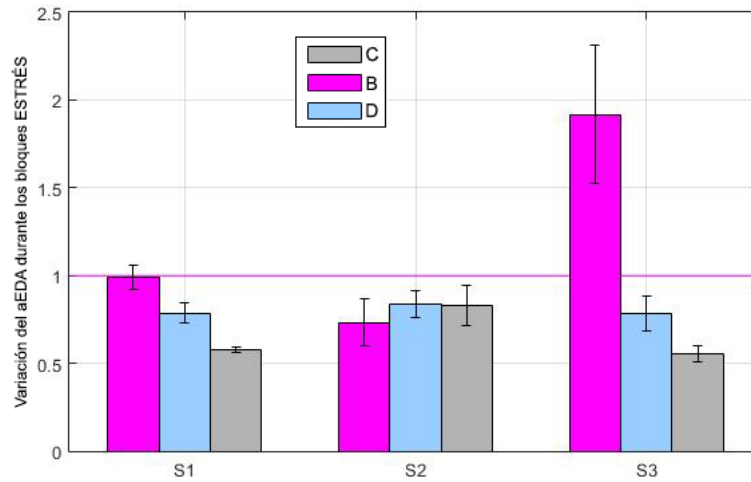


**Figura 4.27:** Cociente del aEDA para los tres grupos de sujetos (C, B, D) entre los bloques final (C3, S3, P3) e inicial (C1, S1, P1) de cada condición. Las barras de error indican la variabilidad entre sujetos. Se grafica una constante en  $y=1$ ; si el valor de cada barra está por debajo de ésta, entonces la variable disminuyó en el transcurso del paradigma.

Los tres grupos de estudio presentan diferentes comportamientos a lo largo de una misma condición, medido a través de la señal cutánea. El grupo C muestra una disminución de la respuesta en los bloques CONTROL y ESTRÉS (coeficientes  $\frac{C3}{C1} < 1$ , y  $\frac{S3}{S1} < 1$ ), mientras que aumenta en el bloque POST. Los sujetos del grupo D no presentan grandes cambios a lo largo del paradigma, el aEDA para este grupo se mantiene constante a lo largo de las repeticiones, para todos los bloques. Por último, el grupo B es aquel que presenta menor variación a lo largo de la condición ESTRÉS. Si bien su comportamiento en el bloque CONTROL es similar al del grupo C, con un cociente  $\frac{C3}{C1} < 1$ , presenta el mayor cociente entre bloques para las etapas ESTRÉS y POST, con  $\frac{S3}{S1} \cong 1,4$  y  $\frac{P3}{P1} \cong 1,7$  respectivamente. Este grupo también es el que presenta mayor variabilidad entre sujetos, como puede observarse a partir de las barras de error correspondientes.

Paralelamente se realizó un análisis de variabilidad únicamente a lo largo de los bloques ESTRÉS. No sólo resulta interesante estudiar si los sujetos presentan una variación de su respuesta durante la tarea ESTRÉS a lo largo del paradigma (teniendo en cuenta que se intercalan distintas condiciones), sino también a lo largo de cada bloque ESTRÉS (de 1 minuto de duración), durante el tiempo que intentan resolver las ecuaciones más complejas. Se dividieron los bloques ESTRÉS en dos partes de 30

segundos cada una, y se calculó el cociente del aEDA entre la segunda mitad de los bloques y la primera, para toda la muestra (Figura 4.28).



**Figura 4.28:** Variación de la respuesta a lo largo de los bloques estrés para todos los grupos (C, B, D). Las barras indican el cociente del aEDA entre la segunda y la primera mitad de cada bloque estrés (S1, S2, S3). Las barras de error indican la variabilidad entre sujetos. Se grafica una constante en  $y=1$ ; si el valor de cada barra está por debajo de ésta, entonces la variable disminuyó en el transcurso del paradigma.

Los grupos C y D presentan una disminución de la respuesta cutánea a lo largo de cada bloque ESTRÉS. El grupo C es aquel que presenta la mayor disminución, con cocientes  $S1 = S3 \cong 0,6$ , y  $S2 \cong 0,8$ . Es decir, exhiben menor aEDA a medida que responden una mayor cantidad de ecuaciones. El grupo D nuevamente presenta un comportamiento constante a lo largo de todas las etapas, similar al grupo control. Sin embargo, el grupo B presenta un comportamiento distinto: si bien en los primeros bloques se observa un comportamiento similar a los otros dos grupos, la medición del aEDA aumenta al doble en el último bloque S3.

---

## Capítulo 5: Correlato periférico

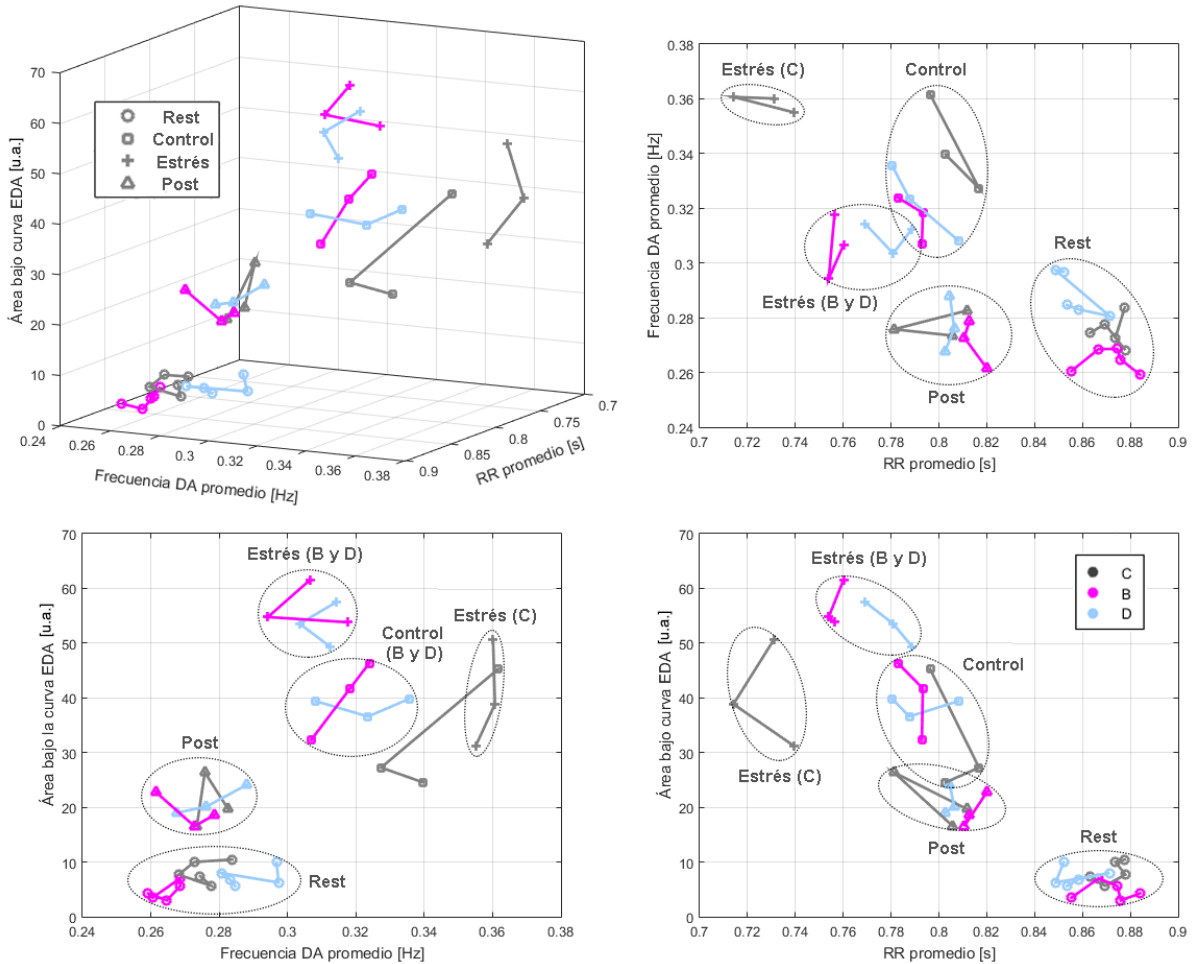
Dado que todas las señales periféricas adquiridas se ven moduladas por el SNA, no sólo es de interés estudiar su comportamiento individual a lo largo de los paradigmas, sino también analizar si existe un correlato entre dos o más de ellas. En el capítulo anterior, se analizó el comportamiento de cada uno de los parámetros presentados en la sección 4.2.3, en función de los distintos bloques de ambos paradigmas. A partir de estos resultados, a lo largo de este capítulo, analizaremos si existe alguna relación entre parámetros para las distintas etapas, y para los diferentes grupos. Además, estudiaremos el acoplamiento presente entre dos de las señales periféricas adquiridas, ECG y DA, llamado “acoplamiento cardiorrespiratorio”.

### 5.1. Relación entre señales periféricas

En esta sección se presentará y analizará, en forma gráfica, la relación entre tres de los parámetros estudiados de las señales periféricas. Es decir, si se grafica, por ejemplo: RR medio vs. aEDA vs. DA-mF, buscaremos en forma similar a un diagrama de fases, la existencia o no, de zonas delimitadas que permitan clasificar, ya sean grupos de sujetos, condiciones, o ambas características.

A partir de los resultados obtenidos en el capítulo anterior, se graficó la relación entre la DA-mF, el RR promedio y el aEDA (Figura 5.1: arriba izquierda, gráfico 3D; a la

derecha y en la línea de abajo, sus 3 proyecciones), para todos los bloques y para todos los grupos de sujetos.



**Figura 5.1:** Relación entre los parámetros principales de las señales periféricas entre los diferentes bloques de los paradigmas. **a.** Relación entre la frecuencia DA promedio ( $x$ ), el RR ( $y$ ) y el aEDA ( $z$ ) para los distintos bloques ( $\circ$ =REST,  $\square$ =CONTROL,  $+$ =ESTRÉS,  $\Delta$ =POST). Las figuras **b.**, **c.** y **d.** representan las proyecciones de los planos  $xy$ ,  $yz$ , y  $xy$  respectivamente.

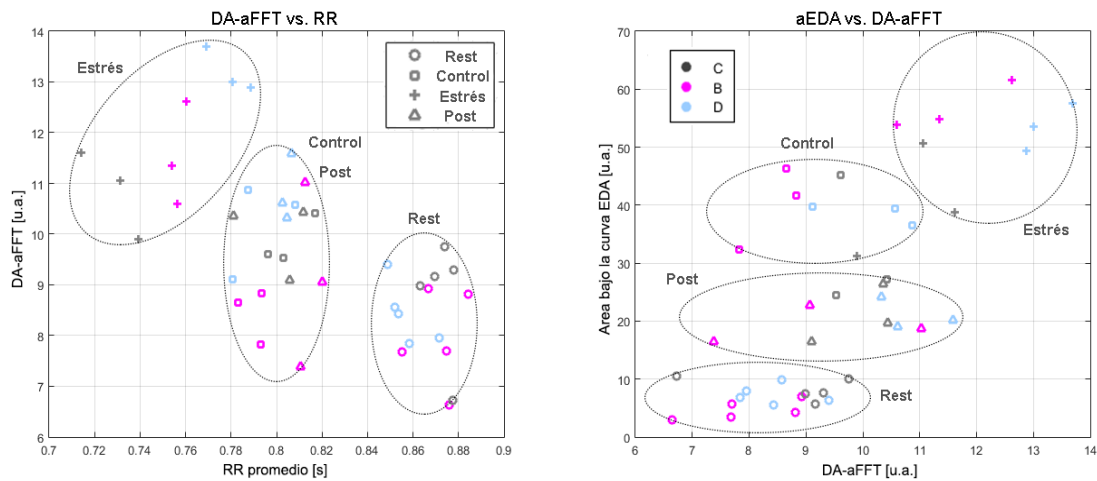
Observamos, tanto en el gráfico 3D como en todas sus proyecciones, la formación de distintos *clusters* bien definidos, según la condición del paradigma analizado, y/o según el grupo de sujetos medidos: controles o pacientes.

En todos los casos, los datos correspondientes a la condición REST se encuentran en *clusters* alejados, ubicados en los valores mínimos o máximos de los ejes (según el parámetro), y que no se superponen con los *clusters* adyacentes de otras condiciones.

En lo que respecta al *cluster* que engloba a los datos de ESTRÉS, se encuentra siempre ubicado en el sector diagonalmente opuesto al REST. Es decir, cuando un parámetro presenta un mínimo para REST, presenta un máximo para ESTRÉS, y viceversa. También notamos que esta condición es la única que presenta dos sub-clusters diferenciados: uno para el grupo control, y otro para los grupos de pacientes.

Finalmente, los *clusters* correspondientes a CONTROL y POST, si bien también se encuentran bien definidos, y ambos se ubican en el centro del gráfico de cada proyección, sin tomar valores extremos en ningún caso. Aun así, en todas las proyecciones encontramos una cercanía del sector CONTROL al sector ESTRÉS, y del POST al REST.

También se graficó la DA-aFFT en función de los parámetros de las otras señales periféricas analizadas (aEDA y RR medio), para evaluar su posible utilización como un biomarcador periférico. El resultado puede verse en la Figura 5.2.



**Figura 5.2:** Relación entre **a.** DA-aFFT y RR promedio, **b.** aEDA y DA-aFFT para todos los bloques (o=REST, □=CONTROL, +=ESTRÉS, Δ=POST), para toda la muestra.

Observamos nuevamente la clusterización obtenida en el análisis anterior, para las distintas condiciones, siguiendo la misma disposición: la condición REST se encuentra en el sector opuesto a la de ESTRÉS, mientras que las dos condiciones restantes (CONTROL Y POST) se encuentran en la zona media del gráfico. Sin embargo, en este caso, al ser la DA-aFFT un parámetro indirecto del SNA, notamos una mayor variabilidad



y dispersión de los puntos, obteniendo *clusters* de mayor tamaño y menos definidos. En particular, en la Figura 5.2 a), los puntos correspondientes a control y post para todos los sujetos se solapan, resultando indiferenciables.

## 5.2. Acoplamiento cardio-respiratorio

En lo que respecta a la VFC (ver sección 4.2.3.), tanto la distribución de la potencia como la frecuencia central de LF y HF, varían en relación a los cambios en las modulaciones autonómicas del ritmo cardíaco. En particular, las componentes HF se asocian mayormente a la rama parasimpática. Éstas, a su vez, están vinculadas a la arritmia sinusal respiratoria (ASR), que es el fenómeno de sincronía entre la VFC y la respiración: el intervalo RR se acorta durante la inspiración, y se prolonga durante la espiración (Yasuma y Hayano, 2004). Todo esto da cuenta del llamado acoplamiento cardiorrespiratorio. Se ha demostrado que este acoplamiento disminuye durante el esfuerzo físico (Raschke, 1991) y en estrés mental (Widjaja, 2013), comparado a situaciones de reposo.

### Método de Hilbert: cuantificación del acoplamiento

El acoplamiento cardiorrespiratorio entre la señal RR y la respiratoria, puede ser cuantificado de diversas maneras. Una de ellas es a través de la diferencia de fase instantánea (Cysarz y Büssing, 2005) utilizando la transformada de Hilbert, método aplicable a señales no necesariamente estacionarias. Dadas dos señales temporales simultáneas  $x_1(t)$  y  $x_2(t)$ , de la misma duración, y de igual frecuencia de muestreo, la fase relativa o diferencia de fase entre las mismas se puede obtener mediante:

$$\Delta\phi(t) = \phi_1(t) - \phi_2(t) = \arctan\left(\frac{\tilde{x}_1(t)x_2(t) - x_1(t)\tilde{x}_2(t)}{x_1(t)x_2(t) + \tilde{x}_1(t)\tilde{x}_2(t)}\right) \quad [5.1]$$

Donde  $\phi_1(t)$  y  $\phi_2(t)$  son las fases instantáneas de las señales  $x_1(t)$  y  $x_2(t)$  respectivamente, y  $\tilde{x}_1(t)$  y  $\tilde{x}_2(t)$  sus transformadas de Hilbert, definidas por:

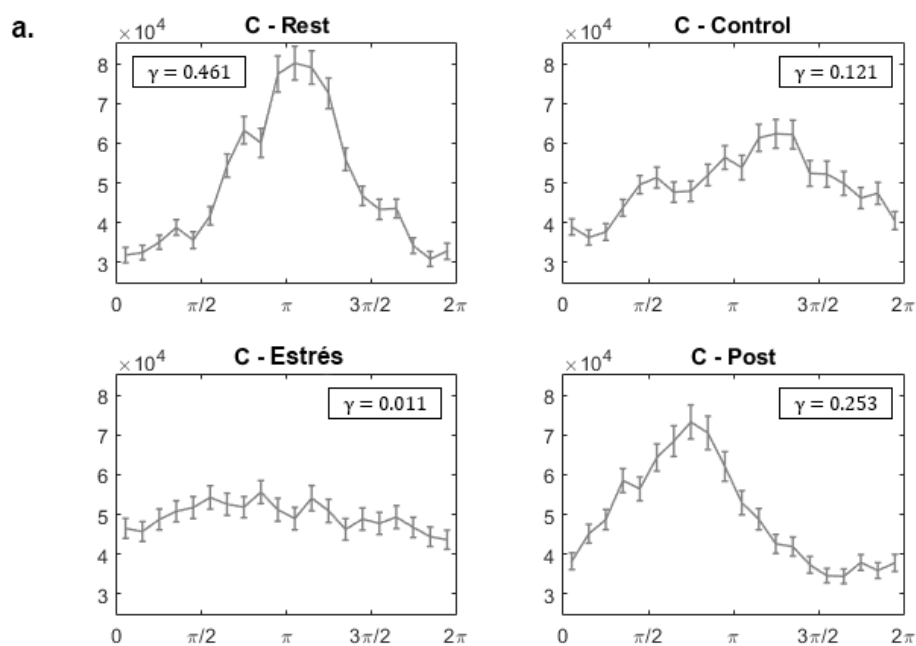
$$\tilde{x} = \pi^{-1} P.V. \int_{-\infty}^{+\infty} x(\tau) (t - \tau) d\tau \quad [5.2]$$

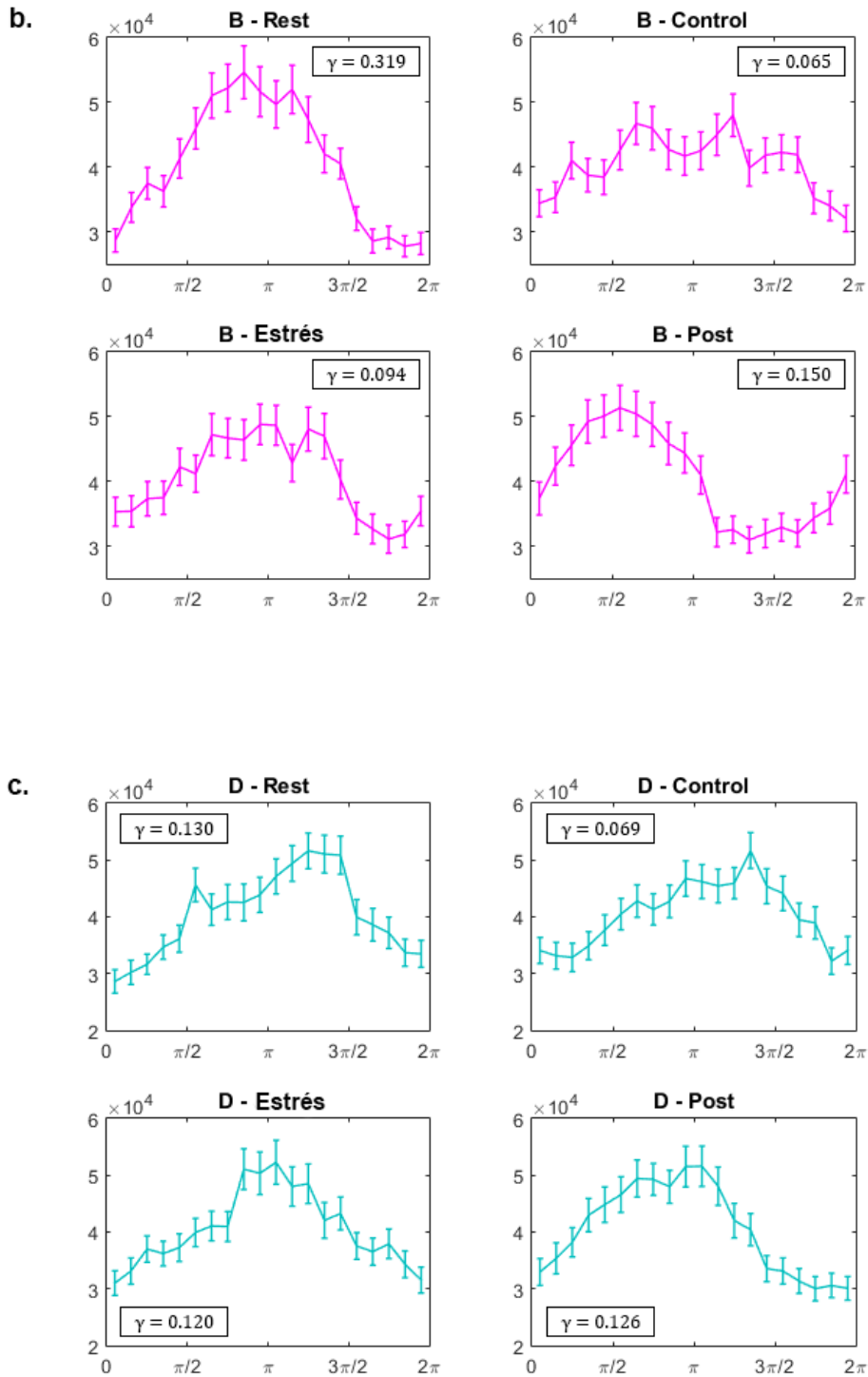
donde P.V. denota que la integral está efectuada en el sentido del valor principal de Cauchy. A partir de la diferencia de fase, se puede obtener un coeficiente de acoplamiento  $\gamma$ , que cuantifica el nivel de sincronía entre las 2 señales, dado por (Cysarz y Büssing, 2005):

$$\gamma = \langle \cos(\Delta\phi(t) \bmod 2\pi) \rangle^2 + \langle \sin(\Delta\phi(t) \bmod 2\pi) \rangle^2 \quad [5.3]$$

Donde  $\langle \dots \rangle$  nota el valor medio temporal:  $\langle f(t) \rangle = (\Delta T)^{-1} \int_0^{\Delta T} f(t) dt$ , donde  $\Delta T$  es la duración de las mediciones,  $(\Delta\phi(t) \bmod 2\pi)$  es el resto de la división entre  $\Delta\phi(t)$  y  $2\pi$ , y  $\Delta\phi(t)$  es la diferencia de fase instantánea entre ambas señales dada por [5.1]. De acuerdo a su definición, un mayor valor de  $\gamma$  implica una mayor sincronía entre señales  $x_1(t)$  y  $x_2(t)$ , y viceversa, donde  $0 \leq \gamma \leq 1$  (siendo 0 = asincronía completa y 1 = sincronía perfecta).

A partir de las señales ECG y DA se obtuvo la diferencia de fase instantánea en radianes entre las mismas, en función del tiempo, y su coeficiente  $\gamma$  correspondiente, dado por la ecuación [5.3]. Se graficó, para cada grupo de sujetos, y para ambos paradigmas, la curva de diferencia de fase promedio para cada condición, restringido al intervalo entre 0 y  $2\pi$  (Figura 5.3).





**Figura 5.3:** Diferencia de fase promedio de las señales ECG y DA, y coeficiente de sincronización  $\gamma$  restringido al intervalo  $[0,2\pi]$  durante el paradigma RS ( condición REST) y durante las diferentes condiciones del paradigma SI (CONTROL, ESTRÉS, POST) para el grupo: **a. C, b. B, c. D.** Las barras de error indican el desvío estándar entre sujetos.

---

Los grupos C y B presentan sincronización entre las señales ECG y DA en las condiciones REST ( $\gamma_C = 0.461$ ,  $\gamma_B = 0.319$ ) del paradigma RS, y POST ( $\gamma_C = 0.253$ ,  $\gamma_B = 0.150$ ) del paradigma SI (Figura 5.3.a y 5.3.b). Durante la condición REST, las señales se encuentran desfasadas en  $\pi$ ; mientras que, durante el POST tienen una diferencia de fase de aproximadamente  $\frac{\pi}{2}$ . Por lo contrario, a lo largo de la tarea CONTROL ( $\gamma_C = 0.121$ ,  $\gamma_B = 0.065$ ) y ESTRES ( $\gamma_C = 0.011$ ,  $\gamma_B = 0.094$ ) del paradigma SI, observamos una asincronía para ambos grupos, denotada por un coeficiente  $\gamma$  de un orden menor, comparado con las instancias anteriormente mencionadas. El mayor acoplamiento cardiorrespiratorio está dado para sujetos controles, durante el reposo, con un  $\gamma = 0.461$ , en oposición al período de estrés mental, para los mismos sujetos, el cual presenta la mayor asincronía de la muestra, con un coeficiente  $\gamma_C = 0.011$ .

A diferencia de los grupos anteriores, el grupo D no evidencia acoplamiento cardiorrespiratorio en ninguna de las etapas estudiadas (Figura 5.3.c). Las 4 instancias analizadas presentan coeficientes de sincronización entre  $\gamma_D = 0.069$  y  $\gamma_D = 0.130$ .

Por último, observamos que los sujetos controles presentan menor variabilidad intra-grupo que los sujetos de los grupos B y D, en todos los casos analizados; en particular, durante la condición ESTRÉS.

---

## Capítulo 6: Señales Centrales

### 6.1. Instrumental y parámetros

Las imágenes cerebrales fueron adquiridas en el resonador 3.0T HDxt (GE) del Departamento de Imágenes de FLENI. Se empleó una bobina receptora de 8 canales y la secuencia de pulsos EPI-GRE con los siguientes parámetros:  $TR = 2000ms$  (se registró un volumen cada 2 segundos),  $TE = 30ms$ , ángulo de rotación del pulso de radiofrecuencia de  $90^\circ$ ,  $FOV$  (campo de visión) de 24cm, matriz de 64 x 64 píxeles, tamaño de voxel de  $3.75 \times 3.75 \times 4 \text{ mm}^3$ .

La señal ECG es aquella que mayor distorsión presenta por su naturaleza eléctrica. La configuración óptima para compatibilizar la adquisición de fMRI con la de ECG consiste en buscar la combinación de parámetros de forma tal que la frecuencia de señal espuria,  $FE > 15 \text{ Hz}$ , puesto que a partir de esta frecuencia es posible filtrar la señal fisiológica sin que esta sufra transformaciones significativas. El rango en el que el resonador permite variar estos parámetros no es libre y encuentra su máximo para la configuración  $TR = 2s$ , y 33 cortes dando una frecuencia de “ruido” de  $cortes/TR = 16.5 \text{ Hz}$ . Es esta la configuración óptima para la realización de las mediciones a lo largo de este trabajo (Deschle, Laboratorio 6 y 7, 2012). Por lo tanto, se obtuvieron treinta y tres cortes contiguos en el plano AC-PC (comisura anterior-posterior). Se adquirieron dos sesiones de 200 (paradigma RS) y de 280 (diseño de bloques: paradigma SI) volúmenes por cada sujeto.

## 6.2. Modelado de las imágenes

Las imágenes adquiridas por fMRI contienen información de la evolución temporal de la señal BOLD y de las áreas donde la actividad resulta significativamente distinta que la basal. Esta información no se obtiene de manera directa, sino que deben realizarse una serie de operaciones matemáticas y estadísticas sobre la serie temporal de imágenes. Además, los datos crudos obtenidos presentan inexactitud espacial y temporal causada por movimientos de la cabeza del sujeto, inhomogeneidades en el campo estático, y/o diferencias en el momento de adquisición de la imagen.

### 6.2.1 Pre-procesado

A la primera etapa de corrección de las imágenes previa a la del modelado de la señal se la denomina pre-procesado, y consta de diferentes correcciones y normalizaciones necesarias para su posterior análisis.

#### Corrección de diferencias de tiempo de adquisición de cada corte (*slice timing*)

Cada volumen es adquirido durante el transcurso del TR elegido, y está conformado por una sucesión de imágenes bidimensionales (cortes). Esto impone un tiempo de registro distinto para cada corte a lo largo del TR y, por lo tanto, un tiempo cero distinto para cada corte de un mismo volumen. A su vez se puede elegir el orden secuencial con el que se adquieren los cortes. En este trabajo particularmente, el orden utilizado es el de intercalado, tomando primero todos los cortes impares y luego todos los pares, comenzando desde el cuello hacia arriba. Esto implica que dos cortes consecutivos fueron adquiridos a tiempos considerablemente distintos. Es por ello que debe realizarse una corrección de las diferencias de fase mediante una interpolación temporal de los datos (SPM8 Manual, Wellcome Trust Centre for Neuroimaging, UCL, sección I.1).

#### Realineado

Mientras se adquieren las imágenes, los movimientos de cabeza de los sujetos pueden hacer que un voxel determinado en un volumen no represente el mismo lugar del

cerebro que el mismo voxel de otro volumen de un tiempo posterior, presentando una problemática a la hora del análisis de los resultados de fMRI. Esta etapa del pre-procesado, conocida como realineado de los datos, corrige los movimientos de la cabeza del sujeto durante el estudio, mediante la aplicación de traslaciones y rotaciones de cuerpo rígido de cada volumen respecto a uno elegido como referencia (SPM8 Manual, Wellcome Trust Centre for Neuroimaging, UCL, sección II.2).

### Normalización

Para que la comparación de las imágenes adquiridas sea factible entre diferentes sujetos, las imágenes del cerebro de cada uno de ellos deben ser transformadas de modo que sean del mismo tamaño y forma para todos. Este proceso se denomina normalización y consiste en la aplicación de transformaciones no lineales sobre cada volumen de modo que coincidan con un cerebro patrón estandarizado (SPM8 Manual, Wellcome Trust Centre for Neuroimaging, UCL, sección II.6). Utilizamos el sistema de coordenadas de Tailarach (Tailarach y Tournoux, 1998) usando como referencia el cerebro patrón del Montreal Neurological Institute (Ashburner y Friston, 1999).

### Suavizado

Esta etapa consiste en aplicar un filtro espacial pasa bajos a las imágenes adquiridas con el fin de filtrar las componentes del ruido y así aumentar la relación señal/ruido. La técnica más común de suavizado es la introducción de un filtro de Gauss tridimensional del tamaño de 4 voxeles (SPM8, Wellcome Trust Centre for Neuroimaging, UCL, sección II.7).

Todas estas etapas del pre-procesado de las imágenes adquiridas fueron realizadas mediante el SPM8 (Wellcome Department of Cognitive Neurology, London, UK) implementado en MATLAB.



## 6.2.2 Modelado de la señal BOLD

### Marco teórico

Una vez realizado el pre-procesado de los datos, las series temporales de imágenes son modeladas mediante una función matemática que se ajusta al perfil temporal de la señal BOLD. Luego, son evaluadas estadísticamente para obtener el mapa de activación típico que se ve en imágenes de fMRI. El procedimiento se llama Modelo Lineal General (GLM - Friston et al., 2000) y se aplica a la serie temporal de cada voxel. Sea un vector  $V$  que contiene los  $N$  volúmenes adquiridos  $V = (V_1, V_2, \dots, V_N)$ , donde cada volumen  $V_k = (v_1^k, v_2^k, \dots, v_n^k)$  contiene  $n$  vóxeles. El modelo plantea ajustar la serie temporal del voxel  $v_i^k$  mediante una función del tipo:

$$v_i = X * \beta + \varepsilon \quad [6.1]$$

donde  $X$  es una matriz que contiene el diseño experimental,  $\beta$  es una matriz de parámetros de ajuste y  $\varepsilon$  el error. La matriz  $X$  está compuesta por una sucesión de vectores columna (uno por cada condición) que contienen información temporal de cuándo comienza y termina cada bloque. Es decir, para la condición ESTRÉS, por ejemplo, el vector consistirá de una serie de funciones cuadradas de valor cero durante los intervalos temporales donde se estaban realizando las condiciones CONTROL y POST, y de valor 1 durante los bloques de ESTRÉS. Esta serie es luego convolucionada con una función de respuesta hemodinámica (hrf) que representa el perfil de la señal BOLD real. Se obtiene como resultado la onda cuadrada modulada por la función hrf: esto no sólo modifica la forma de la onda cuadrada acorde al perfil de la señal BOLD, sino que aplica el desfase temporal existente entre el inicio del evento y el máximo de la señal BOLD.

Una vez calculada la serie teórica, se buscan los parámetros  $\beta$  que mejor ajustan esta curva a las series reales de datos. El mapa final de activación surge de realizar una prueba t-estadística sobre estos volúmenes  $\beta$  o sobre una combinación lineal de ellos (llamados contrastes). Por ejemplo, si se busca la activación de ESTRES-REST, se hace una prueba t-estadística buscando en qué voxeles la resta  $[\beta(ESTRES) - \beta(REST)]$  es significativamente distinta de cero. De este modo se obtiene un mapa cerebral estadístico de las zonas activas para la condición estudiada. Finalmente, se superpone este mapa de

activación a una imagen anatómica del cerebro normalizada para relacionar el voxel significativo con una región anatómica específica.

### Tratamiento de los datos

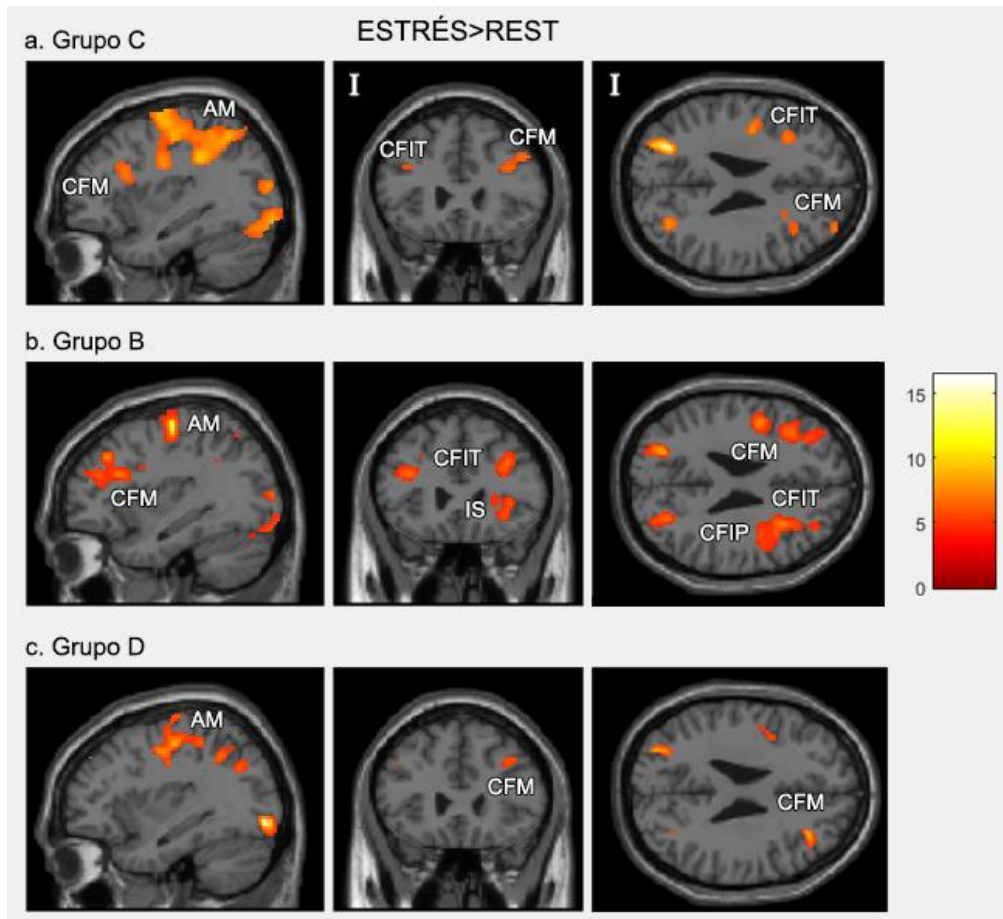
El análisis individual fue hecho incluyendo las diferentes condiciones del diseño de bloques del paradigma SI (CONTROL, ESTRÉS y POST) y de la condición basal (REST). Para cada sujeto se crearon los siguientes contrastes lineales: ESTRÉS>CONTROL, CONTROL>REST, ESTRES>REST y POST>REST. Luego, para hacer inferencias a nivel muestral, es necesario realizar análisis grupales donde quede de manifiesto la activación común a todos los sujetos: es decir, se calculan las áreas coincidentes para todos ellos. Para realizar este análisis, se eligen los contrastes de cada individuo y se realiza un test de t entre ellos. El procedimiento es el mismo que el empleado a nivel individual, donde se define un umbral significativo para visualizar las áreas en común. Este método se realizó para cada uno de los contrastes mencionados por separado, y para cada uno de los grupos (C, B y D).

## **6.3. Resultados**

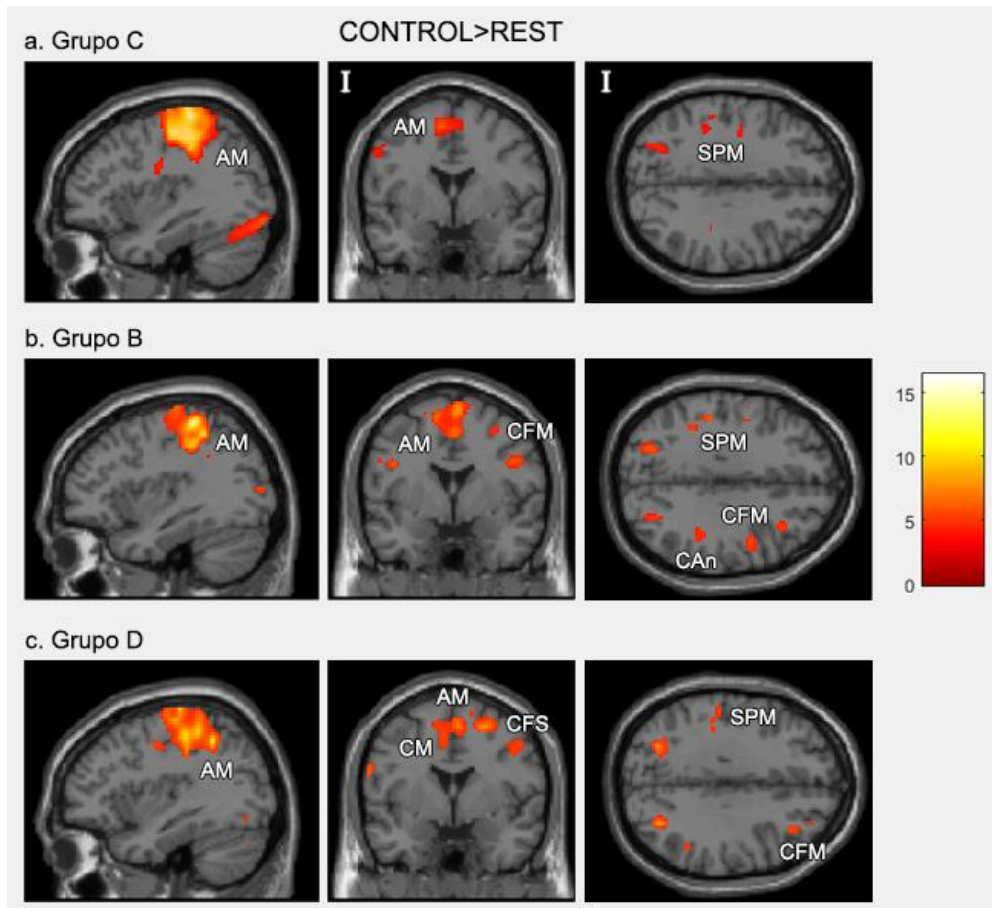
Se analizaron los diferentes contrastes grupales obtenidos (ESTRÉS>CONTROL, ESTRÉS>REST, CONTROL>REST y POST>REST), en búsqueda de áreas cerebrales vinculadas al estrés. A continuación, se describen los mapas de activación para cada grupo; es decir, los vóxeles o *clusters* donde los parámetros de ajuste  $\beta$  superan un determinado umbral estadístico. En este caso el umbral usado es de  $p < 0.001$ . Este valor indica que la probabilidad de que alguna activación encontrada sea un falso positivo es de 0.01%. Luego, al estar las imágenes normalizadas a un atlas estandarizado, las regiones activas poseen coordenadas espaciales específicas que, comparándolas con el atlas anatómico, nos indican a qué región del cerebro pertenecen.

### 6.3.1. Tareas vs. REST

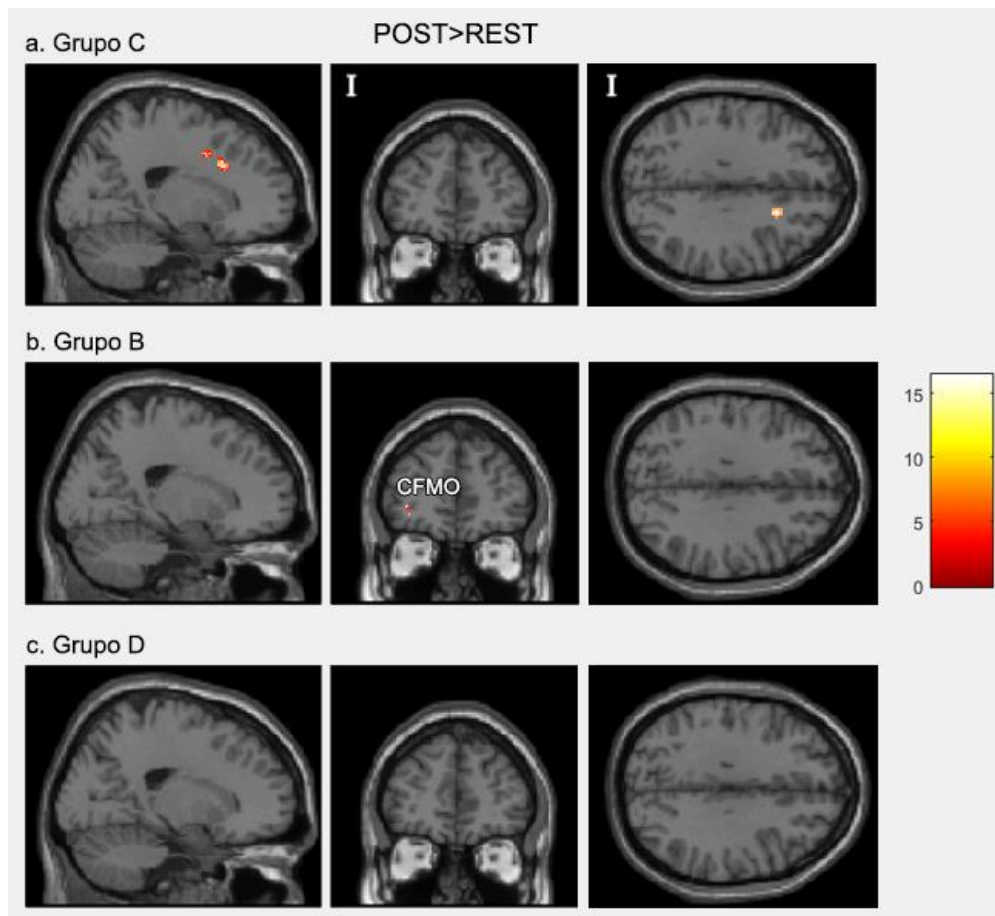
Se muestran a continuación las activaciones obtenidas para los contrastes ESTRÉS>REST, CONTROL>REST y POST>REST, para los tres grupos de sujetos.



**Figura 6.1:** Activaciones cerebrales para el contraste ESTRÉS>REST para todos los grupos de sujetos.  $p=0.001$ , cortes ( $x = -34, y = 26, z = 26$ ). AM: área motora, CFM: circunvolución frontal media, CFIT: circunvolución frontal inferior triangular, IS: ínsula, CFIP: circunvolución frontal inferior opercular. I: hemisferio izquierdo.



**Figura 6.2:** Activaciones cerebrales para el contraste CONTROL>REST para todos los grupos de sujetos.  $p=0.001$ , cortes ( $x = -36, y = 0, z = 32$ ). AM: área motora, SPM: circunvolución supramarginal, CFM: circunvolución frontal media, CAn: circunvolución angular, CFS: circunvolución frontal superior, CM: cíngulo medio. I: hemisferio izquierdo.



**Figura 6.3:** Activaciones cerebrales para el contraste POST>REST para todos los grupos de sujetos.  $p=0.001$ , cortes ( $x = 21, y = 46, z = 31$ ). CFMO: circunvolución frontal media orbital. I: hemisferio izquierdo.

### Grupo C

Los sujetos controles (C) mostraron, durante los contrastes ESTRÉS>REST y CONTROL>REST (Figuras 6.1.a y 6.2.a), una gran activación del área motora (AM). Además, en el primero, se observa activación en la circunvolución frontal media (CFM) y en la circunvolución frontal inferior triangular (CFIT) y frontal inferior opercular (CFIP), mientras que en CONTROL>REST no se observa activación en las estructuras frontales y solo se agrega un pequeño cluster en el área supramarginal (SPM). No se observan activaciones de interés en el contraste POST>REST (Figura 6.3.a).

### Grupo B

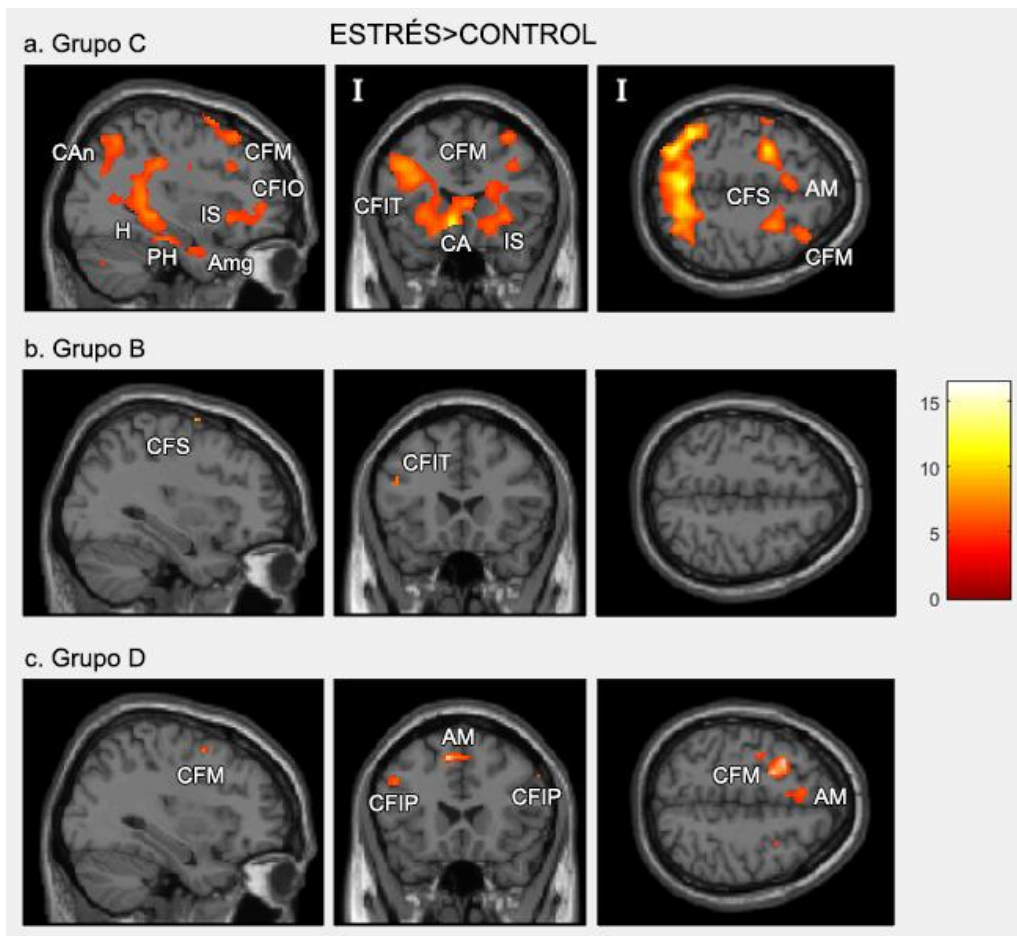
Los pacientes con TLP (B) mostraron, al igual que el grupo C, durante los contrastes ESTRES>REST y CONTROL>REST (Figuras 6.1.b y 6.2.b), activación del área motora. Al igual que los controles, en ESTRÉS>REST observamos activación en la CFIP, CFIT, con el agregado de la ínsula (IS). Para el caso CONTROL>REST también se observó activación de la SPM, CFM y circunvolución angular (CAn). En el contraste POST>REST (Figura 6.3.b) observamos activación de la circunvolución frontal media orbital (CFMO).

### Grupo D

En el caso del grupo de pacientes con TDP (D) también observamos activación del AM en los contrastes ESTRÉS>REST y CONTROL>REST (Figuras 6.1.c y 6.2.c), al igual que para los dos grupos anteriores. En el caso del contraste ESTRÉS>REST, los pacientes presentan activación de la CFM, pero no se observa activación en la CFIP y CFIT. Durante CONTROL>REST, observamos activación de la CFM, SPM, cíngulo medio (CM) y circunvolución frontal superior (CFS). En POST>REST (Figura 6.3.c) no se observa ninguna activación.

## **6.3.2. ESTRÉS vs. CONTROL**

Se muestran a continuación (Figura 6.4) las activaciones obtenidas para el contraste ESTRÉS>CONTROL, para todos los sujetos.



**Figura 6.4:** Activaciones cerebrales para el contraste ESTRÉS>CONTROL para todos los grupos de sujetos.  $p=0.001$ , cortes ( $x = 34, y = 22, z = 52$ ). H: hipocampo, PH: parahipocampo, IS: ínsula, Amg: amígdala, CFIO: circunvolución frontal inferior orbital, CAn: circunvolución angular, CFM: circunvolución frontal media, CFS: circunvolución frontal superior, CFIT: circunvolución frontal inferior triangular, CFM: circunvolución frontal media, CFIP: circunvolución frontal inferior opercular, AM: área motora. I: hemisferio izquierdo.

El grupo C es aquél que más activación presenta en el contraste ESTRÉS>CONTROL (Figura 6.4.a). Observamos activación de la IS, hipocampo derecho (H), parahipocampo derecho (PH), circunvolución angular (CAn) y amígdala (Amg) (Figura 6.4.a). También encontramos activaciones de la circunvolución frontal inferior orbital (CFIO) y la frontal media (CFM), junto con el área motora (AM). En el grupo B (Figura 6.4.b) observamos poca activación, particularmente en las áreas CFS y CFIT. Por último, el grupo D (Figura 6.4.c) muestra activaciones en el área motora (AM), la CFM, CFIP y CFM.

## Capítulo 7: Correlato periférico-central

El estudio en forma conjunta de variables periféricas y centrales del SNA es de sumo interés, dado que se desconocen los mecanismos de acoplamiento entre ellas. En los últimos dos capítulos, se han estudiado las características de las señales periféricas y centrales, separadamente. A lo largo de esta sección analizaremos, desde una primera aproximación, la correlación periférico-central, a partir de los resultados obtenidos anteriormente.

### 7.1. Regresiones múltiples

Una regresión múltiple consiste en realizar una serie de regresiones simples entre las series temporales  $x_i(t)$  de cada voxel y la covariable  $Y$  de interés, la cual está representada para todo el volumen. A diferencia de una regresión simple (donde la relación buscada entre los datos es una línea recta), en el caso de tener muchas variables contra una, se establece una relación dada en el hiperplano de  $N_{VX}$  dimensiones, donde  $N_{VX}$  es el número de voxels. La relación queda dada por:

$$Y(t) = \beta_1 x_1(t) + \beta_2 x_2(t) + \dots + \beta_{N_{VX}} x_{N_{VX}}(t) + \varepsilon \quad [7.1]$$

con  $x \in \{x_1, \dots, x_{N_{VX}}\}$ . De forma similar al modelo general lineal aplicado a cada sujeto para encontrar sus parámetros  $\beta$  de ajuste, aquí se buscan los parámetros de ajuste  $\beta$  de regresión, que ajustan a esas rectas individuales. El resultado es un volumen  $\beta_{\text{Reg}}$  donde el valor de cada voxel indica cuán correlacionada linealmente está la serie temporal de ese



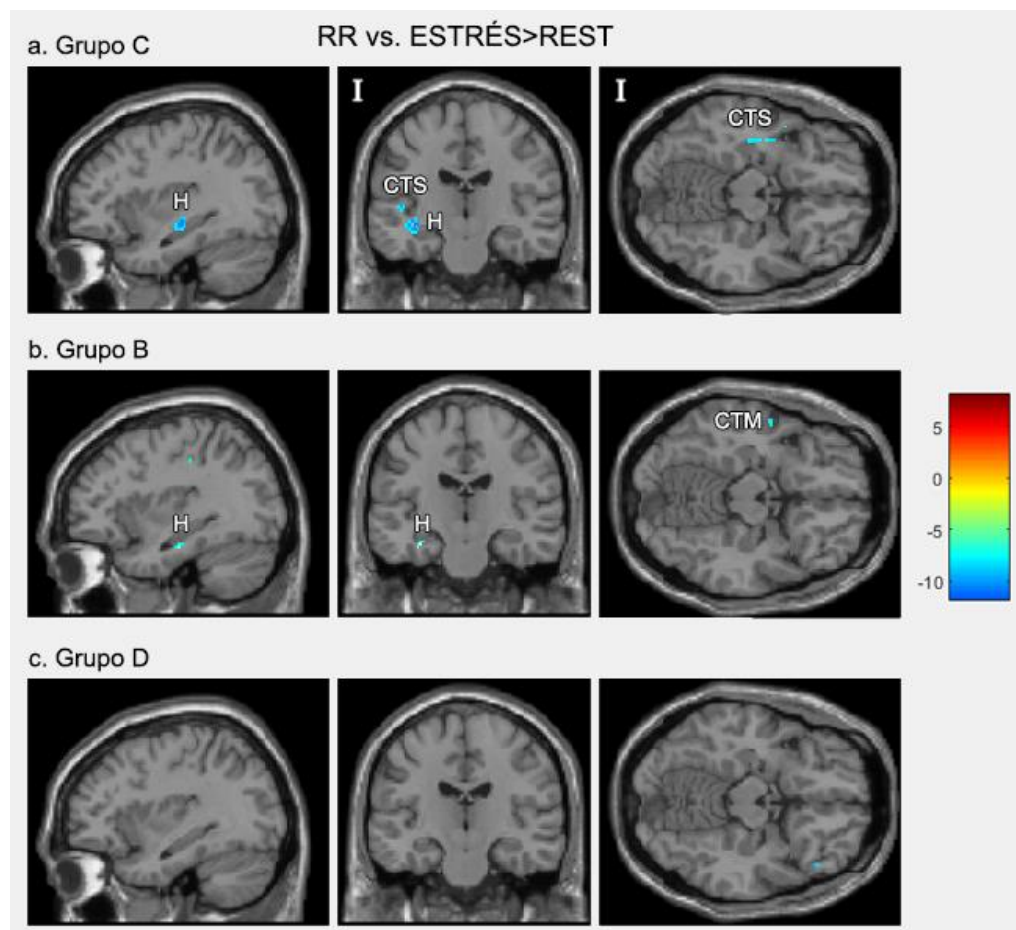
voxel con el parámetro de interés. Este volumen, al igual que en los casos anteriores, debe evaluarse luego de aplicarle un test estadístico que nos indica cuáles regiones superan el umbral establecido, en nuestro caso evaluamos a una probabilidad de falsos positivos  $p < 0.001$ .

Se realizaron regresiones entre tres de los contrastes grupales (ESTRÉS>REST, CONTROL>REST y POST>REST) y dos conjuntos de variables periféricas: RR y DA-mF (adquiridas durante los mismos bloques mencionados), a partir de un análisis de regresión realizado desde el SPM8, implementado en Matlab. Este análisis consiste en encontrar cambios significativos en las zonas de activación del cerebro que se encuentren relacionados directamente con la variación de las señales periféricas, durante los distintos contrastes. Es decir, observar qué áreas del cerebro cambian su activación al modificarse estas variables.

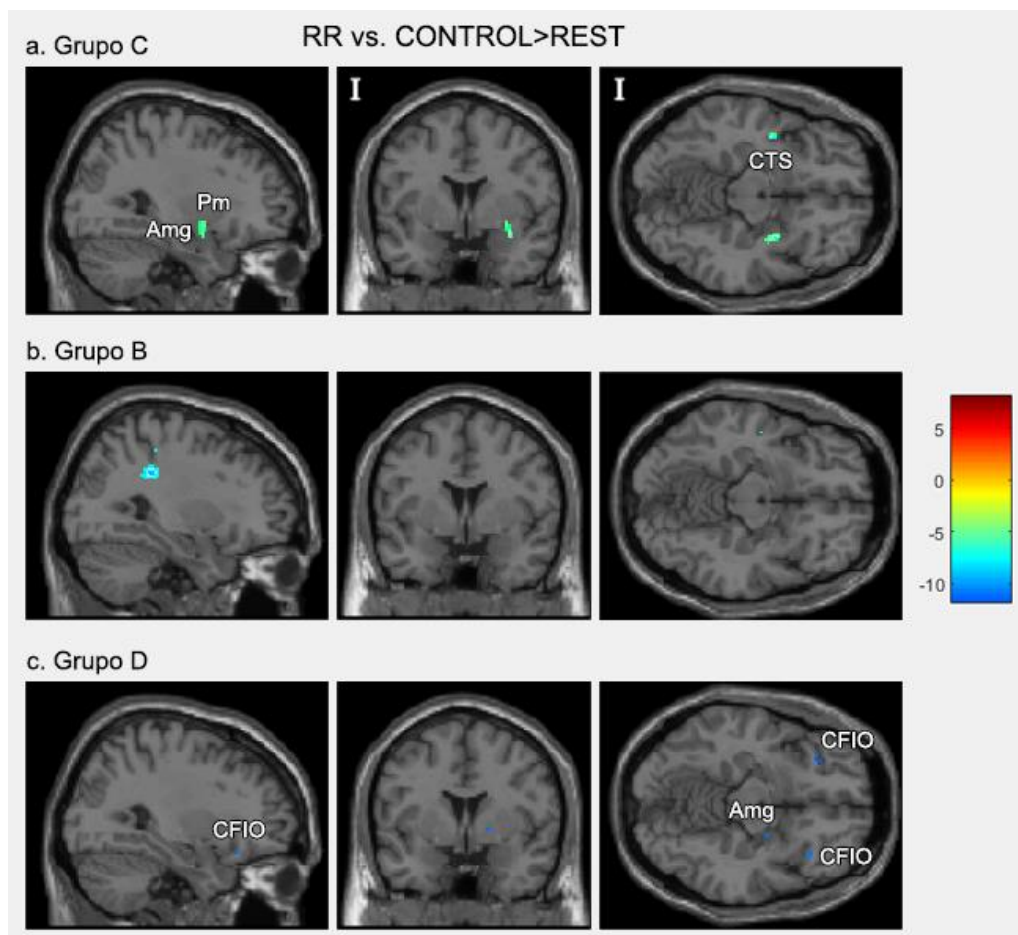
Es válido aclarar que las otras dos variables periféricas adquiridas a lo largo de este trabajo (aEDA y DA-aFFT) no han sido utilizadas en este análisis por dos razones: 1- la señal EDA no se encuentra normalizada para toda la muestra, lo que presentaría un problema a la hora de realizar un análisis de regresión grupal; 2- vimos que la DA-aFFT es una medida indirecta del SNA, por lo que la utilización de la DA-mF como variable en este análisis es una mejor elección. Las dos variables utilizadas, RR y DA-mF reflejan tanto a la división simpática como parasimpática, por lo que su análisis presenta un panorama completo del correlato periférico-central.

## 7.2. Resultados

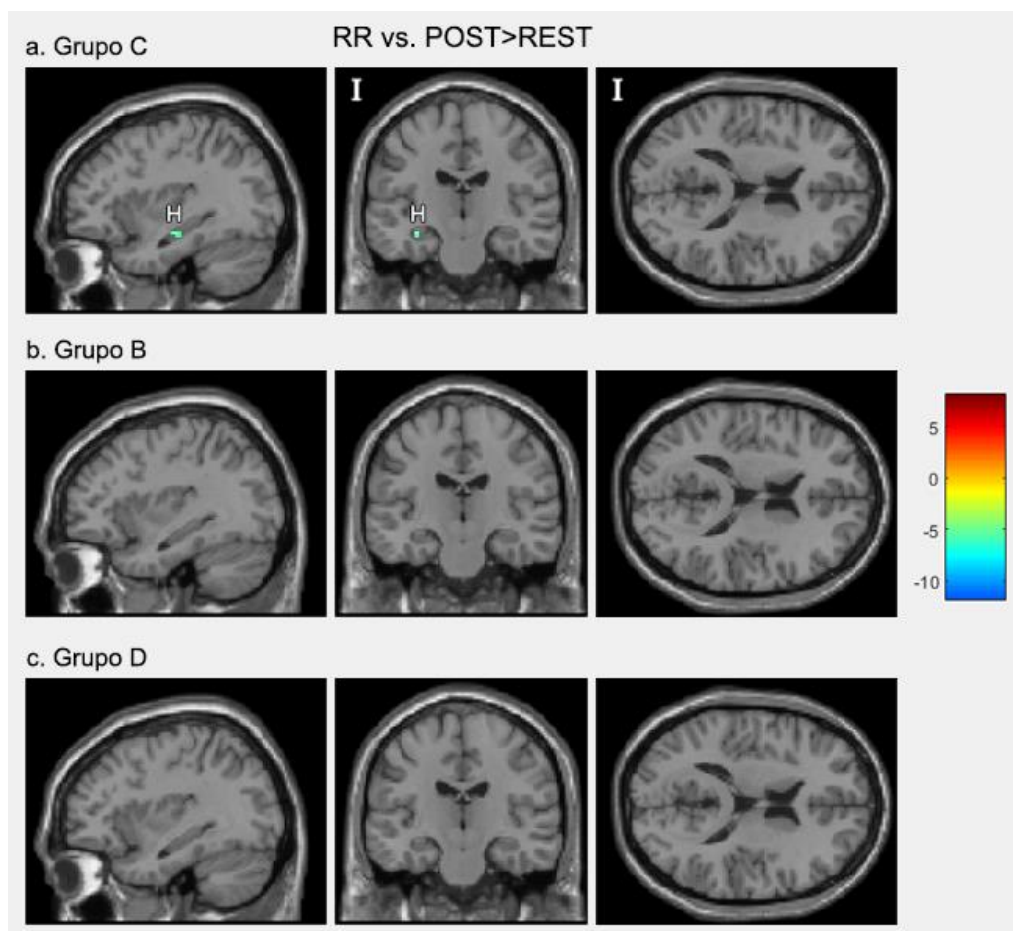
A continuación, se muestran los resultados obtenidos en el análisis de regresión. Éstos se encuentran divididos por grupo de sujetos, y subdivididos en cuatro partes (Figuras 7.1 a 7.6): cada una indica una regresión entre un parámetro periférico (RR, DA-mF) y un contraste dado (ESTRÉS>REST, CONTROL>REST, POST>REST). A su vez, para cada una de estas partes, se describen las áreas centrales correlacionadas de forma directamente proporcional con las variables periféricas (CORR+, en positivo, tonos cálidos en las figuras), y aquéllas correlacionadas de forma inversamente proporcional (CORR-, en negativo, tonos fríos).



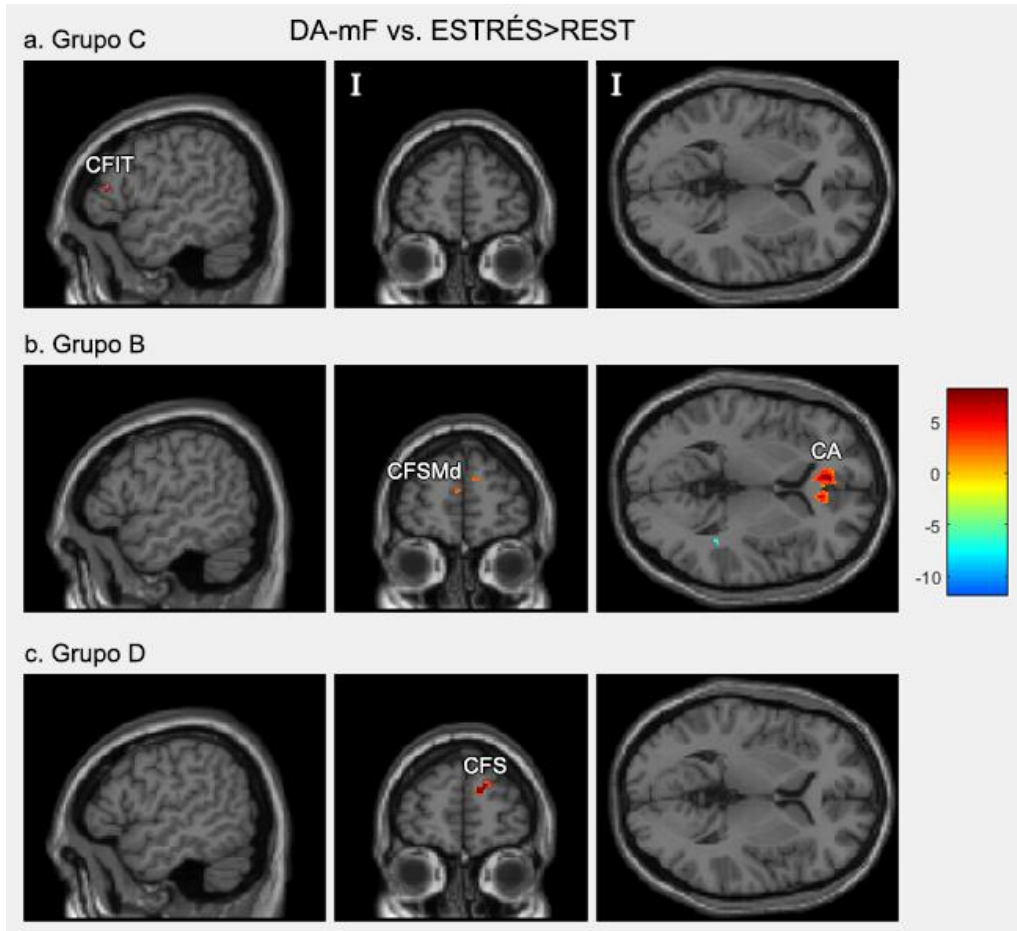
**Figura 7.1:** Análisis de regresión para la correlación RR vs. ESTRÉS>REST, para todos los sujetos. Se muestran tanto las correlaciones positivas como negativas,  $p=0.001$ , *cortes* ( $x = -34, y = -18, z = -14$ ). H=hipocampo, CTS: circunvolución temporal superior, CTM: circunvolución temporal media. I: hemisferio izquierdo.



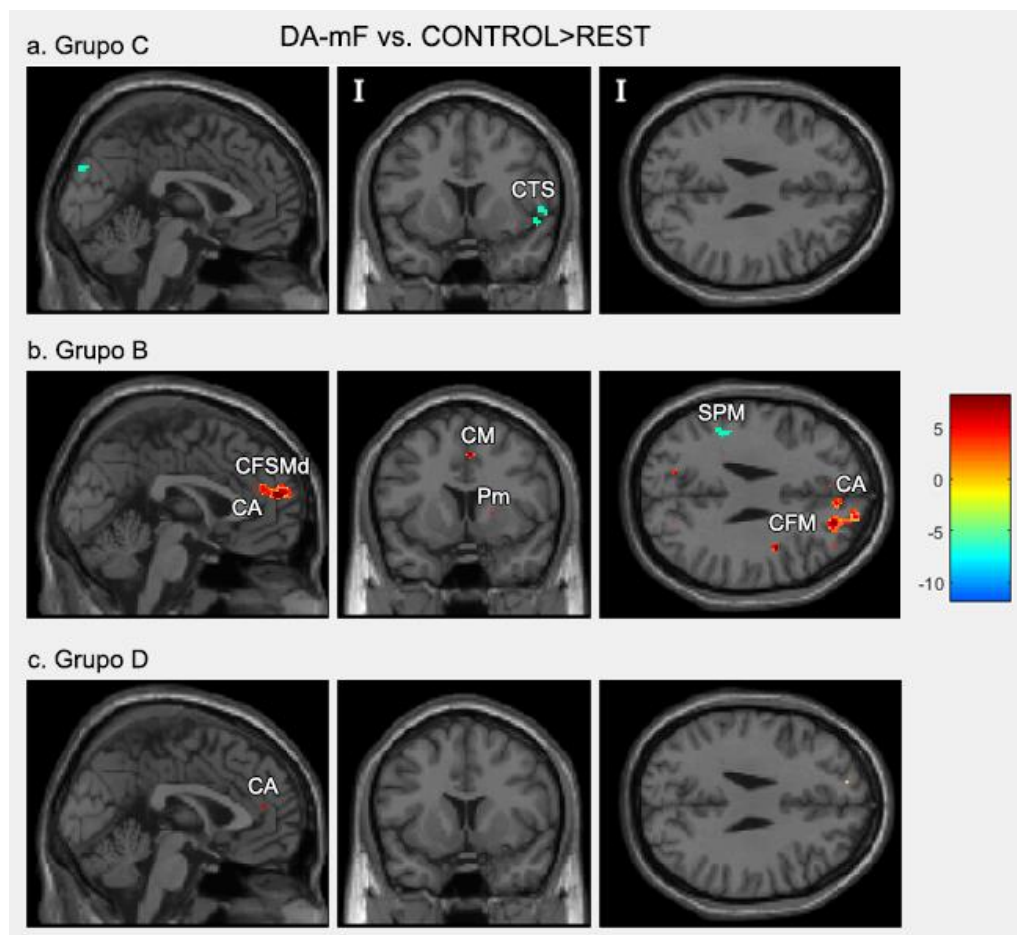
**Figura 7.2:** Análisis de regresión para la correlación RR vs. CONTROL>REST, para todos los sujetos. Se muestran tanto las correlaciones positivas como negativas,  $p=0.001$ , cortes ( $x = 30, y = 2, z = -12$ ). Pm=putamen, Amg: amígdala, CTS: circunvolución temporal superior, CFIO: circunvolución frontal inferior orbital. I: hemisferio izquierdo.



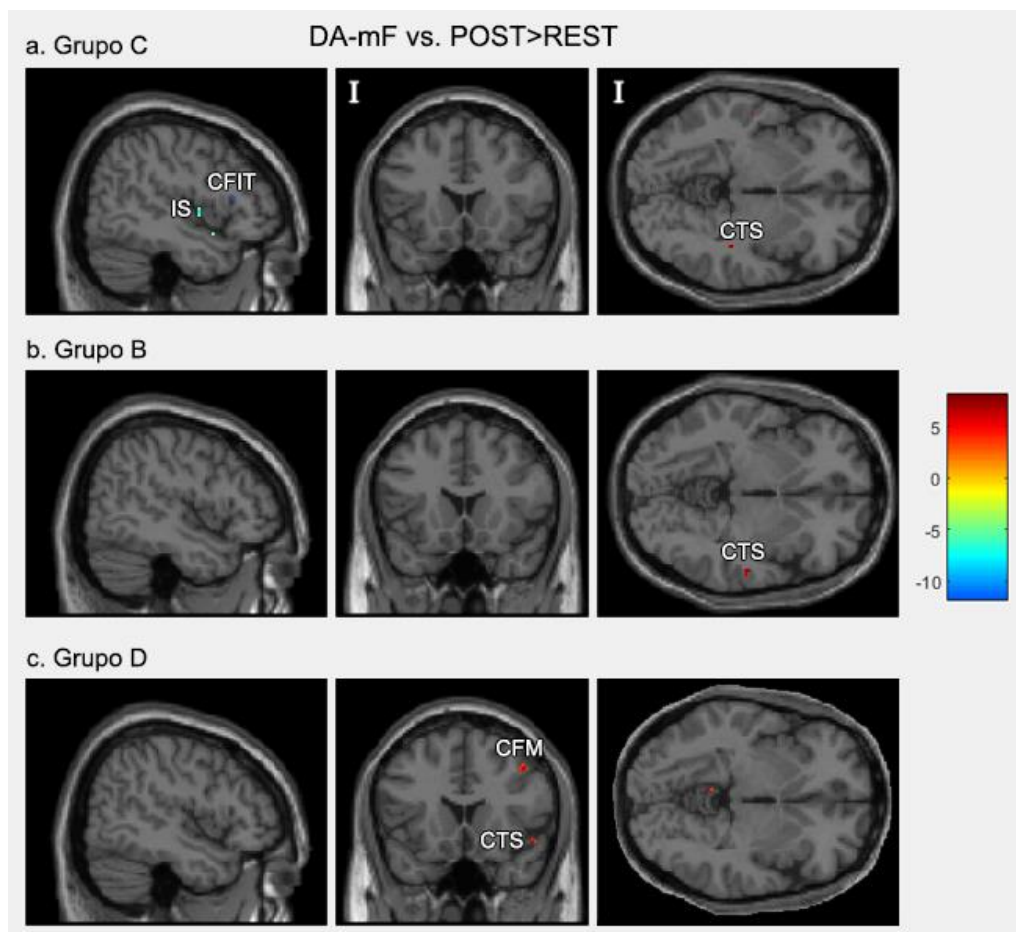
**Figura 7.3:** Análisis de regresión para la correlación RR vs. POST>REST, para todos los sujetos. Se muestran tanto las correlaciones positivas como negativas,  $p=0.001$ , cortes ( $x = -34, y = -18, z = 16$ ). H=hipocampo. I: hemisferio izquierdo.



**Figura 7.4:** Análisis de regresión para la correlación DA-mF vs. ESTRÉS>REST, para todos los sujetos. Se muestran tanto las correlaciones positivas como negativas,  $p=0.001$ , cortes ( $x = -52, y = 56, z = 4$ ). CFIT: circunvolución frontal inferior triangular, CFSMd: circunvolución frontal superior medial, CA: cíngulo anterior, CFS: circunvolución frontal superior. I: hemisferio izquierdo.



**Figura 7.5:** Análisis de regresión para la correlación DA-mF vs. CONTROL>REST, para todos los sujetos. Se muestran tanto las correlaciones positivas como negativas,  $p=0.001$ , cortes ( $x = 0, y = 10, z = 28$ ). CTS: circunvolución temporal superior, CFSMd: circunvolución frontal superior medial, CA: cíngulo anterior, CM: cíngulo medio, Pm: putamen, SPM: circunvolución supramarginal, CFM: circunvolución frontal media. I: hemisferio izquierdo.



**Figura 7.6:** Análisis de regresión para la correlación DA-mF vs. POST>REST, para todos los sujetos. Se muestran tanto las correlaciones positivas como negativas,  $p=0.001$ , cortes ( $x = 49, y = 18, z = -4$ ). CFIT: circunvolución frontal inferior triangular, IS: ínsula, CTS: circunvolución temporal superior, CFM: circunvolución frontal media. I: hemisferio izquierdo.

### Grupo C

Desde la Figura 7.1.a hasta la 7.6a, podemos observar los resultados del análisis de regresión para las distintas combinaciones de variables periféricas y contrastes, para el grupo control (C).

Para el caso de la variable cardíaca RR vs ESTRÉS>REST (Figura 7.1.a), observamos una relación inversa con el hipocampo (H) y la circunvolución temporal superior (CTS). Para el contraste CONTROL>REST (Figura 7.2.a) observamos también sólo una relación inversa con el putamen (Pm), la CTS y la amígdala (Amg). Finalmente, volvemos a observar también sólo relación inversa con el H en el último contraste, POST>REST (Figura 7.3.a).

Para la variable DA-mF, observamos relación positiva con el CFIT para el primer contraste mencionado (Figura 7.4.a) y negativa en el CTS para el segundo (Figura 7.5.a). Para el contraste POST>REST (Figura 7.6.a) tenemos anticorrelación con el CFIT y la IS y correlación con el CTS.

### Grupo B

Las Figuras 7.1.b a 7.6b, muestran los resultados del análisis de regresión para las distintas combinaciones de variables periféricas y contrastes, para el grupo de pacientes con TLP (B).

Para el caso de la variable cardíaca RR vs. ESTRÉS>REST (Figura 7.1.b) observamos activación negativa del hipocampo (H), al igual que para el grupo control. Para los otros dos contrastes, CONTROL>REST (Figura 7.2.b) y POST>REST (Figura 7.3.b) no se observan activaciones de interés.

Para la variable DA-mF, observamos activación positiva del cíngulo anterior (CA) y de la circunvolución frontal superior medial (CFRMd) para el primer contraste mencionado (Figura 7.4.b). Para el contraste CONTROL>REST (Figura 7.5.b) se observa la mayor cantidad de activaciones para este grupo: nuevamente relación positiva con el cíngulo anterior, cíngulo medio (CM), Pm, CFM y CFSMd, y negativa para la SPM. Para el contraste POST>REST (Figura 7.6.b) sólo observamos activación positiva con el CTS.



### Grupo D

Las Figuras 7.1.c a 7.6.c muestran los resultados del análisis de regresión para las distintas combinaciones de variables periféricas y contrastes, para el grupo de pacientes con TDM (D).

Para el caso de la variable cardíaca RR, no observamos activaciones en los contrastes ESTRÉS>REST y POST>REST (Figuras 7.1.c y 7.3.c). En el caso del contraste CONTROL>REST (Figura 7.2.c), los pacientes muestran activación en la amígdala y la CFIO.

Para la variable DA-mF, observamos activación positiva en la CFS para el primer contraste mencionado (Figura 7.4.c). Para el contraste CONTROL>REST (Figura 7.5.c) se observa relación positiva con el cíngulo anterior, y para el POST>REST (Figura 7.6.b) con las áreas CTS y CFM.

## Capítulo 8: Conclusiones

En este trabajo se caracterizaron distintas señales autonómicas periféricas, para tres grupos de sujetos (sanos, TLP y TDM), durante reposo y tareas de estrés, y se hallaron diferentes biomarcadores basados en la modificación de la dinámica de dichas variables en respuesta al estrés. Al mismo tiempo, se obtuvo la actividad cerebral asociada y se determinó la dinámica de correlación entre estas áreas cerebrales y los biomarcadores periféricos. El análisis conjunto de estas variables es fundamental, tanto para extender la comprensión de la fisiopatología de las enfermedades estudiadas, como para aportar nuevos marcadores neurobiológicos de especificidad de dichas patologías neuropsiquiátricas.

El trabajo constó de diversas etapas. En primer lugar, se analizaron las señales periféricas adquiridas. Este proceso implicó realizar un extenso trabajo de filtrado y pre-procesado de las mismas, debido a las grandes distorsiones sufridas por los campos magnéticos del resonador, para luego buscar y analizar los parámetros específicos de cada señal. En segundo lugar, se investigó la correlación entre los distintos parámetros periféricos encontrados, y su acoplamiento. En tercer lugar, estudiamos la activación cerebral durante las distintas etapas del paradigma SI, en comparación con el reposo. Esta última etapa mencionada implicó un pre-procesado de las imágenes obtenidas a través de fMRI, el modelado de las series temporales de imágenes en forma individual para cuatro contrastes diferentes: ESTRÉS>REST, CONTROL>REST, POST>REST y ESTRÉS>CONTROL, y finalmente los análisis grupales de las cuatro condiciones

mencionadas. Por último, se analizó la relación periférico-central, realizando diferentes regresiones lineales entre los contrastes de fMRI y las variables periféricas.

## 8.1. Señales periféricas

Las señales periféricas adquiridas con el BIOPAC son distorsionadas por los campos magnéticos presentes dentro del resonador. Es por eso que debieron encontrarse filtros específicos para obtener señales limpias. Se encontró que las señales EDA y DA pueden depurarse con filtros LP. Sin embargo, la señal ECG, por su naturaleza eléctrica, requirió de un filtro de banda y de un HP para recuperar los complejos QRS exitosamente.

El estudio de la naturaleza de las señales periféricas llevó a la identificación de distintos biomarcadores del estrés para cada una de ellas. En lo que respecta a la respuesta cutánea, se analizó el área bajo la curva EDA (aEDA). En el caso de la respuesta respiratoria, se encontraron dos parámetros característicos: la frecuencia respiratoria media (DA-mF) y el área bajo la curva de la FFT de la señal respiratoria (DA-aFFT). Por último, para el caso de la señal cardíaca, los biomarcadores analizados fueron el RR medio y las potencias de la VFC, tanto para bajas (LF) como para altas frecuencias (HF). Tanto la DA como la ECG son señales reguladas por ambas ramas del SNA: simpática y parasimpática. Es por eso que se eligieron más parámetros para estas señales que para el EDA, el cual sólo presenta inervación simpática.

### 8.1.1. Señales periféricas vs. bloques

En primer lugar, se analizó el comportamiento de los parámetros elegidos para las señales periféricas a lo largo de los diferentes bloques de los paradigmas.

#### aEDA

Se observó, para todos los grupos, un aumento global del aEDA durante el bloque ESTRÉS, lo que demuestra una respuesta del SNA frente al estímulo externo presentado.

Además, para todos los grupos, se obtiene mayor respuesta durante los bloques  $C_i$  y los  $S_i$ , en comparación a los bloques  $R_i$  y  $P_i$ . Esto indica que, durante las condiciones CONTROL y ESTRÉS, el EDA presenta un mayor número y amplitud de SCRs, lo cual está relacionado con lo mencionado anteriormente: una respuesta al estrés caracterizada por un aumento de la influencia simpática del SNA sobre la piel. Finalmente, en todos los casos estudiados, el aEDA disminuyó en el bloque POST, volviendo parcialmente a los valores obtenidos durante el bloque REST.

El grupo C presentó diferencias significativas en los bloques ESTRÉS vs. REST y CONTROL vs. REST. Podemos inferir entonces que el grupo control muestra un cambio significativo que comienza en los bloques  $C_i$ , se exagera ante los bloques  $S_i$  (inductores de estrés), para luego volver a un estado similar al de reposo durante los bloques  $P_i$ . Este aumento durante la tarea CONTROL podría estar vinculado al tipo de variable estudiada, dado que refleja sólo la división simpática del SNA y, por ende, el estado de alerta. Teniendo esto en cuenta, el aumento durante ésta tarea podría deberse al inicio de una nueva actividad, sin importar el grado de estrés que genere la misma.

El grupo B, no sólo es aquel que presenta el máximo aEDA obtenido durante el estrés, sino que no disminuye durante los bloques  $P_i$ . Esto podría indicar que los sujetos de este grupo se mantienen en este estado mental de estrés por más tiempo, sin poder retomar los valores cutáneos obtenidos en reposo.

El grupo D, por otro lado, no presenta grandes cambios a lo largo del paradigma, por lo que pareciera no verse mayormente afectado por el estímulo presentado. Esto podría deberse, tanto a la falta de respuesta del SNA en este grupo de pacientes debido a su patología o, por el contrario, a una respuesta exagerada del SNA, presente desde la etapa de reposo, lo cual impediría visualizar cambios entre un momento y otro.

Adicionalmente, se observó un aumento excesivo del aEDA durante el primer bloque CONTROL ( $C_1$ ) con respecto a los otros dos bloques ( $C_2$  y  $C_3$ ), para los grupos C y B. Este efecto ya se menciona en trabajos anteriores (Álvarez y Pereyra, Laboratorio 6 y 7, 2014), y se lo adjudica al impacto que produce el inicio del paradigma en el sujeto. Este impacto está dado principalmente por dos factores: el comienzo de la tarea a realizar, y el inicio de los ruidos característicos de la adquisición del fMRI.

En lo que refiere a la variación del aEDA en función de la repetición del estímulo, encontramos que el grupo C disminuye su respuesta conforme avanza el paradigma, indicando un posible efecto de habituación a la tarea. El grupo B, por el contrario, aumenta la actividad cutánea en un 40% durante la de tarea de estrés, sugiriendo que no sólo se alcanza el estado mental esperado, sino que éste escala a medida que se repiten los estímulos. El grupo D, en cambio, muestra valores constantes a lo largo de todas las repeticiones: como se mencionó anteriormente, el estado mental esperado no se alcanza por los sujetos, o no varía a lo largo del paradigma.

En el caso del estudio de la evolución a lo largo de un mismo bloque ESTRÉS, observamos que los grupos C y D van disminuyendo su respuesta. Es decir, las primeras ecuaciones generan un mayor estrés en los sujetos, el cual decae a lo largo del bloque. Esto podría interpretarse como una habituación a la tarea, disminuyendo el interés o el grado el estrés generado. El grupo B, sin embargo, presenta el comportamiento opuesto: a lo largo del minuto correspondiente al último bloque ESTRÉS del paradigma, el aEDA aumenta casi en un 200%. Estos sujetos no solo presentaron un aumento del estrés a lo largo de las repeticiones, sino que, durante el final del paradigma, el nivel de estrés aumentó exponencialmente.

### ECG

En lo que respecta a la actividad cardíaca, obtenemos un resultado global similar al de la respuesta cutánea: todos los grupos presentan respuesta al estrés, denotada por descenso del RR medio (es decir, aumento de la frecuencia cardíaca) durante los bloques  $S_i$ , con respecto a los demás bloques. Particularmente, los grupos C y B presentaron diferencias significativas entre los bloques  $R_i$  y los bloques tarea ( $C_i$  y  $S_i$ ); no siendo este el caso del grupo D, el cual presentó, una vez más, una falta de variación entre actividades.

A partir del análisis realizado a la VFC, observamos que el grupo C responde al bloque ESTRÉS del paradigma, a través de un aumento de la LF y un descenso de la HF; mientras que en el caso de los dos grupos de pacientes B y D, ambos parámetros permanecen constantes a lo largo de los distintos bloques.

## DA

En el caso de la frecuencia respiratoria media (DA-mF), al igual que para el caso del ECG, y a diferencia del caso del EDA, el grupo control es aquel que presenta la mayor respuesta durante los bloques ESTRÉS, mientras que los dos grupos de pacientes presentan valores menores, y comportamientos globales similares entre ellos. Este resultado es compatible con lo descrito en el Capítulo 2, donde se mencionó que tanto la señal cardíaca como la respiratoria reciben inervación tanto de la rama simpática como parasimpática del SNA, a diferencia del EDA. De la misma manera que para el caso de los RR medios, los grupos C y B presentan un cambio significativo en la DA-mF, al comparar el estado de reposo con los bloques C<sub>i</sub>, lo cual indicaría un aumento de la rama simpática del SNA, y un descenso de la rama parasimpática: es decir, presentan una respuesta típica de estrés al comenzar el paradigma, y no sólo durante los bloques ESTRÉS. A diferencia de ellos, el grupo D, al igual que en todos los casos anteriores, no presenta grandes cambios a lo largo de los bloques. Para este último grupo, las dos ramas del SNA vuelven a presentar un comportamiento poco variable a lo largo de ambos paradigmas. Por otro lado, notamos nuevamente, a través del parámetro DA-mF, el efecto de inicio de paradigma en el bloque C1, para los grupos C y B.

En lo que respecta a la DA-aFFT, el máximo valor se obtiene en la condición ESTRÉS, para todos los casos. Además, para el grupo C, los valores alcanzados por la DA-aFFT presentan menor variabilidad a lo largo del paradigma, en comparación con los grupos B y D. Esto se traduce en una señal respiratoria con menor cantidad de componentes de frecuencia a lo largo de los bloques para el grupo control, mientras que los grupos de pacientes (B y D) muestran mayor actividad; es decir, el agregado de nuevas frecuencias en el espectro de la señal (aumento del área) o desaparición de componentes de frecuencia (disminución del área) a lo largo de los bloques.

### **8.1.2. Correlato entre señales periféricas**

Dado que todas las señales periféricas adquiridas se ven moduladas por el SNA, no sólo fue de interés estudiar su comportamiento individual a lo largo de los paradigmas, sino también analizar si existe un correlato entre ellas.

Para el caso del estudio de la relación del RR medio vs. aEDA vs. DA-mF, se obtuvieron *clusters* bien definidos para cada una de las las cuatro condiciones (REST, CONTROL, ESTRÉS y POST). En particular, para la condición ESTRÉS, se definen dos sub-agrupaciones: un *cluster* para los sujetos del grupo C, y otro para los de los grupos B y D. Estos resultados nos muestran que es posible clasificar las condiciones en distintos sectores del diagrama de fases conformado por estos parámetros, e incluso diferenciar a los pacientes de estudio respecto de los controles durante el estrés. Podemos concluir entonces, que las variables estudiadas cumplen la función esperada, lo cual nos lleva a postular estas relaciones como biomarcadores del estrés y de las patologías de estudio.

También se buscó la relación entre otros de los parámetros obtenidos, como por ejemplo la DA-aFFT. Sin embargo, en este caso, al ser éste un parámetro indirecto del SNA, notamos una mayor variabilidad y dispersión de los puntos, obteniendo *clusters* de mayor tamaño y menos definidos. Es por ello que, en lo que refiere a este análisis, la DA-aFFT no resulta ser un parámetro ideal.

En el caso del acoplamiento cardiorrespiratorio, se encuentra que para los grupos C y D, las señales ECG y DA se encuentran sincronizadas tanto para el REST como para el POST, pero con diferentes diferencias de fase ( $\pi$  y  $\pi/2$  respectivamente). Para las otras dos condiciones, CONTROL y ESTRÉS, no se encuentra sincronía, especialmente durante la última. Este resultado concuerda con trabajos anteriores (Widjaja, 2013), en donde se demostró que este acoplamiento disminuye durante el estrés mental. En el caso del grupo D, no se encontraron diferencias entre ninguna de las condiciones estudiadas. Podemos concluir que, el análisis del acoplamiento cardiorrespiratorio y el coeficiente  $\gamma$  también resultan excelentes biomarcadores del estrés, y del grupo de pacientes con TDM (grupo D).

## 8.2. Señales Centrales

Se analizaron los diferentes contrastes grupales obtenidos (ESTRÉS>REST, CONTROL>REST, POST>REST y ESTRÉS>CONTROL) para todos los grupos, en búsqueda de áreas cerebrales vinculadas al estrés.

Para los grupos C y B particularmente, se observó una gran activación del área motora en los contrastes que involucraban tareas vs. reposo, a diferencia del grupo D. Esto podría deberse a que los dos primeros grupos resolvieron más ecuaciones (es decir, apretaron más veces la botonera), mientras que el último no presentó tantas respuestas frente a la tarea de estrés aritmético.

En el caso del grupo C obtenemos, además, una gran cantidad de áreas activadas en el contraste ESTRÉS>CONTROL: ínsula, amígdala, hipocampo, parahipocampo, cíngulo anterior, y áreas frontales. Las primeras, son áreas vinculadas al estrés (Castro et al., 2008; 2009; 2015); en particular, la amígdala está asociada a respuestas de agresividad y miedo, la ínsula se encuentra vinculada a las reacciones viscerales, el hipocampo y parahipocampo están asociados a la memoria en función de las emociones, y el cíngulo anterior con la toma de decisiones (por ejemplo, elegir la respuesta correcta frente al cálculo presentado). Las áreas frontales están involucradas en las funciones ejecutivas: atención ejecutiva, memoria de trabajo, planificación y toma de decisiones; por lo tanto, son áreas utilizadas a la hora de resolver las ecuaciones. Sin embargo, en el contraste ESTRÉS>REST sólo prevalecen las activaciones en circunvoluciones frontales, indicando que las áreas enumeradas anteriormente probablemente se encuentran activas también durante la etapa de reposo.

En lo que respecta al grupo B, durante el ESTRÉS en comparación al REST, observamos activación de la ínsula y áreas frontales, y durante el CONTROL obtenemos activación del cíngulo anterior. No encontramos activaciones vinculadas al estrés en el contraste ESTRÉS>CONTROL, sugiriendo que los sujetos de este grupo podrían encontrarse estresados ya durante la etapa CONTROL.

Finalmente, para el grupo D no encontramos activaciones en áreas frontales, excepto el cíngulo medio en el contraste CONTROL>REST. Esta área está vinculada a los procesos emocionales, y ha sido asociada a fenómenos en los que se presenta algún tipo de incongruencia. Esta activación podría estar relacionada con la expectativa de resolver una ecuación difícil (como las presentadas durante el entrenamiento previo al comienzo del paradigma), y encontrarse con sumas fáciles (tales como las presentadas durante la tarea CONTROL). En el resto de los contrastes, no se observa ninguna activación significativa. Esta falta de activación durante la mayor parte del paradigma podría deberse a la patología de estos sujetos, descrita en las últimas décadas como un



estado de estrés crónico (Nemeroff y Tafet, 2016) en el que las variables estudiadas, tanto centrales como periféricas, presentan un funcionamiento exacerbado que impide responder a un evento estresante novedoso.

### 8.3. Correlato periférico central

Se realizaron regresiones entre tres de los contrastes grupales (ESTRÉS>REST, CONTROL>REST y POST>REST) y dos conjuntos de variables periféricas: RR y DA-mF (adquiridas durante las mismas condiciones mencionadas). Globalmente, observamos correlaciones negativas para la variable RR y correlaciones mayormente positivas para la variable DA-mF. Esto se debe a que el intervalo RR, como vimos anteriormente, disminuye ante situaciones de estrés, mientras que la frecuencia respiratoria aumenta.

Lo más destacado de este análisis fue la correlación negativa entre el hipocampo, la amígdala y otras regiones del sistema límbico en relación al RR durante el ESTRÉS, y parcialmente en la tarea CONTROL, tanto para el grupo C como el B. Mientras que el grupo D, en cambio, no muestra ninguna relación entre estos estímulos y el RR, denotando una vez más, una marcada diferencia en los registros de este grupo frente a los otros. La etapa POST sólo arrojó una correlación negativa con el hipocampo para el grupo C.

En relación con la variable DA-mF, encontramos mayormente correlaciones directas en áreas frontales durante el estrés para los tres grupos, y sólo en los grupos de pacientes durante la condición CONTROL. El grupo C, en este caso, presentó una relación inversa con la variable en la corteza temporal superior. La condición POST también mostró poca relación con las variables autonómicas en general, encontrándose nuevamente una correlación negativa para el grupo C, en este caso en la ínsula, y correlaciones positivas en la corteza temporal superior para los tres grupos.

De trabajos previos se sabe que el hipocampo y las áreas frontales en general, son áreas relacionadas tanto con la situación de estrés en sí misma, como con la memoria y la toma de decisiones. De hecho, el hipocampo ha sido descrito como un área fundamental de la respuesta al estrés en trabajos previos (Castro et al., 2008, 2009, 2015). Además,

forma parte, junto a otras regiones cerebrales, del sistema límbico, el cual modula la respuesta autonómica al estrés, por tener jerarquía superior. Por este motivo, podemos inferir que esta región tendría un importante rol en la regulación límbica de la respuesta cardíaca en relación al estrés. En cuanto a las áreas frontales, éstas tendrían una mayor influencia sobre la variable autonómica respiratoria. En particular, la corteza cingulada anterior ha sido relacionada con la modulación de la respuesta al estrés desencadenada por áreas temporales como el hipocampo. Cabe destacar la asociación de la variable RR con la amígdala, un área vinculada a las respuestas de miedo y estrés, como se comentó previamente. Es un área que forma también parte del sistema límbico, y esta asociación podría deberse a la modulación del RR, sobre todo al inicio del paradigma, en el que el sujeto se encuentra en una situación nueva, a la espera de una tarea compleja, dentro de un equipo que produce ruidos no habituales y estridentes.

Notamos en este análisis que el grupo D nuevamente se destaca por su falta general de respuesta. A pesar de que se asemeja al grupo control en algunas correlaciones, la falta de resultados en general de este grupo podría estar relacionada a la patología que presentan estos sujetos que, como se mencionó anteriormente, podrían estar mostrando un estado de estrés permanente que impediría responder de manera adecuada.

## **8.4. Conclusión general**

A lo largo de este trabajo se lograron filtrar y caracterizar diferentes señales del SNA, tanto periféricas como centrales, durante un paradigma de reposo y otro de inducción de estrés, para distintos grupos de sujetos: un grupo control, un grupo de pacientes con TLP, y un último grupo de pacientes con TDM.

Se lograron filtrar las señales autonómicas adquiridas, eliminando así el ruido introducido por los cambios de campo magnético. En particular, se recuperó satisfactoriamente la señal cardíaca, la cual se veía gravemente distorsionada por los campos presentes en el resonador.

En lo que respecta a las variables periféricas, se logró caracterizar la conductancia de la piel, la señal respiratoria, y la variabilidad de la frecuencia cardíaca frente al estrés mental aritmético. Se determinó la existencia de diferentes biomarcadores del estrés,

basados en la modificación de la dinámica de dichas variables en respuesta al éste: el aEDA en la respuesta cutánea; el RR, LF y HF, para la señal cardíaca; y los parámetros DA-mF y DA-aFFT, correspondientes a la señal respiratoria. Además, se realizó un análisis conjunto de la relación entre todas las variables, mediante herramientas de correlaciones cruzadas, diagramas de fase y transformadas de Hilbert. A partir de estas herramientas, se analizó el correlato entre parámetros periféricos y se obtuvo una nueva forma de clasificación de las variables, según condición (REST, CONTROL, ESTRÉS y POST) y grupo de sujetos, a partir de la existencia de zonas delimitadas (*clusters*). Adicionalmente, se logró cuantificar el acoplamiento cardiorrespiratorio a través del coeficiente  $\gamma$ , el cual probó ser también un biomarcador interesante a la hora de clasificar las señales periféricas, en función del grupo y de la condición a la que pertenecen. En particular, estos dos últimos análisis podrían cumplir la función de marcadores neurobiológicos de especificidad de las patologías neuropsiquiátricas, dadas las diferencias que presentan entre grupos.

Para el caso de las señales centrales, se logró caracterizar la actividad cerebral frente al estrés mental aritmético mediante la técnica de fMRI. Además, se logró determinar la dinámica de correlación entre las áreas cerebrales involucradas en el procesamiento del estímulo y algunos de los parámetros periféricos elegidos.

Los sujetos control (grupo C) presentaron una respuesta esperada frente a la condición ESTRÉS: la activación de áreas cerebrales vinculadas al estrés, proceso que se revierte luego de cesado el estímulo estresante. Por otro lado, los pacientes con TLP (grupo B), mostraron activación de áreas asociadas al estrés también en la etapa CONTROL. Esto, sumado a la falta de habituación, indicaría una posible falla en los mecanismos cerebrales de modulación. Finalmente, los pacientes con TDM (grupo D), presentaron una respuesta disminuida o nula al estrés, dado que no se detectan variaciones en la activación de las áreas mencionadas anteriormente. Como se observó previamente, esto podría ser consecuencia de un estado de permanente estrés o, por el contrario, que los pacientes del grupo D no hayan alcanzado el estado mental esperado, quizás debido a un escaso interés por el estudio, vinculado también a la patología de base.

Quedará para futuros estudios extender este análisis para una muestra de mayor número, para así mejorar y optimizar los valores estadísticos. También quedarían por evaluar otras relaciones entre activación cerebral y parámetros periféricos: por ejemplo,

---

estudiar si a mayor activación de un área específica asociada al estrés, se encuentra mayor (o menor) valor del parámetro autonómico. A largo plazo, también podrían extenderse estos estudios a otros paradigmas, de inducción o regulación emocional, y evaluar otros factores particulares, como podrían ser la atención puesta en la tarea o el nivel emocional (o de estrés) subjetivo experimentado por el individuo, con el objetivo de caracterizar con mayor detalle la respuesta al estrés. Más aún, sería interesante realizar esta investigación en grupos de personas en riesgo de desarrollar las patologías estudiadas, pero que aún no hayan desarrollado la enfermedad, a fin de determinar con mayor certeza la utilidad de los biomarcadores mencionados.

---

## BIBLIOGRAFIA

Álvarez R, Pereyra L. Registro de señales autonómicas periféricas del cuerpo humano dentro de un recinto magnético en función del estado emocional. Laboratorio 6 y 7. FCEyN, 2014.

Amaro E, Barker G (2005). Study design in fMRI: Basic principles. ELSEVIER, Brain and Cognition, in press.

Bär KJ, Boettger MK, Koschke M, Schulz S, Chokka P, Yeragani VK, Voss A (2007). Non-linear complexity measures of heart rate variability in acute schizophrenia. Clin Neurophysiol; 118(9): 2009-15.

Benedek M, Kaernbach C (2010). A continuous measure of phasic electrodermal activity. Journal of Neuroscience Methods; 190:80-91.

Benedek M. Kaernbach C (2010). Decomposition of skin conductance data by means of nonnegative deconvolution. Institut für Psychologie, Christian-Albrechts-Universität zu Kiel. Institut für Psychologie, Karl-Franzens-Universität Graz. Society for Psychophysiological Research, 2010, July, 647-658.

BIOPAC Manual: MP System Hardware Guide. BIOPAC Systems, Inc., 2012.

Cardinali D. *Manual de neurofisiología*. 9na edición. Buenos Aires. Soluciones Gráficas, 2005.

Castro MN, Vigo DE, Chu EM, Fahrer RD, de Achával D, Costanzo EY, Leiguarda RC, Nogués M, Cardinali DP, Guinjoan SM (2009). Heart rate variability response to mental arithmetic stress is abnormal in first-degree relatives of individuals with Schizophrenia. *Schizophr Res*; 109(1-3): 134-40.

Castro MN, Vigo DE, Weidema H, Fahrer RD, Chu EM, de Achával D, Nogués M, Leiguarda RC, Cardinali DP, Guinjoan SM (2008). Heart rate variability response to mental arithmetic stress in patients with schizophrenia Autonomic response to stress in schizophrenia. *Schizophr Res*; 99(1-3): 294-303.

Castro MN, Villarreal MF, Bolotinsky N, Papávero E, Goldschmidt M, Costanzo E, Drucaroff LJ, Wainsztein A, de Achával D, Pahissa J, Bär KJ, Nemeroff CB, Guinjoan SM (2015). Brain activation induced by psychological stress in patients with schizophrenia. *Schizophr Res*, in press.

Cysarz D, Büssing A (2005). Cardiorespiratory synchronization during Zen meditation. *Eur J Appl Physiol*; 95: 88-95.

Deschle N. Medición de señales eléctricas del ser humano indicadoras de estados emocionales, Laboratorio 6 y 7. FCEyN, 2013.

Figner B, Murphy R. Using skin conductance in judgment and decision making research. In Schulte-Mecklenbeck M, Kuehberger A, Ranyard R. A handbook of process tracing methods for decision research. New York: Psychology Press.

Friston KJ, Josephs O, Zarahn E, Holmes AP, Rouquette S, Poline J (2000). To smooth or not to smooth? Bias and efficiency in fMRI time-series analysis. *Neuroimage*; 12: 196-08.

Gallo J, Farbiarz J, Álvarez D (1999). Análisis espectral de la variabilidad de la frecuencia cardíaca. *IATREIA*; 12(2).

Huettel S, Song A. FUNCTIONAL Magnetic Resonance Imaging. 2da Edición. Sinauer Associates, Inc., 2009.

- Jhonsson P. (2007). Respiratory sinus arrhythmia as a function of state anxiety in healthy individuals". *International Journal of Psychophysiology*; 63: 48-54.
- Kamath M, Fallen E (1993); Power spectral analysis of heart rate variability: a noninvasive signature of cardiac autonomic function. *Crit Rev Biomed Eng*; 21: 245-311.
- Malliani A (1999). The Pattern of Sympathovagal Balance Explored in the Frequency Domain. *Physiology*; 14(3): 111-117.
- Nemeroff CB, Tafet GR (2016). The Links Between Stress and Depression: Psychoneuroendocrinological, Genetic, and Environmental Interactions. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci*; 28(2): 77-88.
- Norman G, Streiner D. *Biostatistics: The bare essentials*. B. C. Decker Inc., 1998.
- Park S (2009). Electrodermal activity, heart rate, respiration under emotional stimuli in schizophrenia. Hyecheon University. *International journal of advanced science and technology*; Vol 9, August, 2009.
- Raschke F. The respiratory system|Features of modulation and coordination. Haken H, Koepchen HP, eds. *Rhythms in Physiological Systems*. Berlin, 1991, pp. 155-164.
- Rautahariu P (1987). A hundred years of progress in electrocardiography. *Can J Cardiol*; 3(8):362-74
- SPM8 Manual, Wellcome Trust Centre for Neuroimaging, UCL.
- Stauss H.M (2003); Heart rate variability. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*; 285: R927-R931.
- Tailarach J, Tournoux P (1998). *Co-planar stereotaxic atlas of the human brain*. Nueva York: Thieme Medical Publishers.
- Tranchesi J. *Electrocardiograma normal y patológico*. 3ra edición. Editorial La Médica, 1973.



Vigo DE, Guinjoan SM, Scaramal M, Siri LN, Cardinali DP (2005). Wavelet transform shows age-related changes of heart rate variability within independent frequency components. *Auton Neurosci*; 123(1-2): 94-100.

Vigo DE, Nicola SL, Ladron De Guevara MS, Martinez-Martinez JA, Fahrer RD, Cardinali DP, Masoli O, Guinjoan SM (2004). Relation of depression to heart rate nonlinear dynamics in patients  $>$  or  $=60$  years of age with recent unstable angina pectoris or acute myocardial infarction. *Am J Cardiol*; 93: 756-760.

Widjaja D (2013). Cardiorespiratory dynamic response to mental stress: a multivariate time-frequency analysis. *Computational and Mathematical Methods in Medicine*.