



Instituto Tecnológico de Buenos Aires

Escuela de Ingeniería y Tecnología

Departamento de Ciencias de la Vida

**DETECCIÓN DE COMPLEJOS K Y SU ROL
EN LA CONSOLIDACIÓN DE LA MEMORIA
DECLARATIVA DURANTE EL SUEÑO**

Autoras:

Carosi, Julia (Leg. N°56183)

Vazquez Chenlo, Aylin Agatha (Leg. N°57210)

Tutores:

Dra. Forcato Cecilia

Dr. Ramele Rodrigo

PROYECTO FINAL DE CARRERA

Título de Bioingeniería

Buenos Aires, Argentina.

2021

Dedicado a
Adriana, Gabriel, Melanie,
Angeles, Sol, Juan Pablo, Cacha y Augusto
por ser nuestro sostén durante todos estos años.

RESUMEN

Los Complejos K (KC) son eventos presentes en el sueño de no Movimiento Ocular Rápido (NMOR), que poseen una dinámica celular similar a las ondas lentas pero tres componentes que los distinguen: onda positiva inicial (P200), onda negativa posterior (N500) y onda positiva final (P900). Pueden generarse de manera espontánea en redes corticales pero también pueden inducirse por estimulación cortical, talámica o sensorial.

El sueño tiene un rol fundamental en el proceso de *consolidación* de la memoria, favoreciendo la transferencia de nueva información del hipocampo hacia la neocorteza y su redistribución córtico-cortical. No existen trabajos que vinculen directamente a los KC con procesos de memoria; sin embargo, reactivaciones durante el sueño, con claves asociadas a información previamente adquirida, se inducen potenciales evocados similares a los KC.

En este Trabajo Final de Carrera proponemos que los KC median la comunicación hipocampo-cortical favoreciendo la consolidación de memoria declarativa a largo término. Para ello, se desarrolló de un algoritmo de detección automática de KC que contó con un método de pre-procesamiento que mejoró la relación señal-ruido con respecto a la metodología actual y con una interfaz para etiquetarlos manualmente. Se realizó un experimento, con dos grupos experimentales. Los participantes aprendieron pares de sílabas sin sentido en el día 1, a continuación la mitad de ellos durmió entre 9 a 23.5 min (n=11) mientras se realizó una polisomnografía y la otra mitad quedó despierto (n=11). Fueron evaluados a continuación y a los 7 días.

Se observó que el grupo sueño luego del aprendizaje mostró un aumento en la persistencia de la memoria comparado con el control. A su vez, el mejor rendimiento en la tarea está correlacionado con cambios en características del KC en la evaluación a corto término.

El algoritmo de detección contó con un algoritmo de localización y un clasificador que utiliza Aprendizaje Automático. Obtuvo un puntaje mayor al 90 % mediante 10 validaciones cruzadas y un valor de área bajo la curva ROC de 0.99. Se calcularon los niveles de especificidad (70.90 %), sensibilidad (86.43 %), Valor Predictivo Positivo (47.87 %) y Valor Predictivo Negativo (94.41 %). Se concluyó que puede ser un importante complemento para realizar etiquetado de KC durante la fase II del sueño.

Palabras clave – Aprendizaje Automático, Complejos K, Memoria, Sueño

AGRADECIMIENTOS

Quisiéramos hacer mención y agradecer a todos aquellos que contribuyeron en algún punto del presente Trabajo Final de Carrera.

En primer lugar a nuestros tutores, la **Dra. Cecilia Forcato** y el **Dr. Rodrigo Ramele** por todo el tiempo, dedicación y apoyo que nos brindaron continuamente para realizar este proyecto. En verdad creemos que formamos los 4 un hermoso grupo de trabajo del cual, no sólo nos llevamos grandes enseñanzas de dos grandes profesionales reconocidos en estas áreas, sino que también la posibilidad de haber conocido dos personas magníficas. Estamos muy contentas y agradecidas de haberlos cruzado en nuestro camino académico.

Al **Instituto Tecnológico de Buenos Aires (ITBA)** y su Departamento de Ciencias de la Vida por la posibilidad de llevar a cabo este trabajo. Al Director de nuestra carrera, **Dr. Fabricio Ballarini** y **Gabriela Palloti** por estar siempre disponible ante toda consulta que hemos tenido.

Al **Bioing.Federico Paschetta**, que además de haber sido un excelente profesor, también fue una pieza clave para guiarnos en el desarrollo de este trabajo. En especial queremos agradecerle por su compromiso y paciencia.

Agradecemos enormemente también a cada miembro del **Laboratorio de Sueño y Memoria** del ITBA ya que durante este año que participamos de sus reuniones y seminarios, aprendimos un montón sobre estos temas y porque ante cualquier requerimiento que teníamos, siempre estuvieron disponible. En especial queremos agradecer a la **Lic. Malen Moyano** por haber estado siempre disponible cuando necesitábamos una mano y a la **Lic. Giulia Carbonari** con quien co-creamos la interfaz gráfica “MIMIR”.

Por último, queremos agradecer a toda nuestra familia y amigos/as que nos acompañaron en todos estos años de carrera con mucha paciencia y siempre fueron nuestro sostén.

GLOSARIO

EEG: Electroencefalograma

EMG: Electromiograma

EOG: Electrooculograma

KC: Complejo K

MOR: Movimiento Ocular Rápido

NMOR: no-Movimiento Ocular Rápido

SNR: Relación señal-ruido

SVM: Support Vector Machine (máquina de vectores de soporte)

SOL: Sueño de Ondas Lentas

S1: Fase I del sueño NMOR.

S2: Fase II del sueño NMOR.

S3: Fase III del sueño NMOR.

S4: Fase IV del sueño NMOR.

ÍNDICE

1. Introducción	1
1.1. Marco teórico	1
1.1.1. Sueño	1
1.1.1.1. Etapas del sueño	1
1.1.1.2. Complejos K	3
1.1.2. Memoria	4
1.1.3. Sueño y Memoria	6
1.2. Objetivos	10
1.2.1. Objetivos Principales	10
1.2.2. Objetivos Específicos	10
1.3. Resultados Esperados	10
2. Materiales y métodos	12
2.1. Algoritmo de detección	12
2.1.1. Base de datos	13
2.1.2. Análisis y selección de los datos	15
2.1.2.1. Interfaz MIMIR (MNE based Interface to Mark, Isolate and Recognize)	15
2.1.2.2. Etiquetado manual de Complejos K	18
2.1.2.3. Análisis de los KC etiquetados	19
2.1.2.4. Set de datos “no-KC”	21
2.1.3. Pre-procesamiento de las señales	22
2.1.4. Clasificador	26
2.1.4.1. Escalamiento y alineamiento	27
2.1.4.2. Estandarización	28
2.1.4.3. Entrenamiento del modelo	28
2.1.5. Localización de candidatos	29
2.1.6. Etiquetado automático de KC	29
2.2. Experimentación	30
2.2.1. Sujetos experimentales	30

2.2.2. Procedimiento experimental	30
2.2.2.1. Test de escala de somnolencia de Stanford	32
2.2.3. Tarea	32
2.2.4. Entrenamiento	33
2.2.5. Evaluación día 1	35
2.2.6. Evaluación día 7	36
2.2.7. Tipos de error	36
2.2.8. Demo	36
2.2.9. Polisomnografía	36
2.2.10. Detección de Complejos K	39
2.2.11. Análisis estadístico	40
3. Resultados	45
3.1. Algoritmo de detección	45
3.1.1. Alto rendimiento del clasificador	45
3.2. Experimentación	47
3.2.1. Dormir una siesta corta aumenta la persistencia de la memoria	47
3.2.2. La disminución del error en blanco refleja la mejora en la persistencia de la memoria	49
3.2.3. Correlaciones entre los diferentes componentes del KC y el cambio en la memoria	50
3.2.4. Distribución del sueño	51
3.2.5. Escala de Sueño Stanford	52
3.3. Transfer Learning	52
4. Discusión	56
4.1. Algoritmo de apoyo para etiquetado manual de KC	56
4.2. Siestas cortas para disminuir la caída de memorias declarativas	57
4.3. ¿Onda lenta o Complejo K?	59
4.4. Limitaciones	60
5. Epílogo	61
Apéndice	67

1. Introducción

1.1. Marco teórico

1.1.1. Sueño

El sueño es un estado de reposo natural y reversible que, en comparación con el estado de vigilia, posee bajos niveles de actividad fisiológica y una menor respuesta ante estímulos externos [Vorster and Born, 2015].

El sueño cumple múltiples funciones en el organismo: optimiza el sistema inmunológico, restaura los tejidos, las reservas energéticas del cerebro, elimina subproductos tóxicos de la actividad de vigilia, y tiene una función principal en la plasticidad sináptica y procesos de memoria [Krueger et al., 2016, Siegel, 2005].

1.1.1.1 Etapas del sueño

En mamíferos, el sueño se caracteriza por la ocurrencia cíclica de sueño de movimientos oculares rápidos (MOR) y sueño no-MOR (NMOR) (Fig. 1.1 A). Este último, a su vez, se divide en sueño ligero (fases I y II) y sueño profundo o sueño de ondas lentas (SOL, fases III y IV) [Rechtschaffen and Kales, 1968]. En los seres humanos, la primera fracción de la noche (sueño temprano) se caracteriza por altas cantidades de SOL, mientras que en la segunda fracción de la noche (sueño tardío), prevalece el sueño MOR (Fig. 1.1 A) [Diekelmann and Born, 2010]. El sueño NMOR y MOR son caracterizados por patrones específicos de la actividad oscilatoria del potencial de campo eléctrico y por la actividad neuromodulatoria del cerebro. Durante el NMOR, las oscilaciones más prominentes del potencial de campo son las ondas lentas (SO), los Complejos K (KC), los husos de sueño y las ondas rápidas hipocampales “*sharp wave-ripples*”; mientras que el sueño MOR se caracteriza por presentar en mayor medida ondas ponto-geniculo occipitales (PGO) y actividad theta (Fig. 1.1 B) [Diekelmann et al., 2012].

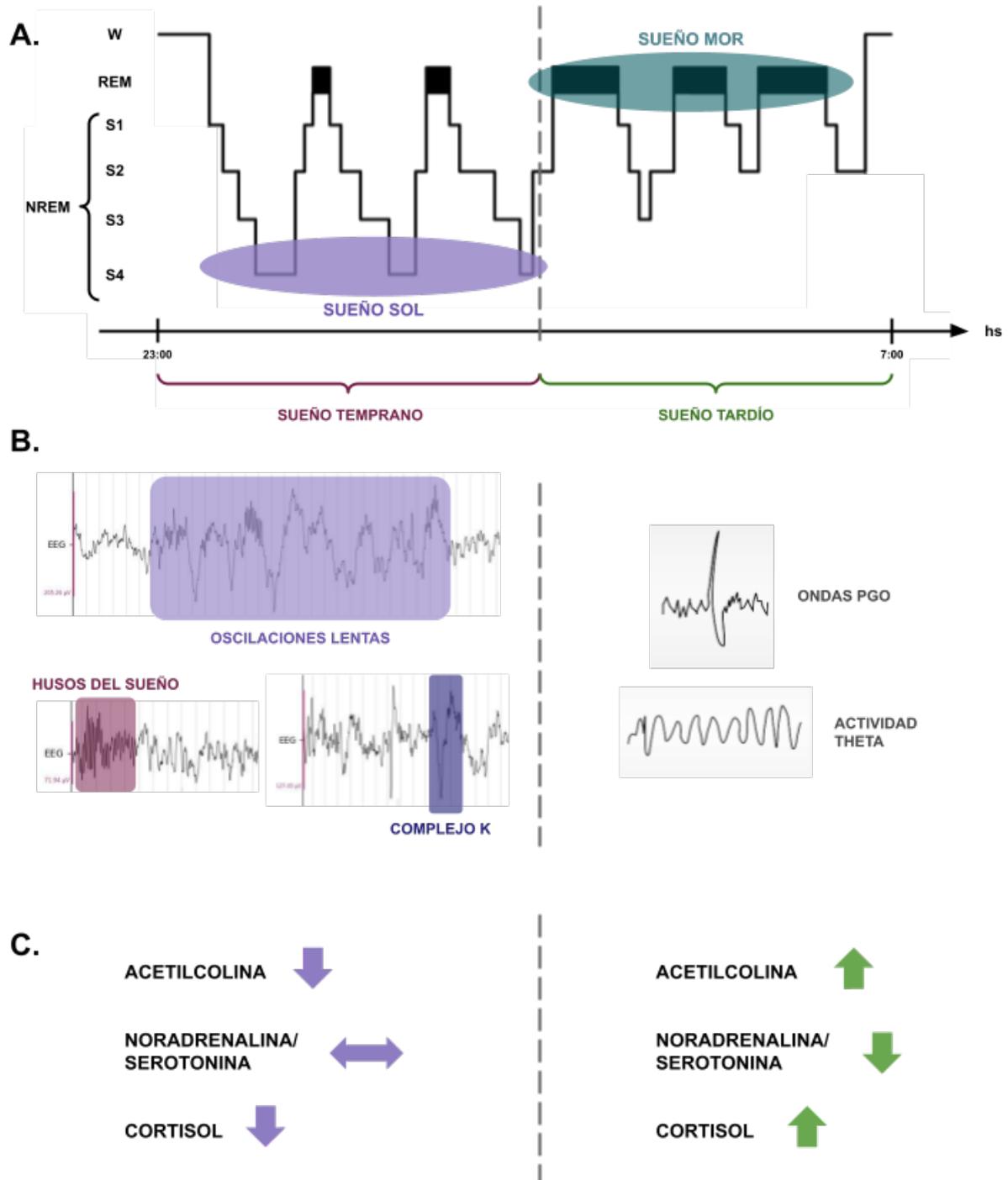


Figura 1.1: Arquitectura del sueño y características neurofisiológicas de las distintas etapas del sueño. **A.** Hipnograma humano típico con las distintas fases y etapas según el método de Rechtschaffen and Kales [1968]. El SOL prevalece durante la primera mitad (sueño temprano) y el sueño MOR prevalece durante la segunda mitad (sueño tardío). **B.** El sueño NMOR y MOR se caracterizan por patrones específicos de oscilaciones de potencial de campo eléctrico y **C.** por su actividad neuromodulatoria. *Adaptado de [Diekelmann and Born, 2010].*

En humanos, las oscilaciones lentas se originan en la neocorteza con una frecuencia promedio de aproximadamente $0,8Hz$ [Achermann and Borbely, 1997, Mölle et al.]. Sincronizan la actividad neuronal en estados descendentes de hiperpolarización generalizada y silencio neuronal y estados ascendentes posteriores, que se asocian con la despolarización y la activación neuronal [Diekelmann and Born, 2010].

Los husos de sueño rápidos son oscilaciones electroencefalográficas regulares de entre 12 y $15Hz$, que se observan en la fase II, III y IV del sueño NMOR como ondas discretas que crecen y menguan, pero están presentes en un nivel similar durante SOL [Gennarof and Ferrara, 2003]. Se originan en el tálamo a partir de una interacción entre las neuronas GABAérgicas del núcleo reticular, que funcionan como marcapasos, y las proyecciones glutamatérgicas tálamocorticales que median su propagación sincronizada y generalizada a las regiones corticales [Diekelmann and Born, 2010].

Las ondas agudas (*sharp-waves*) hipocampales son eventos de despolarización rápida originados en el área CA3, sobre los cuales se superponen oscilaciones rápidas hipocampales (*ripples* $60-80Hz$) originadas por una interacción entre las interneuronas inhibitoras y las células piramidales en CA1 [Diekelmann and Born, 2010].

1.1.1.2 Complejos K

Los Complejos K (KC) son eventos que aparecen con una frecuencia menor a $1Hz$ (principalmente $0.6-0.9Hz$), exceden los $0,5$ segundos de duración y su amplitud es mayor a $75\mu V$ [Manzar et al., 2016].

Tienen una dinámica celular similar a las ondas lentas y en cuanto a su morfología y origen, se lo puede dividir en tres componentes; una onda positiva inicial *P200*, una onda negativa posterior *N500*, y finaliza con una onda positiva *P900* (ver Figura 1.2). Las características de estos componentes son:

1. **P200:** Primer pico positivo (el cual puede estar presente o no presente) se produce alrededor de los $200\ ms$ del comienzo del KC. Este pico es causado por la excitación sincrónica de las neuronas corticales [Forget et al., 2011].
2. **N500:** Pico negativo el cual se genera alrededor de los $500\ ms$ del comienzo del KC. El mismo representa una hiperpolarización neuronal pronunciada [Born and

Wilhelm, 2012].

3. **P900:** Pico positivo el cual se genera alrededor de los 900 *ms* del comienzo del KC. Representa la fase de despolarización [Cash et al., 2009].

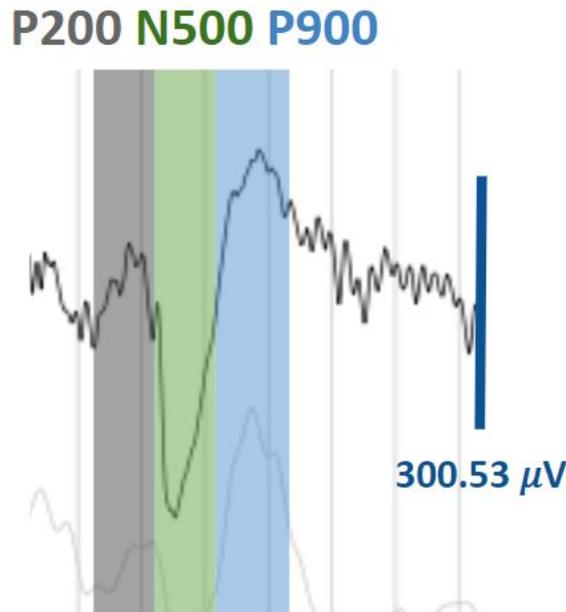


Figura 1.2: Complejo K y sus etapas que lo caracterizan: P200, N500 y P900.

El Complejo K es principalmente un evento espontáneo generado en redes corticales pero también puede ocurrir de manera evocada por estimulación cortical, talámica o sensorial [Amzica and Steriade, 2002] en las fases II, III y IV del sueño NMOR [Laurino and Gemignani, 2014].

1.1.2. Memoria

En neurociencias se define a la memoria como una representación interna de información adquirida a través del aprendizaje, codificada espacio-temporalmente en circuitos neuronales por medio de cambios graduales en las propiedades reactivas de las neuronas y en las conexiones entre ellas, que guían el comportamiento [Kandel and Squire, 2000].

Según su duración en el tiempo, las memorias pueden clasificarse como: memorias de corto plazo (duración de segundos a minutos) y memorias de largo plazo (duración de horas, meses e incluso toda la vida) [Kandel and Squire, 2000]. Las memorias de largo plazo, a su vez, pueden clasificarse en memorias declarativas y memorias no declarativas

[Squire and Zola-Morgan, 1991]. Las *memorias declarativas* son representaciones internas de hechos y episodios que son accesibles a la recolección consciente [Dudai, 2004] y dependen principalmente de la participación del hipocampo y estructuras adyacentes al lóbulo temporal medio [Squire and Zola., 1996]. Por otra parte, las *memorias no declarativas* no requieren de una recolección consciente y son independientes del hipocampo [Dudai, 2004]. Sin embargo, en los últimos años esta clasificación está siendo puesta en duda ya que memorias con contenido declarativo pueden ser adquiridas de forma subliminal y evocadas de forma flexible [Duss et al., 2014, Henke, 2010, Reber et al., 2014, Wuethrich et al., 2018] y a su vez memorias motoras depender de la actividad del hipocampo [Jacobacci et al., 2020].

A su vez, las memorias declarativas se dividen en memorias semánticas y episódicas. La *memoria semántica* se refiere al conocimiento de conceptos, de sus relaciones, de las reglas para su uso, así como al conocimiento general acerca del mundo cuando tal conocimiento no está ligado al contexto espacio-temporal de su adquisición [Bonilla et al., 2020]. Por otro lado, la *memoria episódica* contiene información de acontecimientos contextuados, acotados espacial y temporalmente [Tulving, 1972].

Subprocesos de memoria

La memoria puede ser dividida en diferentes fases, entre las que se encuentran la adquisición, la consolidación, la evocación y la reconsolidación [Dudai, 2004]. La *adquisición* representa el nacimiento de la memoria y refiere a la codificación de información en circuitos neuronales. Luego, la memoria atraviesa un período de labilidad, en la cual es susceptible a la acción de agentes amnésicos o facilitadores, seguido por un proceso de estabilización conocido como *consolidación*. Este subproceso consiste en el pasaje de la información desde un estado lábil a uno estable, lo cual representa el almacenamiento de la información. Este subproceso depende de la síntesis proteica y de la expresión génica [Dudai and Morris, 2000]. La *evocación* implica la recuperación de la información previamente almacenada. Hasta no hace mucho tiempo, se consideraba que una vez consolidada la memoria, esta no podía ser modificada. Sin embargo, se observó que al inducir una reactivación de la memoria a través de la presentación de un recordatorio, la misma puede volver a un estado de labilidad seguido de un proceso de reestabilización conocido como *reconsolidación*, el cual depende de síntesis proteica y expresión génica [Nader et al., 2000]. Por otro lado, durante el sueño, ocurren reactivaciones espontáneas de la memoria que favorecen la

consolidación de la misma [Born and Wilhelm, 2012].

1.1.3. Sueño y Memoria

El sueño cumple un rol fundamental en el aprendizaje y en la formación y modificación de memorias [Born et al., 2006]. Durante la vigilia, estamos expuestos constantemente a estímulos y nueva información percibida del entorno que nos rodea. Esta información es codificada tanto en el hipocampo como en áreas primarias y de asociación de la neocorteza. La *hipótesis de la consolidación activa de la memoria durante el sueño* plantea que estas dos áreas se comportan como dos centros de almacenamiento de información. Al *hipocampo* se lo considera un centro de aprendizaje rápido, que sirve como un búfer intermedio que almacena la información temporalmente. Por otro lado, la *neocorteza* permite aprender más lentamente, pero almacena la información a largo plazo [Diekelmann and Born, 2010] (Fig. 1.3). Esta hipótesis propone que durante el SOL, la información recientemente adquirida, principalmente aquella relevante para el futuro, se reactiva espontáneamente en el hipocampo, transfiriéndose hacia la neocorteza y redistribuyéndose en circuitos cortico-corticales, favoreciendo así su consolidación a largo plazo [Rasch and Born, 2013]. Así, las ondas lentas orquestarían el diálogo hipocampo-cortical, impulsando la reactivación de la memoria en el hipocampo a través de los complejos de ondas agudas hipocampales (*Sharp Wave-Ripples*), junto con los husos de sueño tálamo-corticales, que participan en la inducción cambios plásticos duraderos en las áreas corticales [Rasch and Born, 2013].

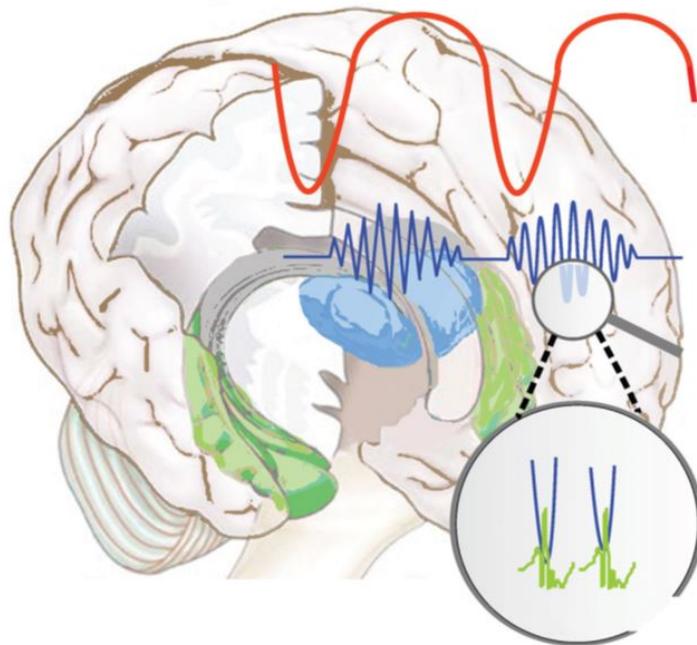


Figura 1.3: Modelo del sistema de consolidación de la memoria. El proceso de consolidación se basa en el diálogo entre la neocórtex y el hipocampo, controlado por oscilaciones lentas corticales (rojo). Las fases ascendentes de la despolarización de la onda lenta, impulsan a la reactivación de las memorias provenientes de hipocampo junto con las ondas rápidas (verde) y los husos tálamo-corticales (azul) [Born and Wilhelm, 2012]

Los mecanismos celulares de la generación de la onda lenta no están aún comprendidos en su totalidad. Se sabe que el estado de despolarización de la onda refleja cierto equilibrio entre la actividad neuronal excitadora e inhibidora, mientras que el estado descendente de hiperpolarización no está mediado por eventos GABAérgicos, si no que representa un período de disminución o cese de la entrada sináptica excitatoria. [Rasch and Born, 2013].

Las ondas lentas generan un efecto beneficioso en la consolidación de las memorias declarativas (dependientes de hipocampo). Tanto un aumento en el número como en la potencia de las mismas, se correlaciona positivamente con la mejora en la memoria al despertar. En las investigaciones de Born and Wilhelm [2012] y Mölle et al. [2004] observaron luego del aprendizaje de pares de palabras asociados, un aumento de la amplitud de la despolarización de la onda lenta en las regiones frontales.

Se ha observado que períodos de sueño posteriores a la adquisición de nueva información o posteriores a la reactivación de la memoria en vigilia, favorecen tanto la consolidación como la reconsolidación [Born et al., 2006, Ellenbogen et al., 2009, Klinzing et al., 2016, Moyano

et al., 2019, Rasch et al., 2007]. Incluso, siestas de 6 min demostraron ser suficientes para mejorar la memoria [Lahl et al., 2008]. Si bien la implementación de siestas cortas tendría un impacto fundamental en el sistema educativo dado que las mismas podrían ser aplicadas dentro de los establecimientos, hace falta sumar mayor evidencia para determinar tanto su efectividad como los posibles mecanismos implicados en la mejora de la memoria durante períodos cortos de sueño.

Cabe destacar que las siestas cortas (~ 10 min) no poseen sueño profundo y principalmente están compuesta de fase II de sueño NMOR. Durante esta fase, predominan los KC y los husos de sueño [Rechtschaffen and Kales, 1968]. Es importante destacar que, a diferencia de las ondas lentas de origen cortical intrínseco, los KC pueden reclutar de manera casi sincrónica, poblaciones neuronales lejanas que no dependen de conexiones corticales [Riedner and Tononi, 2007]. Esto podría asociarse a una mejora en la transferencia de información del hipocampo a la corteza, lo que provocaría una mejora en la consolidación de estas memorias. Por otro lado, se ha demostrado que los KC no solo ocurren de manera espontánea sino que pueden ser inducidos [Laurino and Gemignani, 2014]. Más aún, es posible inducir estos complejos con claves asociadas a la información previamente adquirida [Forcato et al., 2020]. Es decir, estos recordatorios (claves) inducen un potencial evocado similar a un KC, siendo la reactivación guiada por éstos la que produce una mejora en la consolidación de la memoria durante el sueño [Moyano et al., 2019]. A su vez, en todos los trabajos que vinculan a las ondas lentas ($0.5-1$ Hz) o a la actividad oscilatoria lenta ($0.5-4$ Hz) en procesos de memoria, tanto para el cálculo de la potencia así como los algoritmos que detectan las ondas lentas, no se diferencian a los KC de las ondas lentas [Bernardi et al., 2008, Forcato et al., 2020, Rasch and Born, 2013]. Por lo tanto, los KC podrían estar participando activamente en el proceso de consolidación de la memoria durante el sueño y sin embargo al no ser diferenciados de las ondas lentas, no estarían siendo tomados en cuenta como posible evento facilitador del diálogo hipocampo-cortical.

Nosotros hipotetizamos que los KC son los eventos principales en la transferencia de información entre el hipocampo y la corteza, ya sea a través de reactivaciones espontánea de la información adquirida o inducidas con claves asociadas al aprendizaje inicial.

El presente Trabajo Final de Carrera se dividió en dos partes principales: en el diseño de un algoritmo para clasificar y localizar KC, y en una parte experimental que involucró la

utilización de dichos algoritmos en el estudio del rol de los KC en la consolidación de la memoria declarativa. Para esta última parte, los participantes aprendieron una tarea de pares de sílabas asociadas, a continuación durmieron una siesta de 20 min mientras se les realizó una polisomnografía o permanecieron despiertos. Fueron evaluados al despertar o una vez transcurrido los 20 min en vigilia (día 1) y reevaluados a los 7 días.

1.2. Objetivos

1.2.1. Objetivos Principales

- Estudiar el rol de los Complejos K en la consolidación de la memoria declarativa durante el sueño.
- Desarrollar un algoritmo de detección automática de Complejos K durante la fase II del sueño.

1.2.2. Objetivos Específicos

- Desarrollar una interfaz gráfica para etiquetar señales de forma manual.
- Etiquetar registros del sueño.
- Desarrollar un método alternativo de pre-procesamiento de la señal que mejore su relación señal-ruido.
- Estudiar la eficacia de siestas cortas en la mejora de la consolidación de la memoria declarativa.
- Estudiar la relación entre las características de los componentes de los Complejos K con la consolidación de la memoria declarativa.

1.3. Resultados Esperados

- Se espera que las siestas cortas favorezcan la consolidación de la memoria a largo término (día 7) comparado contra el grupo control, pero no a corto término (día 1) dado que bajo este paradigma se genera una memoria fuerte y al ser evaluada cerca del momento de la adquisición podría observarse un efecto techo. Sin embargo, bajo este paradigma la memoria cae a día 7 si no recibe ningún tratamiento reforzador [Forcato et al., 2013].
- Al igual que trabajos previos, se espera que la mejora en la consolidación a largo término (aumento en la persistencia) producida por el sueño se vea reflejada en una reducción en los errores en blanco [Forcato et al., 2013].

-
- Se espera que las características relacionadas con el componente P900 del KC correlacionen positivamente con la mejora en la memoria, dado que el estado ascendente se asocia con la despolarización y el incremento en la actividad neuronal, similar a períodos de vigilia, que podrían mediar procesos de aumento de la fuerza sináptica y así participar de los procesos de reforzamiento de la memoria.

2. Materiales y métodos

2.1. Algoritmo de detección

Se tuvo acceso a una base de datos de polisomnografías de 13 sujetos publicada en Forcato et al. [2020]. Para poder analizar estas señales, primero se desarrolló una interfaz conveniente para visualizar estos datos y etiquetar manualmente a los KC. Se procedió a etiquetar los KC de 8 sujetos de manera manual y luego se creó un algoritmo de pre-procesamiento de estas señales. Este algoritmo aplica una serie de filtros a través de ventanas móviles *back-forward* de 5 segundos, en donde el solapamiento se realiza a través de la asignación de pesos a cada ventana como “rampas inversas”. Este pre-procesamiento tuvo como objetivo eliminar aquellas frecuencias que no fueron relevantes para este trabajo. Con los KC etiquetados, se entrenó un algoritmo de Aprendizaje Automático para poder clasificar de manera binaria señales e identificar si eran o no KC. Con estas etiquetas, también se calcularon parámetros propios de la morfología de los KC que sirvieron para realizar el algoritmo de localización. El algoritmo de localización encuentra posibles candidatos que, al ser ingresados al clasificador, se determina si hay un KC en ese punto y su ubicación espacial (Fig. 2.1).

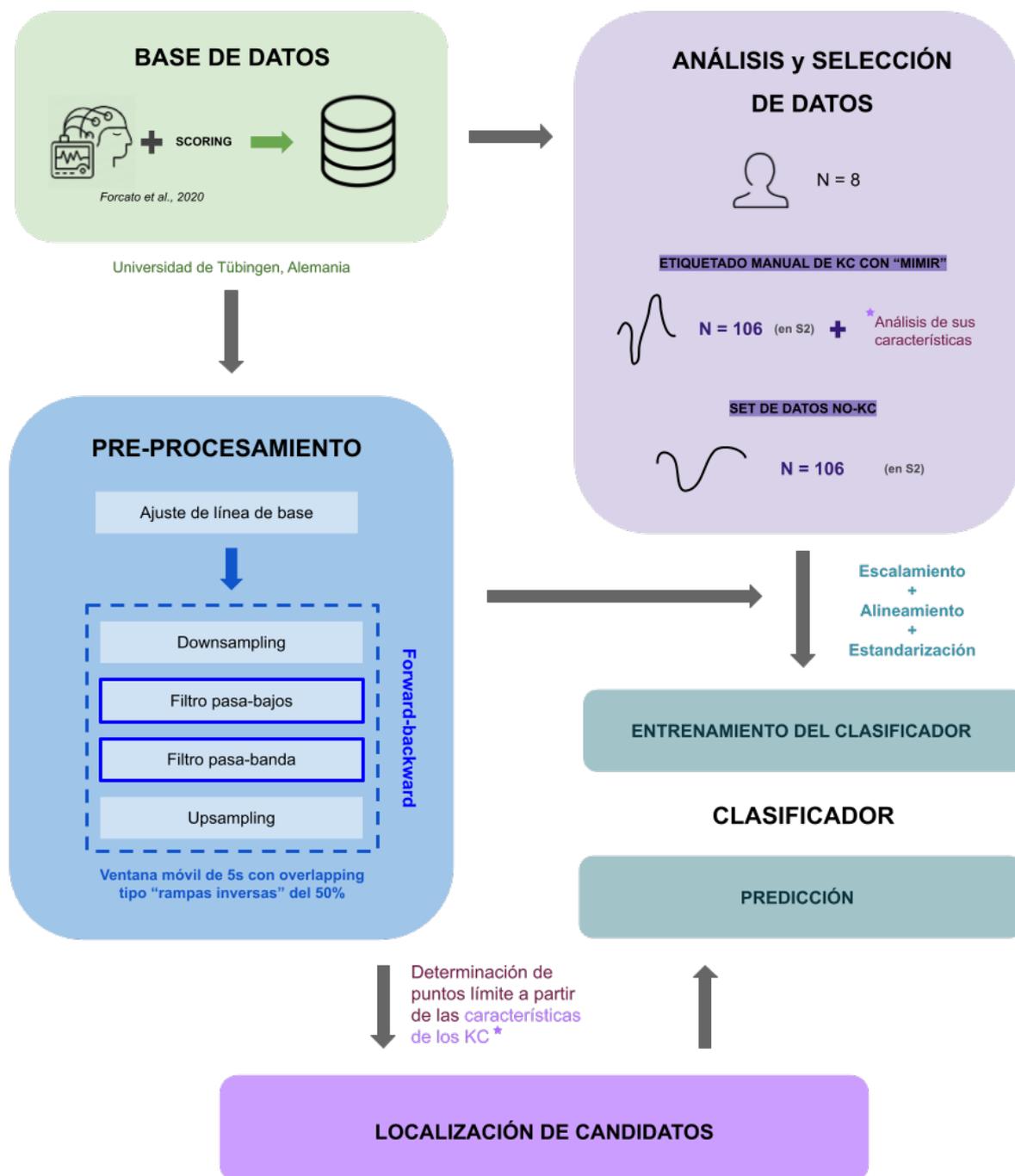


Figura 2.1: Diagrama que resume el algoritmo completo diseñado en este trabajo para la detección y localización de KC en la fase II del sueño NMOR.

2.1.1. Base de datos

Para el desarrollo del algoritmo de detección se utilizó el *set* de datos creado por Forcato et al. [2020].

Polisomnografía

Forcato et al. [2020] obtuvieron registros polisomnográficos estándar incluyendo, registros electroencefalográficos (EEG), electromiográficos (EMG) y electrooculográficos (EOG) con un sistema de EEG BrainAmp (Brain Products, Munich, Alemania). El EEG se registró a partir de seis electrodos del cuero cabelludo (F3, F4, C3, C4, P3 y P4 de acuerdo con el Sistema Internacional 10-20; Fig. 2.2) y dos electrodos en los mastoideos izquierdo y derecho que sirven como referencia combinada. Los datos se registraron a una frecuencia de muestreo de 200 Hz y se filtraron mediante un filtro pasa-banda con frecuencias de corte en 0.16 y 35 Hz. El EOG se registro a partir del EOG izquierdo (EOGi) y EOG derecho (EOGd) colocados en las zonas perbioculares respectivas. El EMG se registró a partir del EMG izquierdo (EMGi) y EMG derecho (EMGd) colocados a los respectivos lados de la mandíbula.

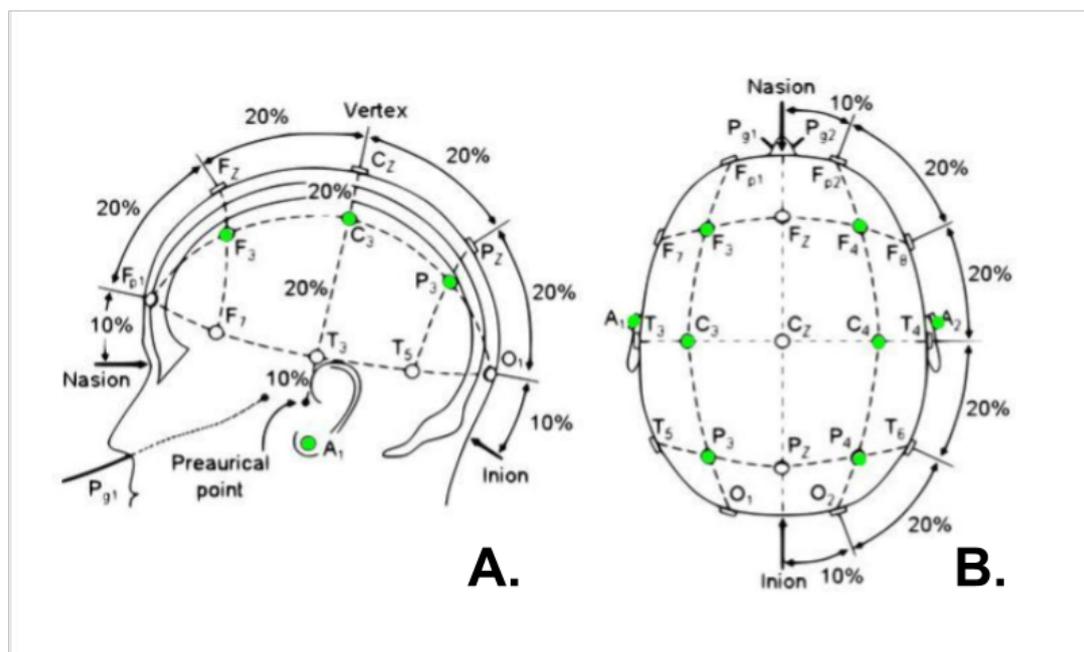


Figura 2.2: Posición de los electrodos según el Sistema Internacional 10-20. **A.** Vista lateral izquierda. **B.** Vista superior. Las letras señalan el área donde se coloca el respectivo electrodo (Fp, prefrontal; F, frontal; C, central; P, parietal; T, temporal y O, occipital). Los números designan el hemisferio (pares del derecho, impares del izquierdo) y los electrodos de la línea media se señalan con una “z” ; por lo cual Fz se encuentra frontalmente en la línea media. En verde se resaltan los electrodos que fueron colocados en la experimentación realizada en este trabajo [Sepulveda et al., 2015].

Los expertos realizaron un *scoring* manual offline de los registros según los criterios

estándar [Rechtschaffen and Kales, 1968] mediante el software *Schlafaus* (Steffen Gais). Puntuaron a épocas de 30 segundos como fases de sueño I, II, III, IV, MOR, Vigilia o artefacto de movimiento (MT).

2.1.2. Análisis y selección de los datos

El análisis de los datos se realizó sobre el lenguaje Python 3.7 utilizando como base la librería MNE [Gramfort et al., 2013], así como también otras librerías de código abierto de análisis de datos mediante procedimientos de Aprendizaje Automático y procesamiento de señales [Charles et al., 2020].

Se utilizó como editor del código fuente a *Visual Studio Code* debido a su sencillez y las distintas funcionalidades con las que cuenta que permiten trabajar en conjunto y correr comandos de *Git* fácilmente. Esto nos permitió crear un proyecto en paralelo en el que ambas pudimos participar, ensamblar los códigos generados sin ningún problema y también tener un control en las versiones del código.

2.1.2.1 Interfaz MIMIR (MNE based Interface to Mark, Isolate and Recognize)

El desarrollo se basó en extender la funcionalidad de visualización la librería MNE. Esta librería de código abierto para explorar, visualizar y analizar datos neurofisiológicos humanos, cuenta con atributos, funciones y clases que fueron adaptadas y refactorizadas para poder analizar la base de datos con registros polisomnográficos. Específicamente, MNE cuenta con una clase denominada *Raw*, dentro de su módulo *io*, que permite graficar señales a través de la clase **Figure** perteneciente a la librería *Matplotlib*. Además, MNE cuenta con atributos y métodos convenientes para que la interfaz realice ciertas funcionalidades para el desarrollo de este trabajo: visualización de señales, diferenciación entre las distintas épocas según el *scoring* realizado y el etiquetado manual de Complejos K.

Visualización de los canales de polisomnografía

Se decidió trabajar sobre los canales C3 y C4 del EEG. Para visualizar la menor cantidad de canales posibles, y así mejorar la experiencia de usuario al utilizar la interfaz, se decidió

referenciar entre sí a las señales de EMG y EOG. De esta manera, se restaba cada señal obtenida por cada EMG y por otro lado por cada EOG para obtener dos únicos canales. Además de estos 4 canales (C3, C4, EMG y EOG), se decidió agregar un quinto canal sintético en el que se trace un pulso de ancho de $0.5s$ y 50% de duty cycle para simular una grilla en el fondo de la interfaz e indique el transcurso del tiempo cada $0.5s$. Esto permite ubicar correctamente espacio-temporalmente a las señales. También se agregó un sexto canal sintético auxiliar para visualizar distintos resultados en los próximos pasos

Diferenciación de las fases del sueño

El dataset en análisis contiene adicionalmente archivos con el *scoring* realizado mediante la herramienta *SchlafAus* para cada sujeto. Estos archivos detallaban cada época de 30 segundos y su respectiva fase del sueño asignada. Por ende, se creó un algoritmo que pueda leer este tipo de archivos y que colorea el fondo de la interfaz según la fase con la que se puntuó cada época. Cuando un sujeto alcanza las 4 fases de sueño NMOR, en la interfaz se pueden observar el fondo de los canales coloreado de la siguiente manera: vigilia en azul (Fig.2.3 A), fase I en naranja (Fig.2.3 B), fase II en verde (Fig.2.3 C), fase III en rosado (Fig.2.3 D) y fase IV en violeta (Fig.2.3 E).

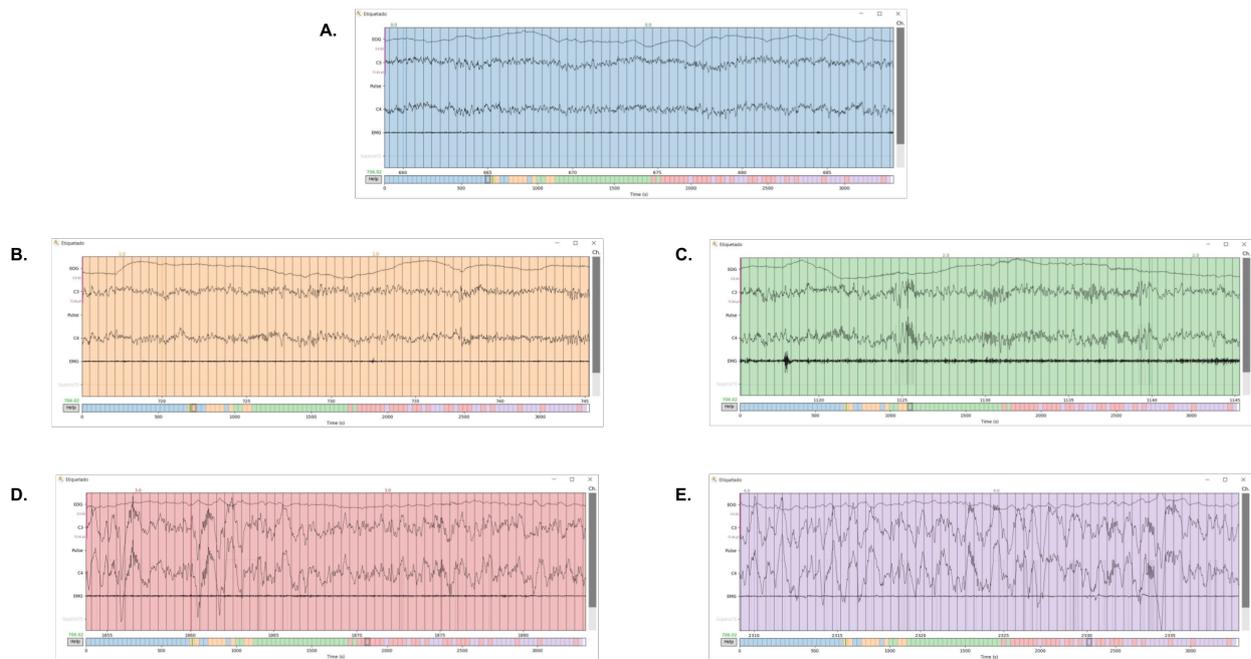


Figura 2.3: Interfaz gráfica “MIMIR” desarrollada. **A.** Señal de EEG en vigilia. **B.** Señal de EEG en fase I. **C.** Señal de EEG en fase II. **D.** Señal de EEG en III. **E.** Señal de EEG en IV.

Algoritmo para etiquetar manualmente los Complejos K

Los Complejos K tienen ciertas características morfológicas específicas. Conforme a su amplitud pico a pico, que debe ser mayor o igual a $75 \mu\text{V}$ y su duración total, que debe exceder los 0.5 segundos. Por ende, con el fin de ayudar al etiquetado manual de los mismos, se desarrolló un algoritmo adicional que identifica cuando sucedan estas dos condiciones. Esto se visualiza en el canal auxiliar, nombrado como “Supera 75”. En específico, se decidió que este canal esté justamente debajo del canal C4 ya que es el utilizado para realizar el etiquetado de los KC.

Para visualizar dicho canal, se realizó una ventana móvil de duración de 0.5 s, 1 s y 2 s en cada iteración. Dentro de esta ventana, se calcula la diferencia entre el máximo y el mínimo de la señal. Si esta diferencia supera los $75 \mu\text{V}$, se grafica un pulso en cada una de esas posiciones; un pulso negativo en el mínimo y un pulso positivo en el máximo. El valor absoluto de la amplitud de cada par de pulsos, dependerá de la duración de la ventana. Si la ventana es de 0.5 s de duración, el pulso es equivalente a $75 \mu\text{V}$, si la ventana es de 1 s de duración $50 \mu\text{V}$ y si es de 2 s, equivale a $25 \mu\text{V}$ (Fig. 2.4).

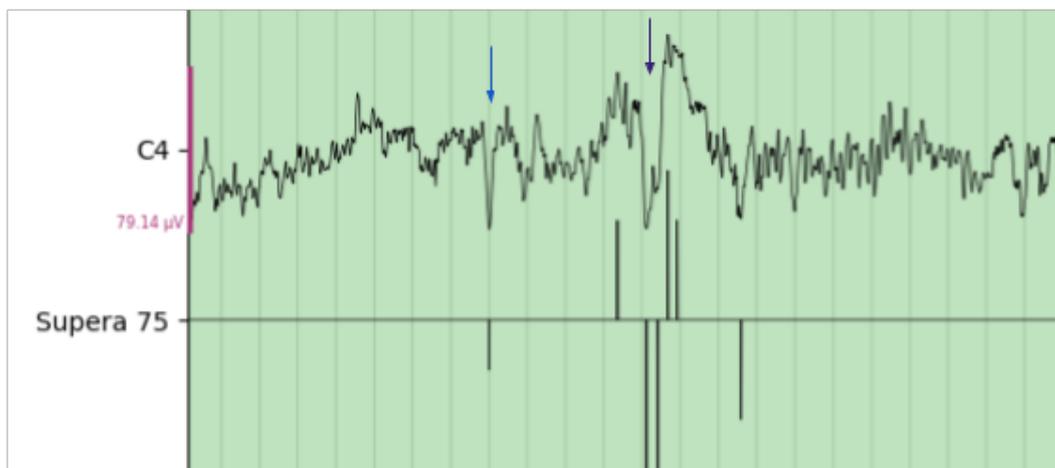


Figura 2.4: Imagen obtenida con el software de visualización “MIMIR” utilizando el algoritmo “Supera 75” para el correcto etiquetado de los KC. Donde se colocó una **flecha azul** se puede observar que hay un evento con morfología similar a un KC pero no supera los $75 \mu\text{V}$ de amplitud pico a pico, por ende no se etiquetó ese evento. Por otro lado, en la **flecha violeta** sí hay un evento que supere los $75 \mu\text{V}$ de amplitud pico a pico, por ende podría considerarse que ese evento es un KC.

2.1.2.2 Etiquetado manual de Complejos K

Se realizó el etiquetado manual de los KC en fase II de 8 sujetos, utilizando la interfaz gráfica creada, tomando como base para el etiquetado al canal C4 del EEG (Fig. 2.5). Es importante destacar que la utilización de la interfaz “MIMIR”, del algoritmo “Supera 75” y de la simulación de la grilla de 0.5 segundos, facilitaron que se realice de manera correcta este procedimiento.

El etiquetado fue realizado por una persona y luego revisado por otra, a modo de verificar la presencia del KC en la etiqueta, corregir aquellos que fueron mal detectados y agregar si alguno fue pasado por alto.

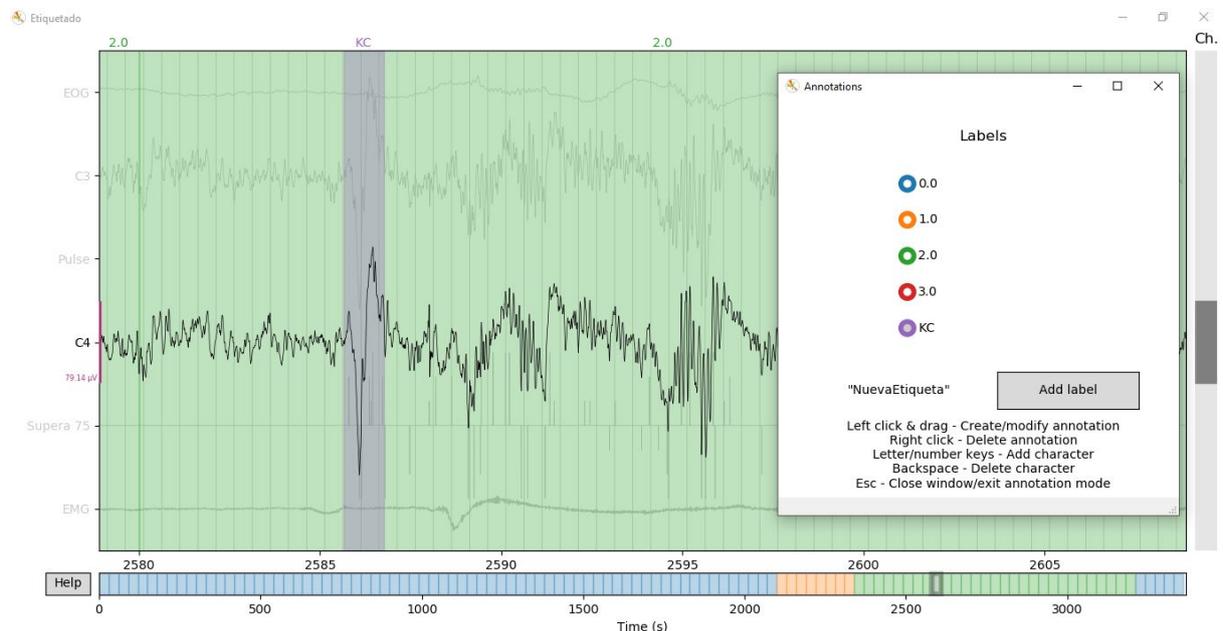


Figura 2.5: Etiquetado manual de Complejos K mediante la interfaz gráfica “MIMIR”. Se puede observar a la derecha la ventana “Annotations” en donde se pueden agregar las etiquetas que se crean necesarias; en este caso se agregó la etiqueta ‘KC’ para hacer el etiquetado del KC que se visualiza en la pantalla.

Se etiquetaron en total 106 KC en fase II entre los 8 sujetos (Tabla 2.1).

<i>Sujeto</i>	<i>Cantidad de KC etiquetados</i>
S11	9
S12	14
S17	16
S21	20
S28	7
S36	26
S37	2
S40	12

Tabla 2.1: Complejos K etiquetados manualmente

Este etiquetado manual de KC permite crear una base de datos de entrenamiento para un clasificador que utilice algoritmos de Aprendizaje Automático, para detectar automáticamente la presencia de los KC y así optimizar el tiempo que le lleva a un experimentador realizarlo de manera manual.

Nuestro criterio al realizar el etiquetado manual de Complejos K consistió en que su comienzo y fin, en lo posible sea en $0\mu V$. Se buscó abarcar los tres componentes del Complejo K (P200, N500 y P900), de no existir el P200, se comenzó desde el inicio del N500 en el anterior cruce por cero al mínimo supremo. La finalización del etiquetado se realizó en el primer cruce por cero después del máximo supremo, excepto que esto no suceda por la superposición de otra onda; en este caso se realizó hasta la finalización de esa superposición con la otra onda.

2.1.2.3 Análisis de los KC etiquetados

Se realizó un breve análisis de las principales características de los KC etiquetados según su morfología (Fig. 2.6): máximo supremo, mínimo supremo, máximo local, amplitud pico a pico, duración total del KC y las 3 pendientes definidas por los 3 picos (pendiente 1, pendiente 2 y pendiente 3; Tabla.2.2). Cabe aclarar que para evitar confusiones, se tomaron en cuenta los valores absolutos de las pendientes. Para el cálculo de estas características, se utilizaron los valores registrados de la señal de EEG, previamente referenciados a dos electrodos en los mastoides.

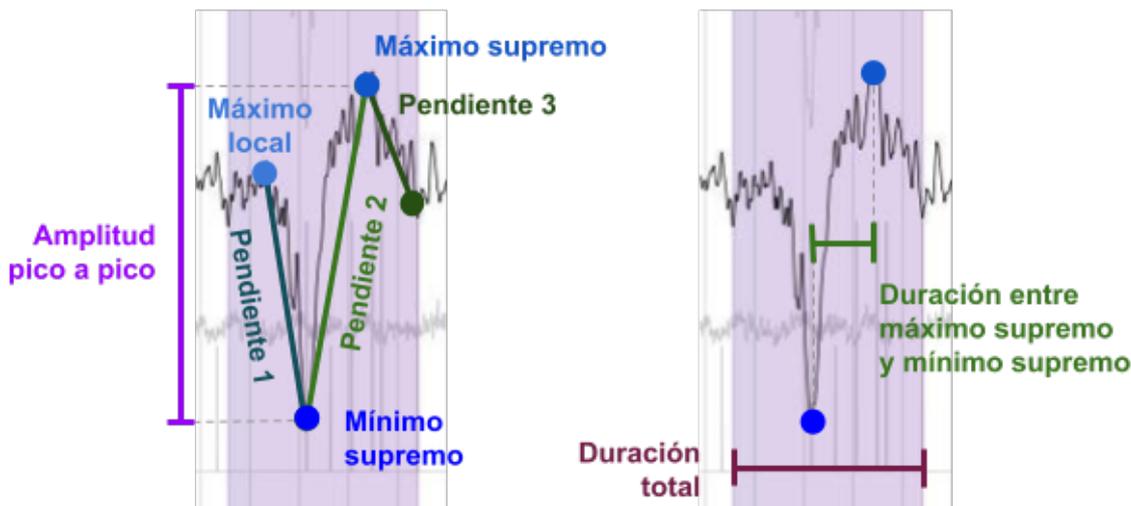


Figura 2.6: Partes morfológicas del KC.

Características	Descripción	Unidad
Duración total KC	Duración del KC etiquetado	ms
Duración min-max	Tiempo entre el mínimo supremo y máximo supremo	
Máximo supremo	Pico máximo del KC	μV
Mínimo supremo	Pico mínimo del KC	
Máximo local	Primer pico máximo del KC, anterior al mínimo supremo (puede no presentarse)	
Amplitud pico a pico	Resta entre máximo supremo y mínimo supremo	
Pendiente 1	Pendiente entre máximo local y mínimo supremo del KC	$\mu V/ms$
Pendiente 2	Pendiente entre máximo supremo y mínimo supremo del KC	
Pendiente 3	Pendiente entre el máximo supremo y el final del KC	

Tabla 2.2: Características de los KC seleccionadas para el análisis de los registros.

Se calcularon estos 8 parámetros para cada uno de los 106 KC etiquetados. Se analizó el promedio, el máximo y el mínimo de cada parámetro para poder determinar valores límites que permitirán desarrollar el algoritmo de localización automática de los KC (Apéndice - Tabla .2).

Para crear el clasificador y el localizador, por como fue diseñado el algoritmo, se focalizó

en 5 parámetros: amplitud pico a pico, duración total KC (la cual corresponde desde el inicio del etiquetado hasta el final del mismo), máximo absoluto, mínimo supremo y tiempo entre mínimo y máximo supremo.

<i>Parámetro</i>	Amplitud pico a pico [μV]	Duración total KC [ms]	Máximo supremo [μV]	Mínimo supremo [μV]	Tiempo entre mínimo y máximo supremo [ms]
Media	188.54	970.65	70.75	-117.80	456.89
Mínimo	80.66 ⁽¹⁾	523.06 ⁽²⁾	20.52 ⁽³⁾	-39.45 ⁽⁴⁾	145.00 ⁽⁵⁾
Máximo	412.90	1569.18 ⁽²⁾	160.27	-279.41	880.00 ⁽⁵⁾

Tabla 2.3: Valor medio, máximo y mínimo de las características morfológicas consideradas en todos los KC etiquetados de los 8 sujetos.

Decidimos entonces a partir de estos resultados definir 8 “valores límites” que caracterizan a estos KC:

1. Amplitud pico a pico debe ser mayor a $75 \mu V$ [Colrain, 2015, Manzar et al., 2016].
2. Duración total de los KC entre 0.5s [Manzar et al., 2016] y 2s.
3. Pico máximo supremo mayor a $20 \mu V$.
4. Pico mínimo supremo menor a $-30 \mu V$.
5. Tiempo entre pico mínimo y máximo supremo mayor a 0.1s y menor a 0.9s.

2.1.2.4 Set de datos “no-KC”

Para entrenar al clasificador, no sólo basta con ingresar un *set* de datos competente de KC, ya que en varias ocasiones la decisión de si un evento es o no Complejo K es poco claro, sino que también se consideró ingresar un *set* de datos representativo para simbolizar lo que no es un KC (“no-KC”). El clasificador binario debe poder distinguir entre ondas electroencefalográficas similares al KC pero que no lo sean e identificar los que verdaderamente son KC.

Se creó un vector con 212 muestras características para entrenar al modelo: 106 vectores representativos de KC y 106 representativos de lo que no es un KC. Cada vector posee 400 muestras (*features*) representando los 2s de duración de la señal muestreada a $200 Hz$ centrado en el punto de alineamiento elegido (punto medio entre máximo supremo y

mínimo supremo). De cada sujeto se extrajo la misma cantidad de señales que representen un “no-KC” en la fase II como de KC etiquetados en ese sujeto.

Este *dataset* de no-KC son ondas lentas pertenecientes a la fase II, con una morfología similar a un KC. La mayoría de estos fueron detectados por el algoritmo de localización pero en un etiquetado manual se descartó que fuese un KC.

2.1.3. Pre-procesamiento de las señales

La señal grabada en el estudio polisomnográfico cuenta con una gran cantidad de frecuencias en su espectro que no son de interés para este estudio y que dificultan el análisis. Por ende se creó un algoritmo que filtre adecuadamente a la señal y elimine todas estas frecuencias. Se tomó como base de este algoritmo de filtrado al desarrollado por Riedner and Tononi [2007].

1. Ajuste de línea de base

Se le restó a la señal completa su valor medio para eliminar cualquier componente de la corriente directa que pueda estar en la señal y que provoca una desviación de la media [Sanei and Chambers, 2013].

2. Ventana de 5 segundos + Overlapping

Todos los siguientes pasos se aplicaron mediante una “moving-window” (ventana móvil) de 5 segundos con una superposición (overlapping) del 50 % entre ventanas. Se aplicó el overlapping entre ventanas mediante un promedio ponderado de los datos de cada una con distintos pesos por medio de rampas inversas. Es decir, los datos de la ventana anterior tomaban pesos reales desde 1 a 0 y la ventana posterior tomaba pesos desde 0 a 1 a lo largo de los datos solapados entre ventanas.

a) *Downsampling*

Para optimizar el tiempo de cómputo, se realizó una disminución de datos de la muestra. Originalmente la señal tenía una frecuencia de muestro de 200 Hz, por ende se la decidió reducir a la mitad (100 Hz) mediante una función que disminuya la resolución de la señal pero después de aplicar un filtro *anti-aliasing*. De forma predeterminada, esta función utiliza un filtro *Chebyshev* tipo I de orden 8.

b) Filtrado

Para aplicar los filtros digitales, se decidió utilizarlos de manera *forward-backward* para corregir cualquier desfasaje que pueda adherirse por utilizarlos. Por ende, se aplicaron filtros digitales lineales dos veces, una hacia adelante y otra hacia atrás, produciendo un filtro combinado con fase cero y un orden de filtrado dos veces mayor que el otorgado como *input* en las funciones utilizadas. Se utilizaron las frecuencias de corte especificadas en Riedner and Tononi [2007]. Los coeficientes y parámetros de ambos filtros fueron calculados mediante la herramienta `FilterDesign` de MATLAB(Mathworks Inc., Natick, MA, USA) V2017a debido a que proporciona amplios recursos para el diseño, análisis e implementación de filtros de manera sencilla y clara.

1) Filtro pasa-bajos

Para eliminar las frecuencias altas que no corresponden a las frecuencias de los KC, se aplicó un filtro pasa-bajos *Butterworth* de orden 5 con frecuencia de corte en 30 *Hz*. Para optimizar el resultado se aplicó un *padding* en los bordes de la ventana.

En el *padding* los bordes se rellenan con duplicados de los puntos de datos del borde y esto provoca que se suavice el trazo como si esos puntos de datos existieran. El inconveniente de esto es que un punto de datos extraviados en el borde puede afectar en gran medida la forma de sus datos suavizados. Por eso, se decidió aplicar el método de *padding* planteado en 1994 por Fredrik Gustafsson [Gustafsson, 1996] que mejora este problema.

2) Filtro pasa-banda

Para obtener únicamente señales con frecuencias características de las ondas lentas, se aplicó a un filtro pasa-banda *Chebyshev* tipo II de orden de 16, con una mínima atenuación de 40 *db* en la banda de rechazo y una banda de transición entre las frecuencias críticas 0.125 *Hz* y 6 *Hz*. Se aplicó un filtro digital *forward-backward* usando secciones en cascada de segundo orden. Para optimizar el resultado se aplica también un *padding* constante en los bordes de la ventana.

c) *Upsampling*

Una vez realizado todo el filtrado, se vuelve a subir la frecuencia del *dataset* para regularizar todo el registro, incluyendo las marcas y anotaciones, a la misma frecuencia. Esto permite realizar el análisis posterior con todos los registros alineados.

Se decidió realizar un *overlapping* del 50 % debido al tiempo que se tarda en ejecutar ese tipo de filtrado promedio en una señal. En comparación con un *overlapping* del 75 %, este *overlapping* corre en menos de la mitad del tiempo, mientras que en comparación con un *overlapping* del 25 % sólo aumenta menos de 0.4 veces el tiempo de cómputo (Apéndice - Tabla .1).

Para evaluar el funcionamiento de nuestro diseño de pre-procesado de la señal, se decidió compararlo con el del realizado por Riedner and Tononi [2007]. En su caso, no plantean la ventana móvil de 5 segundos ni ninguno de los *padding*s mencionados. Para ello se decidió calcular la relación señal-ruido de los KC etiquetados en cada sujeto según la siguiente fórmula [Turetsky and Fein, 1988]:

$$SNR_j = \sum_{i=0}^{N_j} \left(20 \times \log \left(\frac{App_{ij}}{\sigma_{ij}^2} \right) \right) [dB]$$

Siendo para cada sujeto j la SNR el promedio de los valores de amplitud pico a pico (App) del KC i sobre la varianza (σ^2) de los datos que representan a cada KC i .

Los resultados arrojan que hay una leve mejoría en el SNR en este algoritmo de pre-procesamiento, en comparación con el algoritmo de pre-procesamiento de Riedner and Tononi [2007] (Fig. 2.4 , Tabla 2.4). La misma fue evaluada estadísticamente, dando no significativa. Se utilizó un test de t de doble cola ($T_{13}=-0.467$, $p=0.648$). Por más de que fue no significativo el resultado, se tomó en cuenta este análisis ya que se priorizaron las diferencias en cuanto a la inspección visual debido a que el etiquetado se realiza de esta manera.

<i>Sujeto</i>	SNR [dB]	
	<i>Pre-procesado Carosi-Vazquez</i>	<i>Pre-procesado Riedner and Tononi 2007</i>
S11	100.82	100.81
S12	96.47	96.23
S17	92.63	92.56
S21	94.88	94.75
S28	94.53	94.37
S36	95.37	95.29
S37	95.47	95.22
S40	98.32	98.10
Media	96.06	95.91
Desv std	2.52	2.53

Tabla 2.4: Relación señal ruido de los KC pre-procesados mediante el método presentado en este trabajo (Carosi-Vazquez) en comparación con el método de pre-procesamiento de [Riedner and Tononi, 2007].

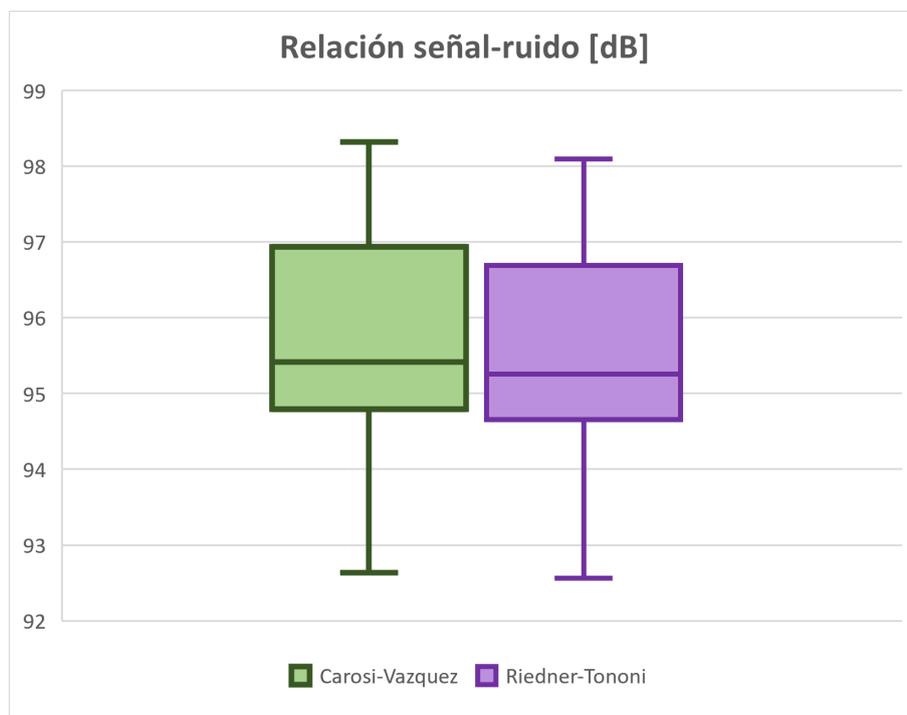


Figura 2.7: Relación señal ruido de los KC pre-procesados mediante el método presentado en este trabajo (Carosi-Vazquez) en comparación con el método de pre-procesamiento de Riedner and Tononi [2007].

Además de la diferencia en el valor de la SNR, se pudo constatar mediante inspección visual en la interfaz una diferencia entre ambos métodos. El método propuesto, atenúa en mayor medida las frecuencias más lentas de los registros mientras que el propuesto por Riedner no lo logra y se manifiestan mediante perturbaciones permanentes (Fig. 2.8 A-B).

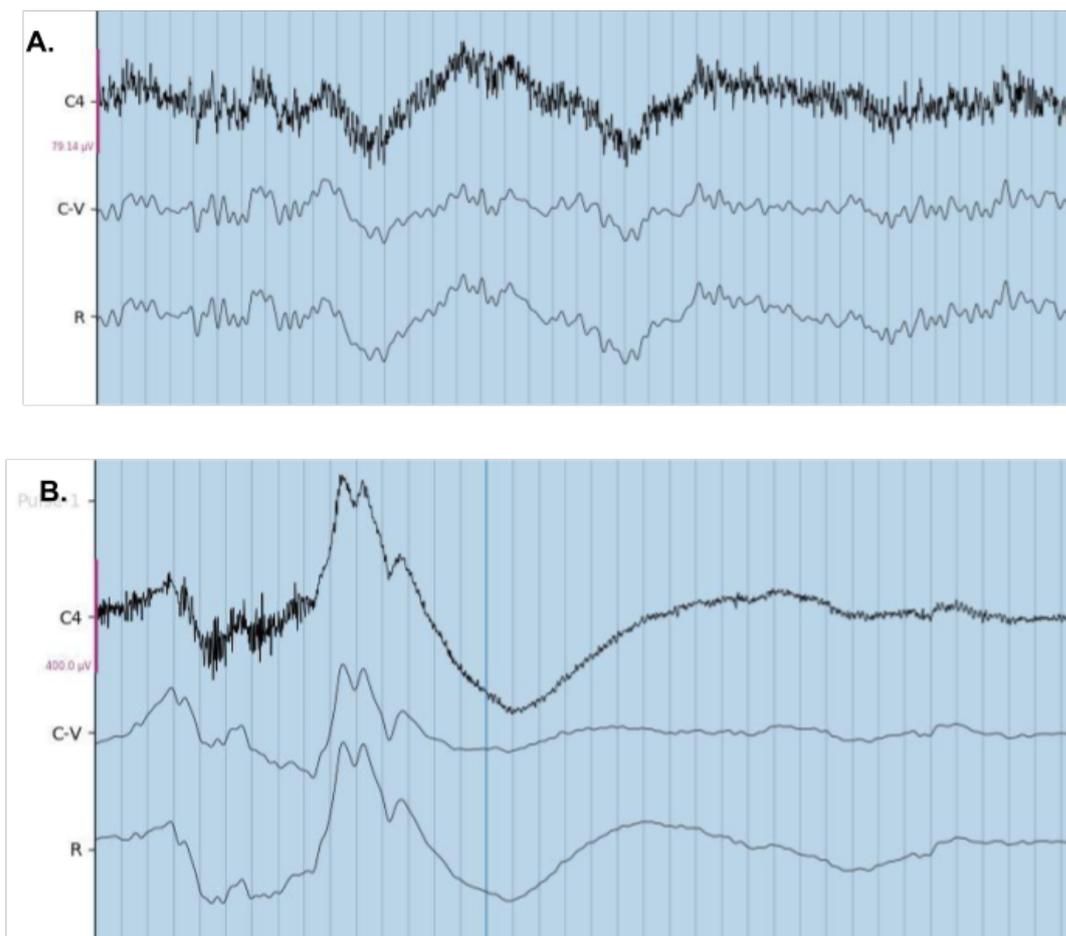


Figura 2.8: Comparación entre el tipo de pre-procesamiento de la señal según el propuesto en este trabajo (canal C-V) y el propuesto por Riedner (canal R). en el primer canal (C4) se puede ver la señal sin filtrar proveniente del electrodo en posición C4. **A.** Ejemplo en la grabación del sujeto 40 en el estado de vigilia. **B.** Ejemplo en la grabación del sujeto 12 en el estado de vigilia.

Estos resultados se expusieron en el Congreso de la Sociedad Argentina de Investigación en Neurociencias del año 2020 (SAN 2020).

2.1.4. Clasificador

Una vez obtenida la base de datos de Complejos K detectados de forma manual, un algoritmo eficiente de filtrado de la misma y los valores límites a considerar, se procedió a entrenar un modelo de Aprendizaje Automático que clasifique si una señal que ingrese es o no un KC.

Se decidió utilizar el método de aprendizaje supervisado *Support Vector Machine* [SVM]

o máquina de vectores de soporte, debido a su eficacia en espacios de gran dimensión, en especial cuando el número de dimensiones es mayor que el de muestras, lo cual sucede en este caso. Una máquina de vectores de soporte construye un hiperplano o un conjunto de hiperplanos en un espacio dimensional alto o infinito, que se puede utilizar para clasificación, regresión u otras tareas. Intuitivamente, se logra una buena separación por el hiperplano que tiene la mayor distancia a los puntos de datos de entrenamiento más cercanos de cualquier clase (llamado margen funcional), ya que en general, cuanto mayor es el margen, menor es el error de generalización del clasificador. En específico para el objetivo del trabajo, se utilizará el clasificador binario SVC (*C-Support Vector Classification*) de la librería Scikit Learn.

Antes de entrenar a un modelo de Aprendizaje Automático, los vectores deben ser escalados temporalmente y sus valores deben ser estandarizados para que el algoritmo que ajusta el modelo interprete estos datos. También se debe crear un algoritmo competente y representativo de lo que no es un KC.

2.1.4.1 Escalamiento y alineamiento

Una vez que la señal está filtrada y las etiquetas temporales de dónde se encuentran los KC, estos se escalan temporalmente de manera alineada tomando una ventana de 2 segundos centrada en la muestra media entre su máximo supremo y mínimo supremo (Fig. 2.9). De esta manera, todos los KC están con su parte media centrada y al mismo tiempo obtenemos 106 vectores de datos de la misma longitud (en este caso es de 400 muestras ya que la frecuencia de muestreo de la señal es de $200Hz$).

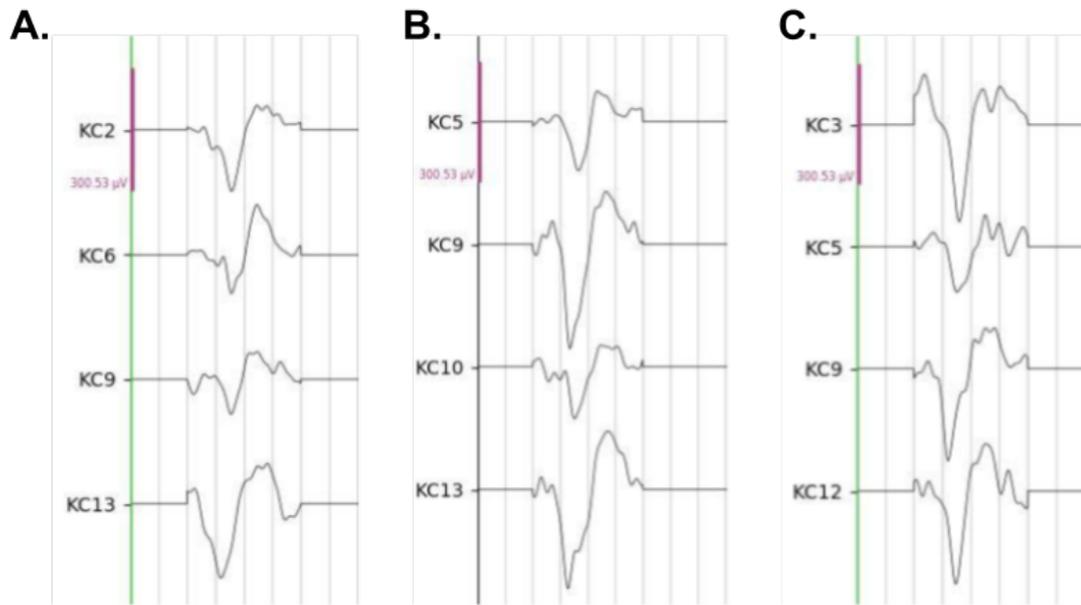


Figura 2.9: Alineamiento y escalamiento temporal a 2 segundos de los KC etiquetados y pre-procesados. El padding realizado para que la muestra de datos tenga 2 segundos de longitud, se realizó con la información propia de la señal filtrada. **A.** Segundo, sexto, noveno y décimo tercer KC etiquetado del sujeto 36. **B.** Quinto, noveno, décimo y décimo tercer KC etiquetado del sujeto 21. **C.** Tercer, quinto, noveno y décimo segundo KC etiquetado del sujeto 17.

2.1.4.2 Estandarización

Luego de tener datos alineados y escalados en tiempo, se los escaló en sus valores de amplitud. Se elimina la media y se los escala a una varianza unitaria.

La estandarización de una muestra x se realiza de la siguiente manera:

$$z = \frac{x - u}{s}$$

Donde u es la media de las muestras de los KC etiquetados, s es la desviación estándar de las muestras de los KC etiquetados y z es la muestra x estandarizada.

2.1.4.3 Entrenamiento del modelo

Se entrenó al modelo con los 412 datos disponibles y sus respectivos labels (1 si es un KC; 0 si es un no-KC).

2.1.5. Localización de candidatos

Se creó un algoritmo que busca señales candidatas a ser KC y las ubica temporalmente.

Primero, el algoritmo descarta toda aquella parte de la señal que no haya recibido el puntaje “fase II” durante el *scoring*. Luego, a través de una ventana móvil de 2s obtiene todos los valores en esas muestra de señal y calcula: máximo supremo, mínimo supremo, posición del máximo supremo y posición del mínimo supremo, amplitud pico a pico y distancia temporal entre el máximo y el mínimo supremo. El largo de la ventana móvil fue decidido debido a los resultados arrojados por el análisis de los KC etiquetados y debido a que el clasificador también es entrenado con un *set* de datos de esta longitud en tiempo. Luego si se cumplen todas las siguientes condiciones al mismo tiempo, el clasificador coloca una “etiqueta” en que en esos 2 segundos hay un candidato:

- CONDICIÓN 1: Posición del máximo supremo calculado menor a posición del mínimo supremo calculado.
- CONDICIÓN 2: Valor del máximo supremo mayor a $20 \mu V$.
- CONDICIÓN 3: Valor del mínimo supremo menor a $-30 \mu V$.
- CONDICIÓN 4: Amplitud pico a pico mayor a $75 \mu V$.
- CONDICIÓN 5: Tiempo entre mínimo y máximo menor a 1s pero mayor a 0.1 s

Estas condiciones fueron determinadas por el análisis previo que se realizó sobre los KC etiquetados (Tabla 2.3).

Una vez que la ventana detecta si hay un posible candidato en esa muestra de señal de 2 segundos, se corre 0.25s hacia muestras posteriores en tiempo para evaluar si en esa ventana nueva de 2s hay un posible candidato. Esta ventana móvil se mueve a lo largo toda la fase II y se colocan las etiquetas en las ubicaciones temporales correspondientes.

2.1.6. Etiquetado automático de KC

Se desarrolló un algoritmo que una las funcionalidades del algoritmo de localización y el modelo que utiliza Aprendizaje Automático para clasificar si el candidato es o no un KC.

Este algoritmo detecta las localizaciones temporales donde se encuentran los posibles

candidatos arrojados por el algoritmo de localización, se para en el inicio de esa región y agarra muestras de 2 s de longitud para ingresar al clasificador y detectar si es un KC. Si es un KC, se alinea en el centro del KC (posición media entre el máximo supremo y mínimo supremo) y etiqueta esa zona con una etiqueta de 2s. Luego sigue buscando en el resto de regiones con posibles candidatos. Si no detecta un KC, se mueve 0.125s en esa región y vuelve a detectar con el clasificador si se detectó otro KC. Esto lo repite hasta salir de la zona con los posibles candidatos y lo realiza sobre toda la fase II del registro.

El etiquetado que devuelve este algoritmo es un vector de igual longitud que el registro del canal polisomnográfico. Este vector tiene ceros en donde no se detectó la presencia de un KC y unos donde está etiquetado el KC, es decir, devuelve pulsos en donde se colocan las etiquetas.

2.2. Experimentación

2.2.1. Sujetos experimentales

Se reclutaron 24 estudiantes universitarios (15 mujeres y 9 hombres), de entre 18 y 36 años, para participar del experimento. Previo a su participación firmaron un consentimiento informado aprobado por el Comité de Ética Alberto Taquini de la Universidad de Buenos Aires. Los participantes informaron no haber estado enfermos durante el período en que se realizó el experimento, ni tener ningún trastorno psiquiátrico, antecedentes de enfermedades neurológicas, tomar medicamentos en el momento de los experimentos ni sufrir ningún trastorno del sueño. Los datos de dos sujetos fueron excluidos del análisis debido a que uno de ellos solo alcanzó la fase 1 de sueño NMOR y el otro porque no comprendió las instrucciones. Los sujetos fueron asignados aleatoriamente a los grupos experimentales: grupo sueño (edad media: $24,09 \pm 1,51$, 8 mujeres, 2 hombres, $n=11$); grupo control (edad media: $23,45 \pm 4,27$, 6 mujeres, 5 hombres, $n=11$).

2.2.2. Procedimiento experimental

En el día 1, a la mitad de los participantes (grupo sueño) se le colocaron los electrodos de acuerdo al sistema internacional 10-20. Luego de la colocación, los participantes completaron la escala de Stanford de Sueño (SSS)[Azmeah et al., 2012] y a continuación

realizaron una tarea entrenamiento de pares de sílabas asociados por medio de una computadora. La otra mitad de los participantes (grupo control), al llegar, completaron la escala de Stanford de Sueño y realizaron la tarea de entrenamiento de pares de sílabas asociados.

Una vez finalizado el entrenamiento, a los sujetos del grupo sueño, se los llevó a una habitación oscura y silenciosa ¹. Todas las siestas se realizaron entre las 15hs y 18hs. Se controló que cada sujeto durmiera aproximadamente 20 minutos de siesta para que predominase la fase II de sueño. Los 20 minutos fueron calculados a partir del primer Complejo K o huso de sueño detectado de manera online por el experimentador (comienzo de fase II de sueño). Una vez pasado este tiempo, la persona es despertada. Se esperaron 30 minutos antes de seguir con el experimento, para evitar la inercia del sueño. En este tiempo, se retiraron los electrodos, se les permitió ir al baño y lavarse la cara.

Los sujetos del grupo control, en lugar de dormir una siesta de 20 minutos, se dirigieron a otra habitación. Allí se conversó con él/la participante durante 20 minutos, con un video tranquilo de fondo, con el motivo distraerlo para que no estuviese repasando los pares de sílabas previamente aprendidos.

Luego, los sujetos de ambos grupos, completaron nuevamente el SSS y fueron evaluados con las sílabas previamente aprendidas.

En el día 7 (siete días después del día 1), los sujetos fueron evaluados (Fig. 2.10).

¹Los sujetos del grupo experimental, tuvieron una siesta de adaptación previo al día del experimento, la cual fue separada respecto del día 1 por al menos 48hs.

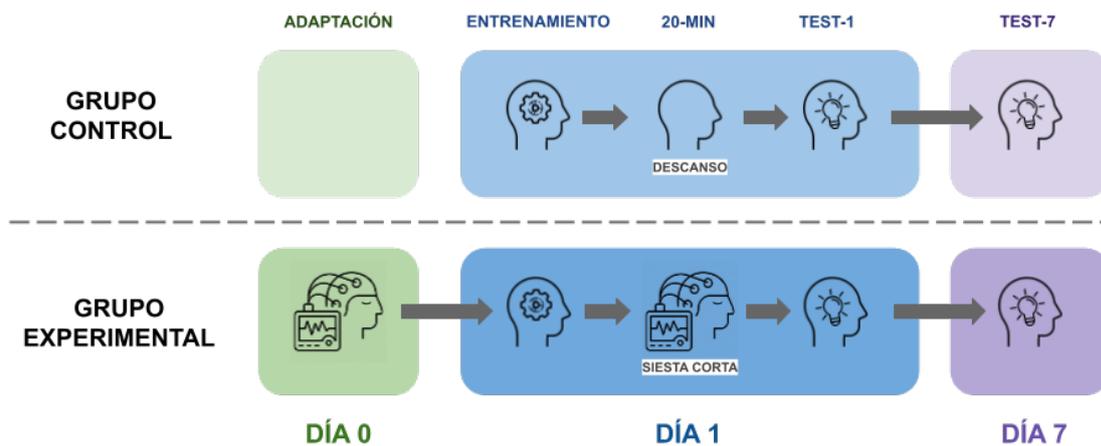


Figura 2.10: Diseño experimental del estudio realizado a los 12 sujetos del grupo experimental y del grupo control.

2.2.2.1 Test de escala de somnolencia de Stanford

El Stanford Sleepiness Scale (SSS) o Test de escala de somnolencia de Stanford, mide de manera subjetiva el grado de somnolencia en una persona. Es de uso frecuente tanto para la investigación como para propósitos clínicos. Este test utiliza una escala de 1 a 7, donde la persona escoge la opción que mejor representa su nivel de somnolencia en ese momento:

1. “Me siento activo, vital, alerta, o bien despierto”
2. “Funcionando a niveles altos, pero no completamente alerta”
3. “Despierto, pero relajado; sensible, pero no completamente alerta”
4. “Un poco confundido, decepcionado”
5. “Confundido; pierdo interés en permanecer despierto; ralentizado”
6. “Somnoliento, mareado, luchado contra el sueño; prefiero recostarme”
7. “Ya no lucho contra el sueño, comenzaré a dormirme pronto; tengo pensamientos como sueños”

2.2.3. Tarea

La tarea consistía en asociar cinco pares de sílabas sin sentido (sílabas-clave / sílabas-respuesta) que se les presentaba en la pantalla, las cuales estaban asociadas a un contexto

formado por un color de fondo, una imagen y una música. Las sílabas están formadas por tres letras (Fig. 2.11). Anteriormente se ha demostrado que incluir un contexto asociado a la lista de sílabas mejoraba la retención de la memoria [Forcato et al., 2007].

2.2.4. Entrenamiento

La lista de sílabas estaba formada por cinco pares de sílabas asociadas sin sentido: **ITE-OBN**, **ASP-UOD**, **FLI-AIO**, **NEB-FOT**, **COS-GLE** (**En negrita**: sílaba-clave; Modo normal: sílaba-respuesta, Fig. 2.11). La sesión de entrenamiento de la Lista, consistió en 10 ensayos, asociados a un contexto que consistía en un fondo de color azul, una imagen de una costa italiana y una melodía tarantella (Fig. 2.11). Cada ensayo estaba formado por cinco pasadas, incluyendo la presentación inicial de la lista con los cinco pares de sílabas. En la primer pasada, la lista entera con los cinco pares de sílabas fueron presentadas de corrido. Desde el inicio, se comenzó con la presentación del contexto: en primer lugar, apareció por 4s en la pantalla, la imagen de la costa italiana con un fondo azul. Luego, sin quitar la imagen del fondo, comenzó a sonar la música tarantella por otros 4s. Pasado este tiempo, el contexto presentado continuó mientras se realizó la presentación inicial sílabas. Esta consistió en la aparición de una sílaba-clave en la parte superior izquierda de la pantalla del monitor de la computadora y un cuadro de respuesta vacío en la parte superior derecha. A continuación la sílaba de respuesta correspondiente aparecía durante 4s en el cuadro de respuesta. Inmediatamente después, el par de sílabas desaparecía y una línea más abajo se presentaba otra sílaba y el proceso se repetía hasta completar la Lista. Cada sílaba clave se tomaba al azar y se pasaba a la próxima de forma sucesiva hasta completar la presentación de las cinco sílabas de la Lista.

Es así como en el ensayo cero, los participantes observaron cómo los cinco pares de sílabas se completaban una vez. En los nueve ensayos siguientes, los participantes tenían un plazo de 5s para completar con la sílaba-respuesta correspondiente.

Dependiendo de la respuesta del sujeto, habían tres posibles resultados: primero, si no se escribía ninguna sílaba durante 5s, el programa devolvía en rojo la sílaba de respuesta correcta; en segundo lugar, si se escribía una sílaba incorrecta a los 5s, el programa sustituía la incorrecta por la correcta y la mostraba en color rojo; y tercero, si se daba la respuesta correcta, se mantenía esa respuesta en el color negro que se escribió hasta que

se cumplieran los 5s. Inmediatamente después, el par de sílabas desaparecía y se mostraba otra sílaba una línea más abajo y el proceso se repetía hasta completar la Lista. Cada sílaba clave se tomaba al azar y se pasaba a la próxima sílaba clave luego de los 5s de forma sucesiva hasta completar el recorrido completo.

Una vez presentada toda la lista, se mostraba un fondo negro durante 3s y el procedimiento anterior se repetía hasta completar la lista de pares de sílabas nueve veces. Este procedimiento de entrenamiento (con pares de sílabas consecutivos presentados) se basó en estudios anteriores que mostraban que este procedimiento daba lugar a un nivel óptimo en la codificación de la memoria [Forcato et al., 2007][Moyano et al., 2019]. El entrenamiento tuvo una duración de 10 minutos. Se registraron, el número de respuestas correctas así como el tipo de error cometido.

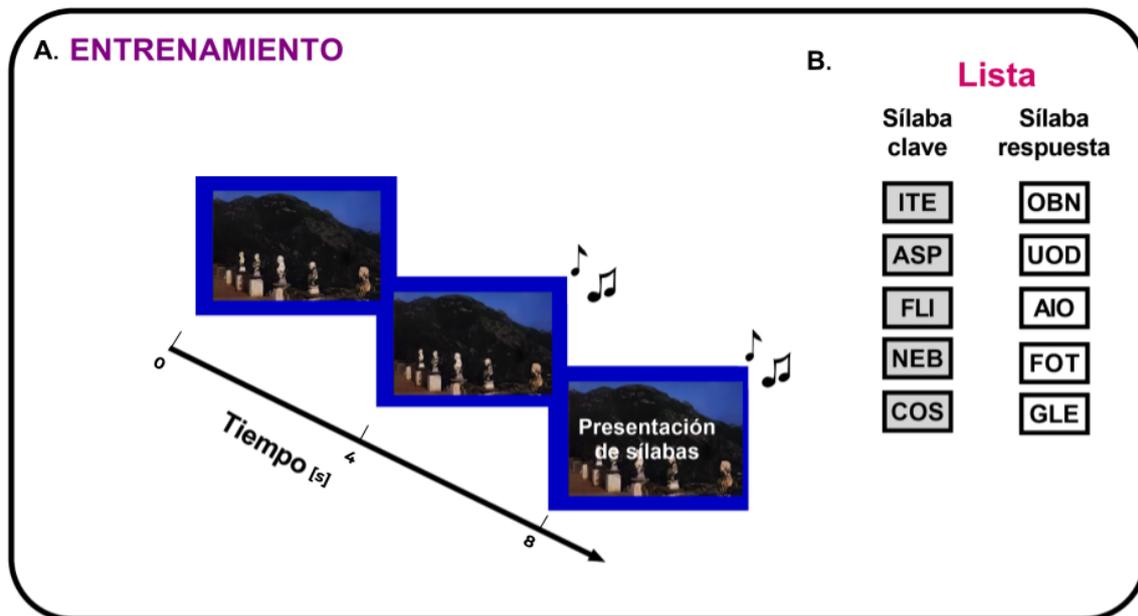


Figura 2.11: Diseño experimental y tarea de memoria. **A.** Sesión de entrenamiento asociada a un contexto específico, es decir, un fondo azul, una imagen de una costa italiana y música de tarantela. La sesión de entrenamiento constaba de 10 ensayos. Cada uno comenzaba con la presentación del contexto, es decir, el color de fondo y la imagen durante 4 s, seguidos de los mismos estímulos acompañados de la música durante otros 4 s. Después, la primera sílaba clave aparecía en la parte izquierda de la pantalla, con una casilla de respuesta vacía a la derecha. Durante el primer entrenamiento, la sílaba de respuesta se presentaba automáticamente en el cuadro de respuesta de la derecha. A continuación, aparecía la siguiente sílaba clave una línea más abajo y el procedimiento continuaba hasta que se presentaban los cinco pares de sílabas. Las nueve pruebas siguientes eran idénticas a la primera, salvo que las sílabas respuesta ya no se presentaban automáticamente, sino que los participantes tenían que escribir las sílabas de respuesta en el cuadro de respuesta de la derecha. **B.** Listado de los 5 pares de sílabas que los sujetos debían memorizar. Las sílabas clave están indicadas en cuadros grises y las sílabas de respuesta están indicadas en cuadros blancos [Moyano, 2017].

2.2.5. Evaluación día 1

El día 1, se evaluó la memoria de la Lista. La evaluación consistió en dos ensayos, de forma similar a la sesión de entrenamiento, pero sin feedback; es decir que si se cometía un error o no se completaba la sílaba a los 5s, no se devolvía la respuesta correcta, si no que se cambiaba a la siguientes sílaba. Las sílabas clave, eran tomadas al azar y fueron cambiando sucesivamente hasta completar las cinco sílabas de la Lista. Los sujetos debían escribir la sílaba de respuesta correspondiente en un plazo de 5s. La sesión de evaluación duró unos 2 minutos. Se registraron, el número de respuestas correctas así como el tipo de error cometido.

2.2.6. Evaluación día 7

El día 7, se evaluó nuevamente la memoria de la Lista. El procedimiento fue el mismo al de la evaluación al día 1.

2.2.7. Tipos de error

Durante el entrenamiento así como durante las dos evaluaciones posteriores se clasificaron los errores en 3 categorías: error en “blanco”, cuando no se escribió ninguna respuesta; “intraalista”, cuando se escribió una sílaba-respuesta que correspondía a otra sílaba-clave y “confusión” cuando la sílaba-respuesta no pertenecía a la Lista.

2.2.8. Demo

Antes de la sesión de entrenamiento, se presentó a los participantes un programa de demostración para recibir todas las instrucciones y asegurarse de que todos participantes hayan comprendido la tarea. El programa de demostración constaba de dos ensayos, con una estructura similar a la de la sesión de entrenamiento, pero con otro contexto y dos pares diferentes de sílabas sin sentido.

2.2.9. Polisomnografía

Se obtuvieron registros polisomnográficos que incluyeron grabaciones electroencefalográficas (EEG), electromiográficas (EMG) y electrooculográficas (EOG) con amplificadores BrainAmp DC (Brain Products, Munich, Alemania). El EEG se registró a partir de seis electrodos del cuero cabelludo (F3, F4, C3, C4, P3 y P4 de acuerdo con el Sistema Internacional 10-20 2.2) y dos electrodos en los mastoideos izquierdo y derecho que sirven como referencia combinada. Los datos se registraron a una frecuencia de muestreo de 200 Hz y se filtraron mediante filtro pasa-bajos de frecuencia de corte en 35Hz , un filtro pasa-altos, con constante de tiempo $1,06103\text{s}$ y frecuencia de corte en $0,15\text{Hz}$ y un filtro Notch para eliminar el ruido de línea de 50 Hz. El EOG se registro a partir del EOG izquierdo (EOGi) y EOG derecho (EOGd) colocados en las zonas perbioculares respectivas. El EMG se registró a partir del EMG izquierdo (EMGi) y EMG derecho (EMGd) colocados a los respectivos lados de la mandíbula. Los registros tuvieron una impedancia menor a $2\text{k}\Omega$.



Figura 2.12: Colocación de electrodos. **A** Colocación de los 13 electrodos en las posiciones respectivas según el Sistema Internacional 10-20. **B** Verificación de la impedancia luego de la colocación de electrodos.

Para el análisis de cada una de las señales registradas, se realizó en primera instancia un *scoring* según criterios estándar Rechtschaffen and Kales [1968] mediante el software *Schlafaus* (Steffen Gais). En los registros obtenidos, se localizaron vigilia, fase I, fase II y en algunos registros, fase III del sueño. Se calculó el porcentaje en las diferentes fases de sueño.

A continuación se muestran distintas etapas del sueño, detectadas de manera online en el momento de la siesta del Sujeto 7. Se identifica Vigilia (Fig.2.13), Fase I (Fig.2.14), Fase II (Fig.2.15) y la vista completa de todos los electrodos que fueron colocados (Fig.2.16).

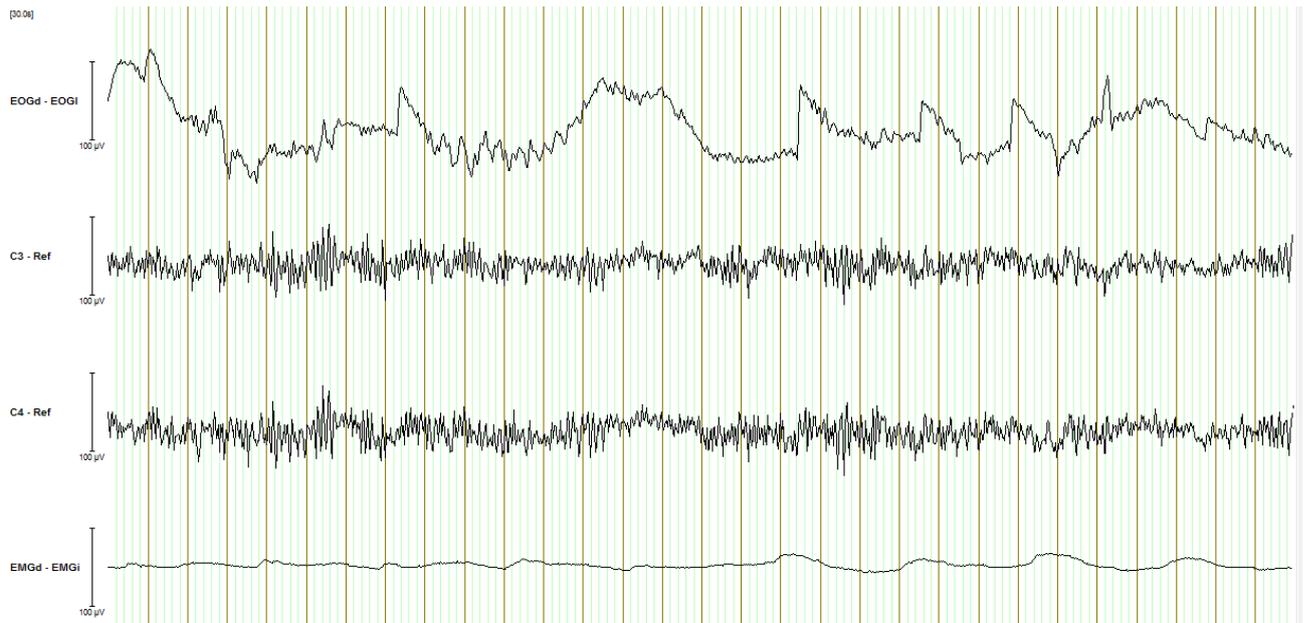


Figura 2.13: Vista del BrainVision Recorder del S7 en vigilia. De arriba a abajo se observa la resta de EOG; canal C3 referenciado; canal C4 referenciado y la resta de EMG.

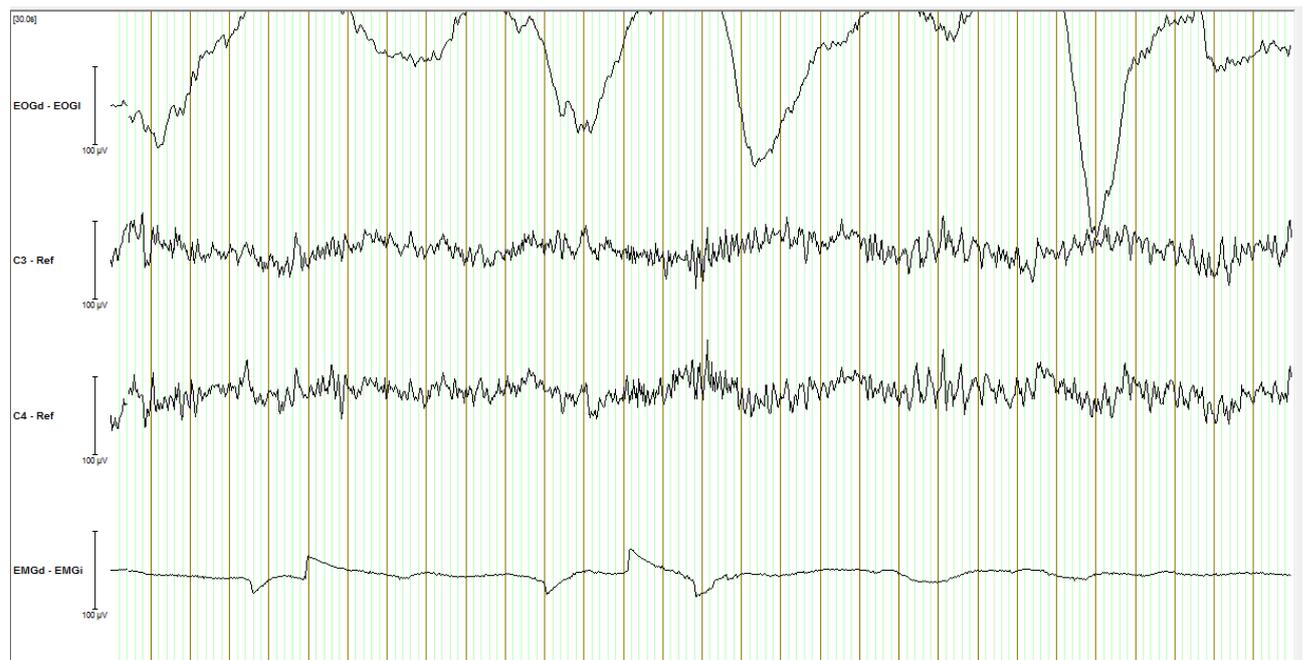


Figura 2.14: Vista del BrainVision Recorder del S7 en Fase I. De arriba a abajo se observa la resta de EOG; canal C3 referenciado; canal C4 referenciado y la resta de EMG.

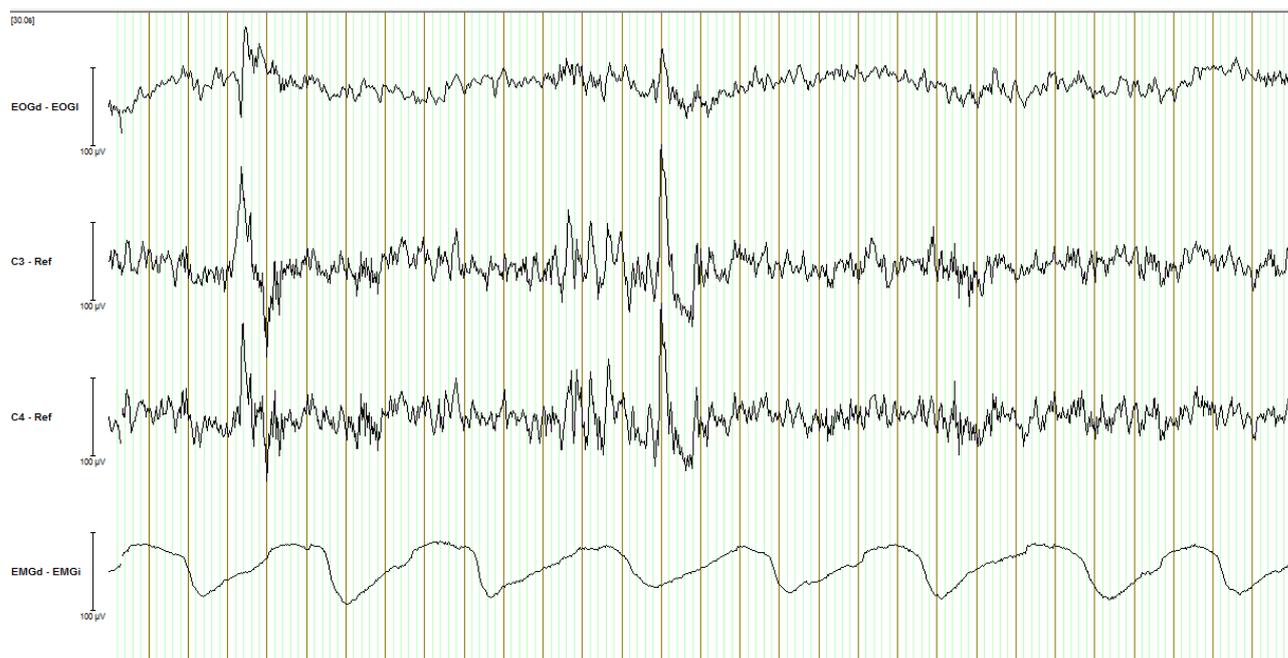


Figura 2.15: Vista del BrainVision Recorder del S7 en Fase II. De arriba a abajo se observa la resta de EOG; canal C3 referenciado; canal C4 referenciado y la resta de EMG.

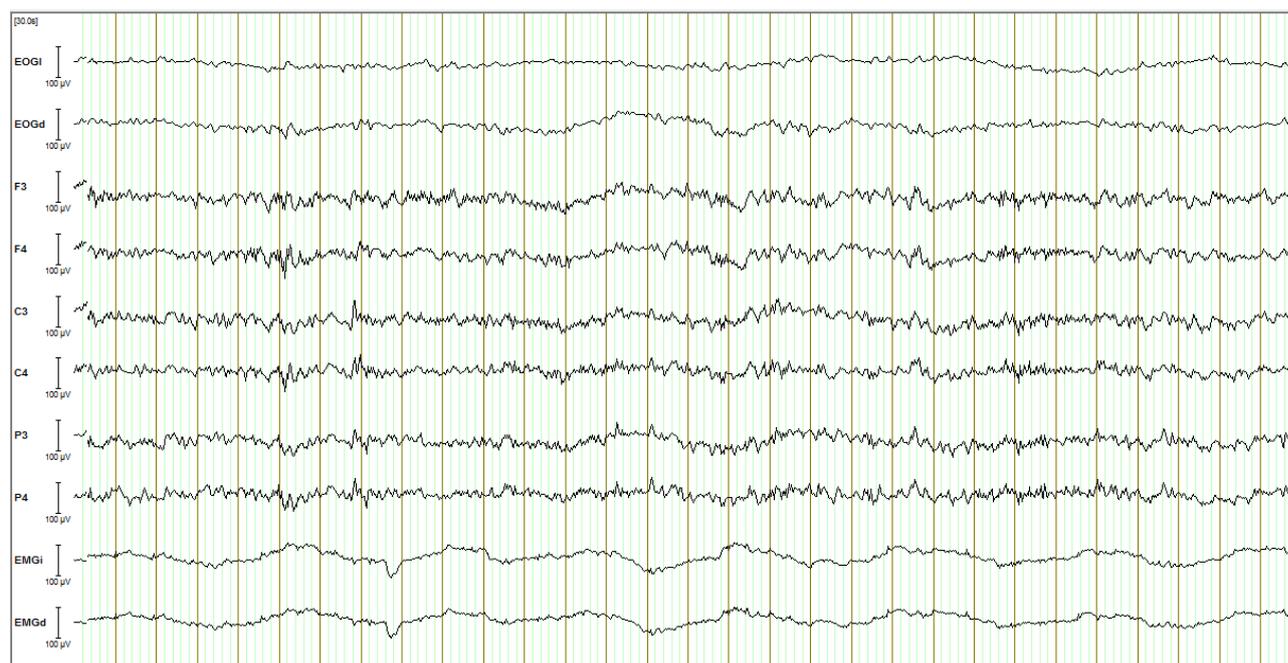


Figura 2.16: Vista del BrainVision Recorder. Vista de todos los electrodos colocados. De arriba hacia abajo: EOGi, EOGd, F3, F4, C3, C4, P3, P4, EMGi, EMGd.

2.2.10. Detección de Complejos K

Para el análisis de los registros de sueño, se realizó un etiquetado de Complejos K en la fase II del sueño para los registros del día 1.

A continuación se determinaron diversas características los componentes de los KC (Fig. 2.6). Las mismas se pueden visualizar en la Tabla 2.5.

Características	Descripción	Unidad
Pendiente 1	Pendiente entre máximo local y mínimo supremo del KC	$\mu\text{V}/\text{ms}$
Pendiente 2	Pendiente entre máximo supremo y mínimo supremo del KC	
Pendiente 3	Pendiente entre el máximo supremo y el final del KC	
Duración KC	Duración del KC etiquetado	ms
Amplitud pico a pico	Amplitud entre máximo supremo y mínimo supremo	μV
Máximo supremo	Pico máximo del KC	
Mínimo supremo	Pico mínimo del KC	
P200	Tiempo transcurrido entre el comienzo del KC y el máximo local	ms
N500	Tiempo transcurrido entre el comienzo del KC y el mínimo supremo	
P900	Tiempo transcurrido entre el comienzo del KC y el máximo supremo	
%Vigilia	Porcentaje de vigilia en el registro de toda la señal tomada	%
%S1	Porcentaje de S1 en el registro de toda la señal tomada	
%S2	Porcentaje de S2 en el registro de toda la señal tomada	
%S3	Porcentaje de S3 en el registro de toda la señal tomada	
Total	Tiempo del total de la señal grabada	
		min

Tabla 2.5: Eventos caracterizados para el análisis de los registros.

2.2.11. Análisis estadístico

Entrenamiento. El porcentaje de respuestas correctas fue analizado con ANOVA de Medidas Repetidas con “grupo” como factor inter-sujeto con dos niveles (sueño, control) y “ensayo” como variable intra-sujeto con nueve niveles (1-9). Dado que no cumplió con el criterio de esfericidad los grados de libertad así como el valor F y p se les aplicó la corrección de Greenhouse Geisser.

Cambio en la memoria al día 1 (CM1). Se calculó como el promedio de respuestas correctas sobre todas las respuestas en la evaluación 1 menos el número de respuestas correctas en el último ensayo del entrenamiento (Ecuación 2.1). El cambio en la memoria se analizó con Test de t de doble cola, $\alpha = 0.05$.

$$CM1^{**} = \frac{\sum_{i=1}^2 \#Correctas_{T1}^{ENi}}{2} - \#Correctas_{TR}^{EN9} \quad (2.1)$$

Siendo:

CM1: Cambio en la Memoria al día 1

EN*i*: Ensayo número *i*

T1: Evaluación del día 1

TR: Entrenamiento (día 1)

#Correctas: Cantidad de respuestas correctas por ensayo

Cambio en la memoria al día 7 (CM7). Se calculó como el promedio de respuestas correctas de todas las respuestas en la evaluación al día 7 menos el número de respuestas correctas en el último ensayo del entrenamiento (Ecuación 2.2). El cambio en la memoria se analizó con Test de t de doble cola, $\alpha = 0.05$.

$$CM7^{**} = \frac{\sum_{i=1}^2 \#Correctas_{T7}^{ENi}}{2} - \#Correctas_{TR}^{EN9} \quad (2.2)$$

Siendo:

CM7: Cambio en la Memoria al día 7

EN*i*: Ensayo número *i*

T7: Evaluación del día 7

TR: Entrenamiento (día 1)

#Correctas: Cantidad de respuestas correctas por ensayo

Cambio en la memoria entre evaluaciones (CMEv). Se calculó como el promedio de respuestas correctas de todas las respuestas en la evaluación a día 7 menos el promedio

**Recordar que las evaluaciones consisten en únicamente dos ensayos

de respuestas correctas de todas las respuesta en la evaluación del día 1 (Ecuación 2.3). El cambio en la memoria se analizó con Test de t de doble cola, $\alpha = 0.05$.

$$CMEv = \frac{\sum_{i=1}^2 \#Correctas_{T7}^{ENi}}{2} - \frac{\sum_{i=1}^2 \#Correctas_{T1}^{ENi}}{2} \quad (2.3)$$

Siendo:

CMEv: Cambio en la Memoria entre evaluaciones

ENi: Ensayo número i

T7: Evaluación del día 7

T1: Evaluación del día 1

#Correctas: Cantidad de respuestas correctas por ensayo

Cambio en el tipo de error al día 1 (CE1). Se calculó como el número de errores en blanco en el último ensayo del entrenamiento menos el promedio de errores en blanco de todas las respuestas en la evaluación al día 1 (Ecuación 2.4). El mismo calculo se realizó con el resto de los tipos de error. El cambio en el tipo de error se analizó con tres Test de t independientes de doble cola (para error en “blanco”, “intraalista” y “confusión”, $\alpha = 0.05$).

$$CE1 = \#Blanco_{TR}^{EN9} - \frac{\sum_{i=1}^2 \#Blanco_{T1}^{ENi}}{2} \quad (2.4)$$

Siendo:

CE1: Cambio en el tipo de error al día 1

ENi: Ensayo número i

TR: Entrenamiento (día 1)

T1: Evaluación del día 1

#Blanco: Cantidad de errores de tipo “blanco” (también hecho para error “intraalista” y “confusión”)

Cambio en el tipo de error al día 7 (CE7). Se calculó como el número de errores en blanco en el último ensayo del entrenamiento menos el promedio de errores en blanco de todas las respuestas en el día 7 (Ecuación 2.5). El mismo calculo se realizó con el resto de los tipos de error. El cambio en el tipo de error se analizó con tres Test de t independientes de doble cola (para error en “blanco”, “intralista” y “confusión”, $\alpha = 0.05$).

$$CE7 = \#Blanco_{TR}^{EN9} - \frac{\sum_{i=1}^2 \#Blanco_{T7}^{ENi}}{2} \quad (2.5)$$

Siendo:

CE7: Cambio en el tipo de error al día 7

EN*i*: Ensayo número *i*

TR: Entrenamiento (día 1)

T7: Evaluación del día 7

#Blanco: Cantidad de errores de tipo “blanco” (también hecho para error “intralista” y “confusión”)

Cambio en el tipo de error entre evaluaciones (CEev). Se calculó como el promedio de errores en blanco de todas las respuestas en la evaluación al día 1 menos el promedio de errores en blanco de todas las respuestas en el día 7 (Ecuación 2.6). El mismo calculo se realizó con el resto de los tipos de error. El cambio en el tipo de error se analizó con tres Test de t independientes de doble cola (para error en “blanco”, “intralista” y “confusión”, $\alpha=0.05$).

$$CEev = \frac{\sum_{i=1}^2 \#Blanco_{T1}^{ENi}}{2} - \frac{\sum_{i=1}^2 \#Blanco_{T7}^{ENi}}{2} \quad (2.6)$$

Siendo:

CEev: Cambio en el tipo de error entre evaluaciones

EN*i*: Ensayo número *i*

T1: Evaluación del día 1

T7: Evaluación del día 7

#**Blanco:** Cantidad de errores de tipo “blanco” (también hecho para error “intralista” y “confusión”)

Correlaciones. Se realizaron correlaciones de Pearson entre las diferentes características de los componentes del KC y las diferentes variables de memoria así como entre el porcentaje en las diferentes fases de sueño y las variables de memoria (Tabla 2.5). No se realizó corrección por múltiples correlaciones.

3. Resultados

3.1. Algoritmo de detección

3.1.1. Alto rendimiento del clasificador

Se evaluó la performance del clasificador a través de diferentes técnicas analíticas y gráficas.

Para realizar las validaciones cruzadas, se tomó todo el conjunto de datos de 212 muestras con sus respectivos *labels*, los cuales indican si son KC y o son no-KC. Se tomó aleatoriamente a la mitad de muestras para entrenar al modelo y la otra mitad para predecir qué etiqueta reciben según este clasificador. Luego, se calculó el *score*, el cual indica la eficiencia del clasificador:

$$SCORE = \frac{\#MuestrasPredichasCorrectamente}{\#TotalDeMuestras}$$

Siendo:

#MuestrasPredichasCorrectamente: Cantidad de muestras del subconjunto de datos a evaluar el modelo que recibieron una etiqueta igual a la que tiene originalmente por el etiquetado manual.

#TotalDeMuestras: Cantidad total de muestras aleatorias del subconjunto de datos con el que se evaluó el modelo (es decir, 106 muestras aleatorias de las 212 totales).

Este procedimiento de validación cruzada se realizó 10 veces.

Los *SCORES* obtenidos en cada validación fueron: 0.9623; 0.9245; 0.9434; 0.9528; 0.9528; 0.9245; 0.9528; 0.9717; 0.9245 y 0.9434 (0.9453 ± 1.6521). Estos resultados en promedio están por encima del 90%, por lo cual se puede asumir que el clasificador tiene un buen rendimiento para diferenciar el KC de otro tipo de ondas similares en la fase II del sueño NMOR.

Como procedimiento de control, se realizó una permutación de las etiquetas de manera aleatoria de las muestras que entrenan al modelo y luego se realizaron las mismas validaciones

cruzadas aleatorias que se describieron anteriormente para calcular estos nuevos puntajes. Estos fueron: 0.4906; 0.5283; 0.4340; 0.4434; 0.5094; 0.4151; 0.5472; 0.5094; 0.4340 y 0.4623 (0.4774 ± 1.6158). Esto indica que el clasificador entrenado tiene una buena *performance* y valida los puntajes arrojados por el clasificador.

Para calcular el rendimiento, también se calculó la curva ROC (*Receiver operating characteristics*) del clasificador (Fig. 3.1). Se puede observar que el valor del área bajo la curva (AUC) entre ambos es alto (0.99), lo que indica que la probabilidad de que el modelo generado clasifique un input de manera correcta es muy alto.

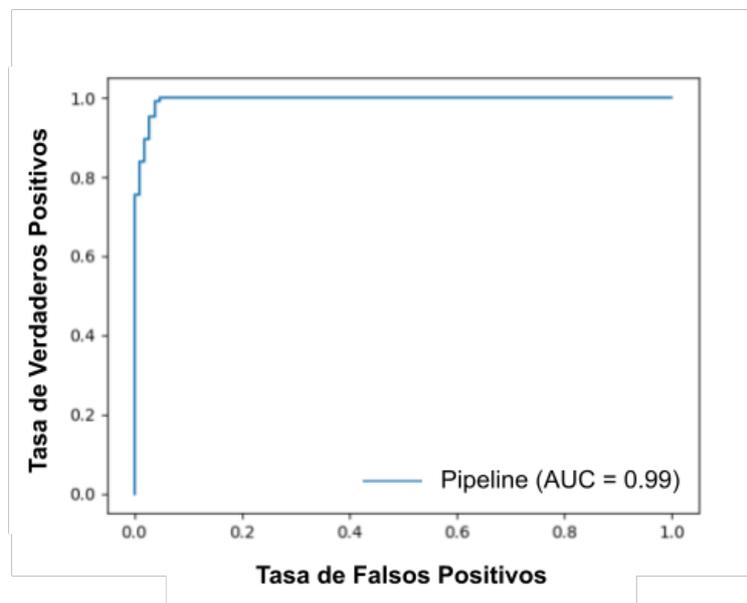


Figura 3.1: Curva ROC del clasificador entrenado con los registros polisomnográficos de los 8 sujetos mediante el pre-procesamiento planteado.

Por ende, con estos resultados podemos concluir que el modelo fue entrenado correctamente y que es capaz de clasificar los KC de los no-KC eficientemente. El siguiente paso, que se retoma más adelante, es probar este clasificador con otro set de datos perteneciente a otro grupo de personas y ver si se puede cumplir el aprendizaje por transferencia (“transfer learning”).

3.2. Experimentación

3.2.1. Dormir una siesta corta aumenta la persistencia de la memoria

Los grupos partieron de un mismo nivel de aprendizaje (Fig. 3.2A, ANOVA de Medidas Repetidas, $F_{grupo}(1,20)=0.77$, $p=0.39$, $\eta^2=0.037$; $F_{ensayo}(4,80)=28.89$, $p<0.001$, $\eta^2=0.59$; $F_{grupos\ ensayo}(4,80)=0.75$, $p=0.56$, $\eta^2=0.036$) y no se hallaron diferencias significativas en el cambio en la memoria entre el entrenamiento y la evaluación a corto término (Fig. 3.2B, $T_{20}=0.57$, $p=0.57$). Sin embargo, se observaron diferencias significativas en el cambio en la memoria al día 7 (Fig. 3.2C, $T_{20}=2.76$, $p=0.012$), así como también en el cambio en la memoria entre las evaluaciones a día 1 y a día 7 (Fig. 3.2D, $T_{20}=2.23$, $p=0.037$).

Estos resultados estarían indicando que la siesta diurna de 20 minutos, posterior al aprendizaje, favorece la persistencia de la memoria de los pares de sílabas.

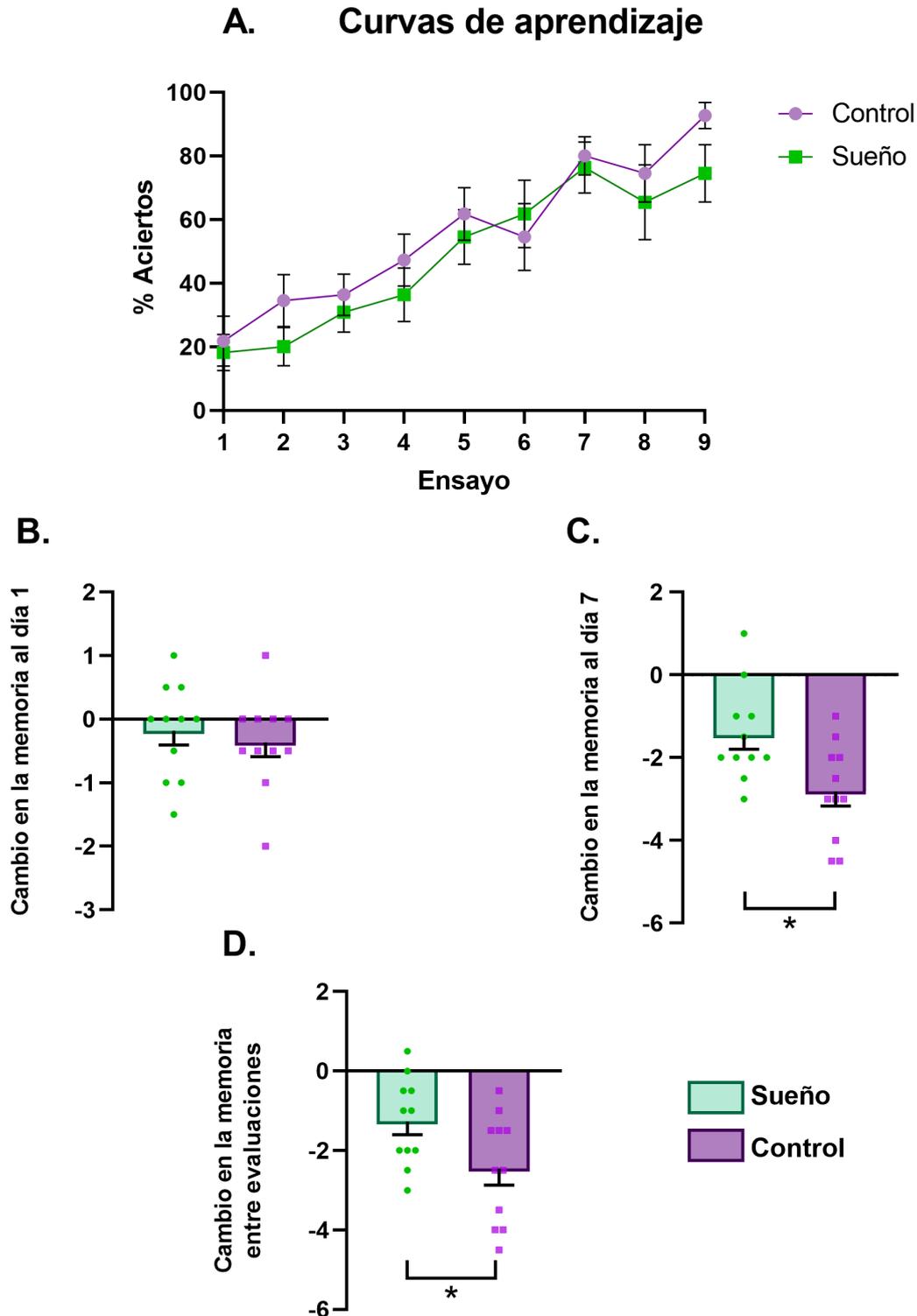


Figura 3.2: Rol del sueño en la consolidación de la memoria **A.** Curva de aprendizaje entre grupos. Se muestra la media y SEM del porcentaje de aciertos por grupo en cada uno de los 9 ensayos. **B** Cambio en la memoria entre el entrenamiento y la evaluación a corto término. **C** Cambio entre el entrenamiento y la evaluación del día 7. **D** Cambio en la memoria entre evaluación del día 7 y del día 1. *, $p < 0.05$.

3.2.2. La disminución del error en blanco refleja la mejora en la persistencia de la memoria

Tanto en el entrenamiento como en las evaluaciones distinguimos tres tipos de error: en blanco, cuando el sujeto no escribe ninguna sílaba-respuesta o escribe una letra o dos; intralista, cuando responden con una sílaba respuesta que corresponde a otra sílaba-clave de la lista; y confusión, cuando responden con una sílaba-respuesta que no pertenece a la lista. Así, analizamos el cambio en el tipo de error producido entre el entrenamiento y las evaluaciones a corto y largo término, así como el cambio del tipo de error entre evaluaciones. No se encontraron diferencias significativas para ninguno de los tipos de error respecto al cambio en la memoria al día 1 (Fig. 3.3A) Error en blanco: $T_{20}=-1.08$, $p=0.38$; Intralista: $T_{20} = -1.08$; $p=0.14$; Confusión: $T_{20} = -0.86$; $p=0.36$, respectivamente). Sin embargo se encontraron diferencias significativas para el error en blanco en el cambio en la memoria al día 7 (Fig. 3.3B, $T_{20}=-1.69$, $p=0.003$). No se hallaron diferencias significativas para el tipo de error intralista ($T_{20}=-0.52$, $p=0.41$) ni para el tipo de error confusión ($T_{20}=-1$, $p=0.41$). Respecto al cambio en la memoria entre evaluaciones, no se encontraron diferencias significativas en los tipos de error (Fig. 3.3C), $T_{20}=-1.33$, $p=0.31$; $T_{20}=-1.09$, $p=0.55$; $T_{20}=-0.30$, $p=0.42$, respectivamente).

Estos resultados estarían indicando que el aumento en la persistencia de la memoria a día 7 se vería reflejado en una disminución en el error en blanco.

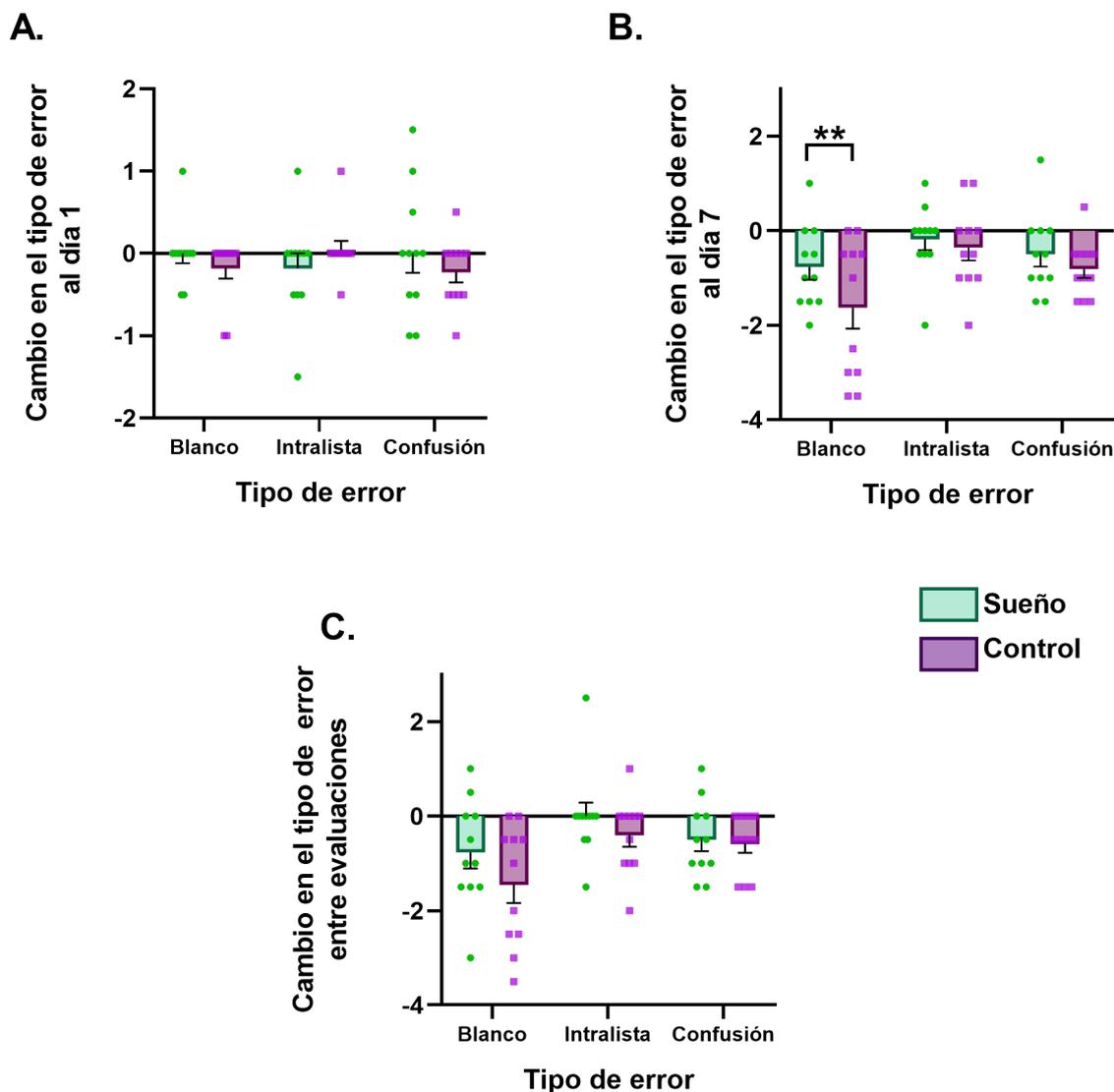


Figura 3.3: Cambio en el tipo de error segun cambio en la memoria. **A.** Cambio en el error entre la evaluación del día 1 y el entrenamiento. **B.** Cambio en el error entre la evaluación del día 7 y la evaluación del entrenamiento. **C.** Cambio en el error entre evaluación en el día 7 y la evaluación en el día 1. **, $p < 0.01$.

3.2.3. Correlaciones entre los diferentes componentes del KC y el cambio en la memoria

Se observaron correlaciones positivas significativas entre la pendiente 2 y el cambio en la memoria al día 1 (Fig. 3.4A, $r=0.68$; $p=0.002$) así como entre el Máximo Supremo y la Amplitud Pico a Pico y el cambio en la memoria al día 1 (Fig. 3.4B y 3.4C, $r=0.47$, $p=0.02$; $r=0.39$, $p=0.04$, respectivamente). Así, a mayor pendiente positiva, mayor despolarización

(mayor valor de máximo supremo) y mayor amplitud pico a pico de KC se observó una menor caída en la memoria entre el entrenamiento y la evaluación a corto término (día 1). No se observó ninguna otra correlación significativa entre los componentes del KC y el cambio en la memoria ($-0.56 < r < 0.50$, $p > 0.075$, tabla .3 del Apéndice). Tampoco se encontraron correlaciones significativas entre el porcentaje transcurrido en las diferentes fases del sueño y el cambio en la memoria ($-0.21 < r < 0.44$, $p > 0.18$, Tabla .3 Apéndice). El grupo sueño durmió en promedio $18,7 \pm 2,1$ minutos, de los cuales estuvo $24,7 \pm 6,3$ en por ciento del tiempo en fase I de sueño NMOR, $62,6 \pm 7,9$ en fase II, $7,1 \pm 3,7$ en fase III y $5,6 \pm 3,0$ en vigilia.

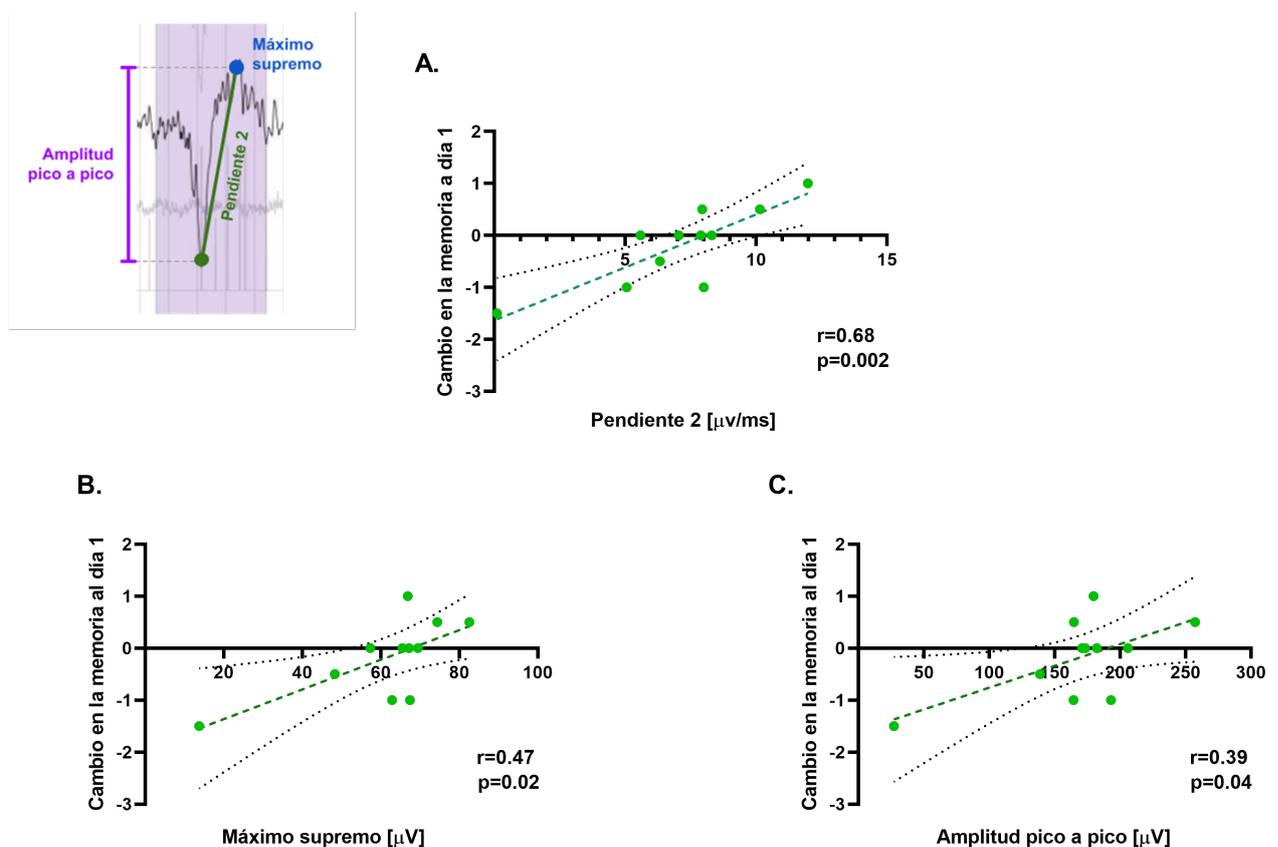


Figura 3.4: Correlaciones significativas entre componentes del KC y el cambio en la memoria al día 1. **A.** Correlación entre pendiente 2 y el cambio en la memoria al día 1. **B.** Correlación entre máximo supremo y el cambio en la memoria al día 1. **C.** Correlación entre la amplitud pico a pico y cambio en la memoria el día 1.

3.2.4. Distribución del sueño

En la Tabla 3.1 se colocaron los tiempos en minutos que durmió cada uno de los voluntarios del grupo experimental, en las distintas etapas, las cuales fueron vigilia, S1, S2 y S3 (en 4

sujetos) y el tiempo total.

Distribución del sueño					
<i>Sujeto</i>	Vigilia [min]	S1 [min]	S2 [min]	S3 [min]	Total [min]
S1	0	1.5	12	0	13.5
S2	4.5	10	1	0	15.5
S3	1.5	7	14	0	22.5
S4	0	1.5	15.5	4	21
S5	0	1.5	18	4	23.5
S6*	0	0	0	0	0
S7	2	6	2	0	10
S8	0	3	6	0	9.00
S9	0	1	13	8.5	22.5
S10	0.5	4	18	1	23.5
S11	0.5	3	9	0	12.5
S12	0	4	28	0	32

Tabla 3.1: Distribución del sueño en cada uno de los voluntarios del grupo experimental. *Se incluyó al S6 en la tabla de distribución del sueño por más de que fue eliminado del análisis para demostrar que el mismo no durmió

3.2.5. Escala de Sueño Stanford

No hubieron diferencias significativas en la escala de somnolencia de Stanford entre los grupos durante ninguna de las sesiones (Tabla 3.2, todos $p \geq 0.08$). Es decir, los grupos estuvieron con el mismo nivel de vigilancia en las diferentes sesiones.

Escala de somnolencia de Stanford		
	Antes del entrenamiento	Antes del primer testeo
Control	3.00±0.89	2.73±0.91
Sueño	3.18±1.54	2.09±0.70
Valor p	p=0.738	p=0.08

Tabla 3.2: Promedio de los valores de la escala de somnolencia de Stanford \pm Desvío Estándar y valor-p para T-Test de muestras independientes.

3.3. Transfer Learning

Por último, se evaluó el rendimiento del algoritmo de localización de KC con este nuevo *set* de registros polisomnográficos. Se tomo en cuenta las siguientes definiciones para detectar si las etiquetas colocadas por el algoritmo fueron correctas o no:

- **Verdadero Positivo (VP):** El algoritmo detecta la presencia de un KC y el etiquetado manual confirma que allí hay un KC.
- **Verdadero Negativo (VN):** El algoritmo de localización detecta la presencia de un KC pero el detector (es decir, pasar ese posible candidato por el clasificador) confirma que no hay un KC en ese punto y el etiquetado manual también dice que no hay un KC en ese punto,
- **Falso Positivo (FP):** El algoritmo de clasificación detecta la presencia de un KC en un punto que es posible candidato, pero el etiquetado manual rechaza que sea un KC esa muestra.
- **Falso Negativo (FN):** El algoritmo no detecta la presencia de un KC donde el etiquetado manual sí detecta. En este caso puede ser por el clasificador o por el algoritmo de localización.

En la Figura 3.5 se pueden ver ejemplos de VP, VN, FP y FN encontrados en los registros de algunos sujetos. En el canal “C4” se observa la señal de EEG del electrodo en dicha posición; en el canal “Filtrada” se observa la señal con el algoritmo de pre-procesamiento aplicado; en el canal “KC labeled” se observa el etiquetado manual realizado; en el canal “Flags” se observa los resultados del localizador; en el canal “KC detected” se observa los resultados del algoritmo de detección (localizador + clasificador).

<i>Sujeto</i>	<i>VP</i>	<i>VN</i>	<i>FP</i>	<i>FN</i>	<i>KC detectados</i>	<i>Posibles candidatos</i>	<i>KC total</i>
S1	15	21	7	1	22	44	16
S2	13	63	7	3	20	86	16
S3	31	83	32	4	63	150	35
S4	45	92	38	6	83	181	51
S5	3	20	3	0	6	26	3
S7	21	57	23	9	44	110	30
S8	32	102	45	5	77	184	37
S9	6	32	12	1	18	51	7
S10	1	6	1	0	2	8	1
S11	23	27	38	1	61	89	24
S12	1	4	2	0	3	7	1
TOTAL	191	507	208	30	399	936	221

Tabla 3.3: Resultados arrojados por el algoritmo de detección de KC y el etiquetado manual de KC en etapa II del sueño de los sujetos del grupo experimental.

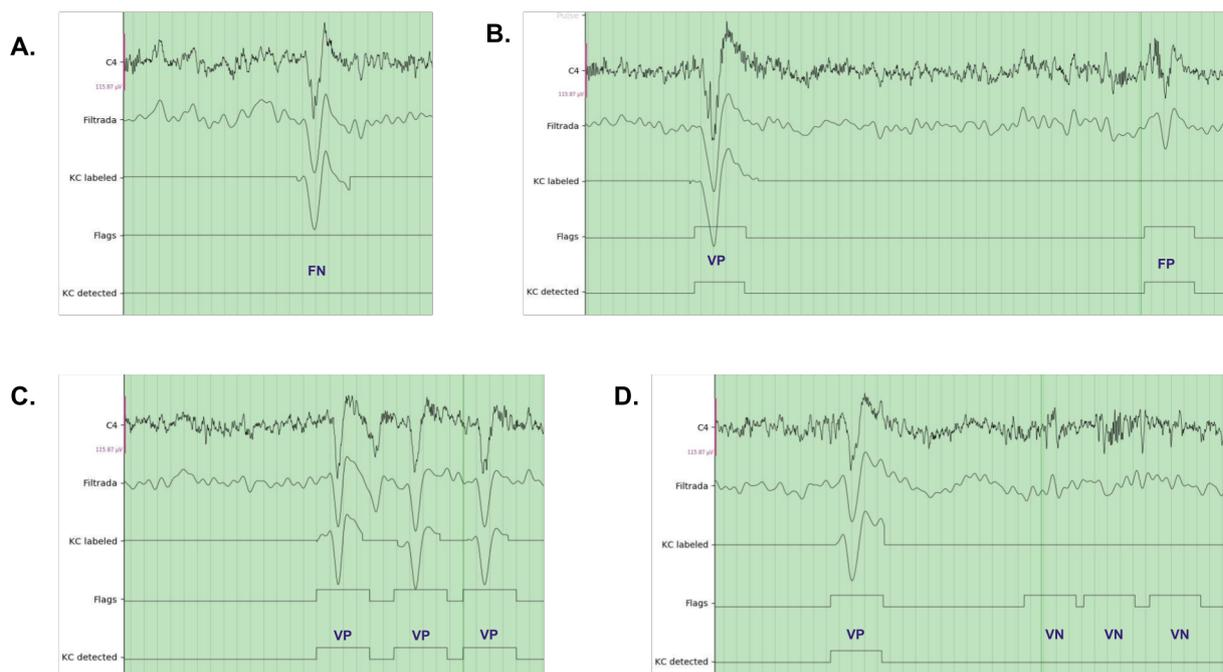


Figura 3.5: Ejemplos de resultados arrojados por el algoritmo de detección de KC. **A.** Ejemplo de un falso negativo (FN) debido a que no pudo ser ubicado por el algoritmo de localización. **B.** Ejemplo de un verdadero positivo (VP) detectado por el algoritmo y un falso positivo (FP) que el clasificador binario no pudo detectar como no-KC. **C.** Ejemplo de tres verdaderos positivos (VP) detectados por el algoritmo. **D.** Ejemplo de un verdadero positivo (VP) que pudo detectar el algoritmo y 3 verdaderos negativos (VN) que el algoritmo de localización detectó pero el clasificador detectó como no-KC correctamente.

A partir de la Tabla 3.3, la cantidad total de VP, VN, FP y FN se puede calcular la sensibilidad, especificidad, el valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) del algoritmo en este nuevo set de datos:

$$Sensibilidad = \frac{VP}{VP + FN} = 86.43\%$$

$$Especificidad = \frac{VN}{VN + FP} = 70.90\%$$

$$VPP = \frac{VP}{VP + FP} = 47.87\%$$

$$VPN = \frac{VN}{VN + FN} = 94.41 \%$$

Es importante destacar que los anteriores valores fueron calculados sobre el rendimiento general del algoritmo, es decir, sobre todos los registros. En la Tabla 3.3 se puede notar que en realidad los valores detectados como VP, VN, FP y FN tiene una alta variabilidad sujeto a sujeto, lo cual es esperable debido a las características propias de las señales electroencefalográficas. En la Tabla 3.4 se puede observar cómo el rendimiento del algoritmo en realidad varía según el sujeto.

<i>Sujeto</i>	Especificidad	Sensibilidad	VPP	VPN
S1	0.7500	0.9375	0.6818	0.9545
S2	0.9000	0.8125	0.6500	0.9545
S3	0.7217	0.8857	0.4921	0.9540
S4	0.7077	0.8824	0.5422	0.9388
S5	0.8696	1.0000	0.5000	1.0000
S7	0.7125	0.7000	0.4773	0.8636
S8	0.6939	0.8649	0.4156	0.9533
S9	0.7273	0.8571	0.3333	0.9697
S10	0.8571	1.0000	0.5000	1.0000
S11	0.4154	0.9583	0.3770	0.9643
S12	0.6667	1.0000	0.3333	1.0000

Tabla 3.4: Cálculo de sensibilidad, especificidad, VPP y VPN para cada sujeto.

A pesar de la alta variabilidad del rendimiento del algoritmo, se puede observar que el algoritmo de detección desarrollado puede detectar con una alta sensibilidad y especificidad, como también predecir confiablemente cuando detecta que un input es un no-KC.

4. Discusión

4.1. Algoritmo de apoyo para etiquetado manual de KC

Se puede observar que el valor de sensibilidad que posee el algoritmo es considerablemente alto (70.90 %), por ende se puede concluir que el detector automático de KC tiene una gran capacidad para detectar la presencia de estos complejos. El valor de especificidad es también alto (86.43 %), por ende el algoritmo tiene una alta capacidad para detectar cuando la señal analizada no es un KC (no-KC). Por otro lado, los valores predictivos brindan información sobre la probabilidad de que el resultado que devuelve el algoritmo sea correcto. Los resultados indican que cuando el algoritmo detecta que una muestra es un KC, hay una probabilidad del 48 % que esto sea verdad. Por otro lado, el VPN es notablemente alto, lo cual indica que cuando el algoritmo detecta que una muestra no es un KC, hay una probabilidad mayor al 94 % que esto sea verdad.

En la Tabla 3.3 se puede observar que los KC detectados por el algoritmo son notablemente menor en cantidad al número de posibles candidatos (que son detectados por el algoritmo de localización). Este efecto se debe a la alta eficiencia del clasificador entrenado con los algoritmos de aprendizaje automático, lo que refuerza que se pudo realizar “*transfer learning*” entre dos bases de datos distintas.

Por otro lado, se pudo observar que el clasificador que fue entrenado con 8 sujetos del estudio de [Forcato et al., 2020], tiene una limitación similar a la que encuentra un experto al etiquetar de manera manual: ondas morfológicamente similares a los KC son difíciles de diferenciar de lo que es realmente un KC. Hay ciertos tipos de ondas lentas que no pueden ser fácilmente diferenciadas de los KC y por ende, se pueden etiquetar de manera manual como automática por este clasificador, como un KC. En el ejemplo de la Figura 4.1 se puede observar como el detector etiqueta a la onda analizada. Si se observa su morfología podría encasillarse tanto como onda lenta propiamente dicha o como un KC.

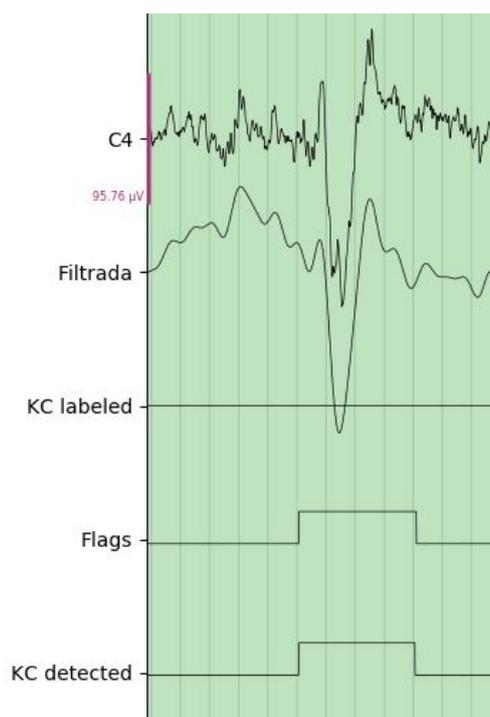


Figura 4.1: Detección de KC. En el canal “C4” se puede observar la señal de EEG del electrodo en dicha posición; en el canal “Filtrada” se observa la señal con el algoritmo de pre-procesamiento aplicado; en el canal “KC labeled” se observa el etiquetado manual realizado; en el canal “Flags” se observa los resultados del localizador; en el canal “KC detected” se observa los resultados del algoritmo de detección (localizador + clasificador).

A raíz de todos esto, se puede plantear que el algoritmo desarrollado es un importante soporte que puede tener en cuenta una persona para realizar etiquetado de KC de manera manual. Siendo el algoritmo muy eficiente para indicar donde en realidad no hay KC y dando un apoyo a la hora de detectar la presencia de un KC.

4.2. Siestas cortas para disminuir la caída de memorias declarativas

Por otro lado, en la parte experimental del presente Trabajo Final de Carrera pudimos demostrar que siestas cortas, de entre 9 a 23.5 min (18.7 ± 2.1) son suficientes para mejorar la consolidación de memoria declarativa a largo (Figuras 3.2C y 3.2D) pero no a corto término (Figura 3.2B). Esto último se debe a que la memoria, al haber sido recientemente adquirida y habiendo tenido en ambos grupos un nivel de aprendizaje alto (Figura 3.2A) pudo provocar que la misma se mantuviese en esos niveles de buena retención pasados los 20 minutos de su aprendizaje. Así, si bien no se observaron diferencias significativas a

corto plazo entre el grupo sueño y el grupo control, se encontró que a mayor pendiente 2 (pendiente positiva del KC), a mayor máximo supremo o a mayor amplitud pico a pico de los KC durante la siesta posterior al aprendizaje, menor la caída en la memoria al día 1 (Figura 2.12). Estas correlaciones positivas entre estas características del componente de la fase de despolarización del KC con la memoria, podrían interpretarse en base a los resultados que muestran que los *sharp-wave ripples*, anidados en los husos de sueño rápidos, en la despolarización de las ondas lentas podrían dar lugar a la generación de Potenciación de Largo Plazo [Rosanova and Ulrich, 2005], es decir, un aumento en la comunicación entre neuronas, que muchos investigadores consideran que es la base que subyace a los procesos de formación de memorias [Kandel and Squire, 2000].

Cabe destacar que si bien se encontraron las correlaciones significativas recientemente citadas las mismas no explican la menor caída en la memoria a día 7 para el grupo que durmió siesta. Sin embargo, podemos especular que las reactivaciones espontáneas que pudieron ocurrir durante esa siesta corta, marcaron a la memoria para posiblemente ser reforzada durante la vigilia o el sueño posterior. Recientemente, [Forcato et al., 2020] demostraron que reactivaciones de la memoria declarativa durante el sueño profundo producían una mejora a largo plazo independientemente de si el tiempo posterior a la reactivación se completaba con un período de sueño o de vigilia. Por otro lado, la mejora en la persistencia se evidenció como una caída en los errores en blanco. En cuanto a este último punto, se ha demostrado que utilizando el mismo paradigma experimental en un protocolo clásico de reconsolidación, el aumento en la persistencia de la memoria (evaluada a día 7) también se refleja como una caída en los errores en blanco [Forcato et al., 2013]. Es decir, ya sea una mejora producida a través del proceso de reactivación/reconsolidación durante la vigilia o por una mejora de la consolidación durante el sueño, los sujetos tienen acceso a los pares de sílabas adquiridos previamente por más tiempo comparado con el grupo control (grupo sin reactivación, o grupo control vigilia, respectivamente). Por otro lado, la similitud entre los resultados en el tipo de error, inducidos por la reactivación de la memoria en vigilia o por la mejora durante el sueño posterior al aprendizaje, permite suponer que esta última podría deberse a reactivaciones espontáneas de la memoria, incluso en siestas cortas de 9-23.5 min, en las que predomina la fase II de sueño NMOR. La hipótesis de la consolidación activa de la memoria, plantea que durante el SOL,

la información recientemente adquirida se reactiva espontáneamente en el hipocampo, transfiriéndose hacia la neocorteza y redistribuyéndose en circuito cortico-corticales, por lo que nuevamente se acoplaría a nuestra hipótesis; esto se puede ver en la caída en los errores en blanco ya que durante el sueño posterior al aprendizaje, se reactivaría esta información en el hipocampo y se transferiría a la corteza, generando una mejora en la consolidación de la misma, gracias al fortalecimiento de las conexiones cortico-corticales.

Gran parte de la metodología actual evalúa el rendimiento de la memoria en estudios de sueño nocturno completo, siestas de 3 horas, de 90 y de 40 minutos [Diekelmann et al., 2012]. Observando aumento significativo en el rendimiento de la memoria, recién a partir de los 90 minutos [Diekelmann and Born, 2010, Rasch et al., 2007, Rudoy et al., 2009]. Con lo que se llega a la conclusión de que es necesario el sueño profundo para generar mejoras en la caída de memoria. Cabe aclarar que la reactivación de memoria en dichos estudios se realizó solamente a corto término. Por el contrario, nosotros evaluamos el efecto de siestas de una duración entre 9 a 23.5 min (18.7 ± 2.1) a largo término, obteniendo resultados significativos en el cambio de memoria. Apoyando nuestros resultados, hay evidencia previa que apoya el hecho de que no hace falta llegar a sueño profundo para que se produzcan mejoras en la consolidación de la memoria y con siestas de duración de 6 minutos, se produce una mejora en dicha consolidación [Lahl et al., 2008].

Nuestros resultados tienen una aplicación directa en la escolarización, ya que podrían implementarse siestas cortas dentro de las aulas, luego del aprendizaje, con el fin de producir una mejora en la consolidación de la memoria de los estudiantes. Así mismo, siestas cortas en el aula, no solo mejorarían la consolidación de lo aprendido, sino que facilitarían el aprendizaje posterior a la siesta [Tononi and Cirelli, 2014].

4.3. ¿Onda lenta o Complejo K?

Dado que en nuestro protocolo la mayoría de los sujetos no llegó a tener fase III de sueño (solo 4 sujetos), la posibilidad de un etiquetado diferencial de KC fue alta. Por lo tanto, las correlaciones significativas con el componente de despolarización y la memoria a corto término fueron precisamente debidas a la presencia de Complejos K. Sin embargo, en todos los trabajos publicados hasta el momento, en el cálculo de la potencia o número de ondas lentas, siempre cayeron los KC dentro de la clasificación de ondas lentas [Cash

et al., 2009, Leminen et al., 2017] .

Por otro lado, dado que los Complejos K se desencadenan mediante la participación de las vías sensoriales ascendentes y el sistema de activación reticular, con su acción difusa sobre el sistema talamocortical, se los ha propuesto como facilitadores del reclutamiento sincrónico de poblaciones neuronales distantes [Riedner and Tononi, 2007]. Así, nosotros postulamos que los KC serían los principales eventos oscilatorios que median el diálogo hipocampo-cortical durante el sueño.

4.4. Limitaciones

La limitación más importante de nuestro estudio fueron el número de sujetos investigados. Debido al contexto mundial de pandemia, se tuvo que reducir la muestra original de sujetos, ya que para un control y análisis adecuado debieron espaciar las siestas entre sujetos y se alargó el tiempo entre cada toma de datos. Otra limitación fue en la definición de Complejo K; en su identificación de características y en la determinación si la onda seleccionada pertenecía o no a la familia de los KC. También queremos aclarar que las correlaciones que mencionamos en el presente trabajo hay que tomarlas con cautela ya que no aplicamos corrección de Bonferroni para múltiples correlaciones.

5. Epílogo

La elaboración del presente Proyecto Final de Carrera surgió del interés personal de ahondar nuestro conocimiento en temas relacionados a la neurociencia y al procesamiento de señales electrofisiológicas. Durante el transcurso de la carrera, adquirimos una robusta base de conocimientos y herramientas para afrontar desafíos en materia de tecnología aplicada a la biología y medicina. En consecuencia, creemos que el desarrollo del presente trabajo fue una magnífica oportunidad de recapitular todo lo aprendido y relacionarlo con estas dos temáticas.

A fines del 2019, abrió el Laboratorio de Sueño y Memoria en el ITBA. En cuanto lo supimos, decidimos ponernos en contacto con la Directora del laboratorio, *Dra. Cecilia Forcato*. Ella nos explicó que hay un limitado conocimiento en la comunidad científica sobre los Complejos K durante el sueño y que su aparición podría estar relacionada a la consolidación de la memoria. Por lo cual, nos propuso desarrollar un algoritmo que permita detectar a este tipo de onda lenta. También nos incorporó a su equipo de trabajo y nos brindó una formación constante en esta rama de la neurociencia que hasta ese entonces era poco conocida por nosotras. Por otro lado, nos puso en contacto con el *Dr. Rodrigo Ramele*, miembro del Centro de Inteligencia Computacional (CiC) del ITBA. Él nos comentó la importancia de incorporar técnicas de Aprendizaje Automático en el algoritmo para obtener óptimos resultados y también nos brindó la bibliografía e instrucciones necesarias para trabajar con herramientas informáticas de vanguardia. Por estos motivos, elegimos a ambos como tutores de nuestro Proyecto Final de Carrera y creemos que la realización del mismo no hubiera sido posible sin sus aportes.

Referencias

- Support vector machine. URL <https://scikit-learn.org/stable/modules/svm.html>.
- P. Achermann and A. A. Borbely. Low-frequency (<1 hz) oscillations in the human sleep electroencephalogram. 1997. doi: [https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(97\)00186-3](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(97)00186-3).
- F. Amzica and M. Steriade. The functional significance of k-complexes. *Sleep Medicine Reviews*. Vol 6, 2002. doi: <https://doi.org/10.1053/smr.v.2001.0181>.
- S. Azmeh, W. Kate, M. Shai, and S. C. M. Stop, that and one hundred other sleep scales; stanford sleepiness scale (SSS). 2012. doi: [10.1007/978-1-4419-9893-4_91](https://doi.org/10.1007/978-1-4419-9893-4_91).
- G. Bernardi, F. Siclari, G. Handjaras, B. A. Riedner, and G. Tononi. Local and widespread slow waves in stable NREM Sleep: Evidence for Distinct Regulation Mechanisms. 2008. doi: <https://doi.org/10.3389/fnhum.2018.00248>.
- M. Bonilla, C. I. Jorge, M. D. Moyano, and C. Forcato. Modificación de memorias maladaptativas durante el sueño y la vigilia: una visión interdisciplinaria. 2020.
- J. Born and I. Wilhelm. System consolidation of memory during sleep. 2012. doi: [10.1007/s00426-011-0335-6](https://doi.org/10.1007/s00426-011-0335-6).
- J. Born, B. Rasch, and S. Gais. Sleep to remember. 2006. doi: <https://doi.org/10.1177/1073858406292647>.
- S. S. Cash, E. Halgren, and I. Ulbert. The human k-complex represents an isolated cortical down-state. 2009. doi: [10.1126/science.1169626](https://doi.org/10.1126/science.1169626).
- R. Charles, K. Harris, J. Millman, J. S. van der Walt, R. Gommers, P. Virtanen, D. Cournapeau, E. Wieser, J. Taylor, S. Berg, N. J. Smith, R. Kern, M. Picus, S. Hoyer, M. H. van Kerkwijk, M. Brett, A. Haldane, J. F. del Río, M. Wiebe, P. Peterson, P. Gérard-Marchant, K. Sheppard, T. Reddy, W. Weckesser, H. Abbasi, C. Gohlke, and T. E. Oliphant. Array programming with numpy. 2020. URL <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2649-2>.
- I. M. Colrain. The K-Complex: A 7-decade history. 2015. doi: [10.1093/sleep/28.2.255](https://doi.org/10.1093/sleep/28.2.255).

- S. Diekelmann and J. Born. The memory function of sleep. 2010. doi: <https://doi.org/10.1038/nrn2762>.
- S. Diekelmann, S. Biggel, B. Rasch, and J. Born. Offline consolidation of memory varies with time in slow wave sleep and can be accelerated by cuing memory reactivations. 2012. doi: [10.1016/j.nlm.2012.07.002](https://doi.org/10.1016/j.nlm.2012.07.002).
- Y. Dudai. Memory from a to z: Keywords, concepts, and beyond. 2004. doi: [10.1111/j.1468-1331.2004.00931](https://doi.org/10.1111/j.1468-1331.2004.00931).
- Y. Dudai and R. Morris. To consolidate or not to consolidate: What are the questions? 2000.
- S. Duss, T. Reber, J. Hänggi, S. Schwab, R. Wiest, R. Müri, and K. Henke. Unconscious relational encoding depends on hippocampus. 2014.
- J. M. Ellenbogen, J. C. Hulbert, Y. Jiang, and R. Stickgold. The sleeping brain's influence on verbal memory: boosting resistance to interference. 2009. doi: [10.1371/journal.pone.0004117](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0004117).
- C. Forcato, V. L. Burgos, P. F. Argibay, V. A. Molina, M. E. Pedreira, and H. Maldonado. Reconsolidation of declarative memory in humans. 2007. doi: [10.1101/lm.486107](https://doi.org/10.1101/lm.486107).
- C. Forcato, R. S. Fernandez, and M. E. Pedreira. The role and dynamic of strengthening in the reconsolidation process in a human declarative memory: What decides the fate of recent and older memories? 2013. doi: [10.1371/journal.pone.0061688](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061688).
- C. Forcato, J. G. Klinzing, J. Carbone, M. Radloff, F. D. Weber, J. Born, and S. Diekelmann. Reactivation during sleep with incomplete reminder cues rather than complete ones stabilizes long-term memory in humans. 2020. doi: <https://doi.org/10.1038/s42003-020-01457-4>.
- D. Forget, C. M. Morin, and C. H. Bastien. The role of the spontaneous and evoked k-complex in good-sleeper controls and in individuals with insomnia. 2011. doi: [10.5665/sleep.1250](https://doi.org/10.5665/sleep.1250).
- L. D. Gennarof and M. Ferrara. Sleep spindles: an overview. 2003. doi: <https://doi.org/10.1053/smr.2002.0252>.

- A. Gramfort, M. Luessi, E. Larson, D. Engemann, D. Strohmeier, C. Brodbeck, R. Goj, M. Jas, T. Brooks, L. Parkkonen, and M. Hämäläinen. MEG and EEG data analysis with MNE-Python. 2013. URL <https://mne-tools.github.io/0.13/index.htm>.
- F. Gustafsson. Determining the initial states in forward-backward filtering. 1996.
- K. Henke. A model for memory systems based on processing modes rather than consciousness. 2010.
- F. Jacobacci, J. L. Armonyb, A. Yeffala, G. Lerner, E. Amaro, J. Jovicichd, J. Doyone, and V. Della-Maggiorea. Rapid hippocampal plasticity supports motor sequence learning. 2020. doi: 10.1073/pnas.2009576117.
- E. R. Kandel and L. R. Squire. Neuroscience: Breaking down scientific barriers to the study of brain and mind. 2000. doi: <https://doi.org/10.1126/science.290.5494.1113>.
- J. G. Klinzing, B. Rasch, J. Born, and S. Diekelmann. Sleep’s role in the reconsolidation of declarative memories. 2016. doi: 10.1016/j.nlm.2016.10.004.
- J. M. Krueger, M. G. Frank, J. P. Wisor, and S. Roy. Sleep function: Toward elucidating an enigma. 2016. doi: <https://doi.org/10.1016/j.smr.2015.08.005>.
- O. Lahl, C. Wispel, B. Willigens, and R. Pietrowsky. An ultra short episode of sleep is sufficient to promote declarative memory performance. 2008. doi: :10.1111/j.1365-2869.2008.00622.x.
- M. Laurino and A. Gemignani. Disentangling different functional roles of evoked k-complex components: Mapping the sleeping brain while quenching sensory processing. 2014. doi: 10.1016/j.neuroimage.2013.10.030.
- M. M. Leminen, V. Jussi, S. Emma, P. Teemu, Z. P. C., S. Giovanni, H. Christer, M. Kiti, P.-H. Tarja, H. Minna, and P. Tiina. Enhanced memory consolidation via automatic sound stimulation during non-rem sleep. 2017. doi: <https://doi.org/10.1093/sleep/zsx003>.
- M. D. Manzar, M. M. Rajput, and M. E. Hussain. Spontaneous k-complex density in slow-wave sleep. 2016. doi: 10.1371/journal.pone.0150929.
- Matplotlib. Visualization with python. URL <https://matplotlib.org/>.

- M. Moyano. Rol del sueño en la reconsolidación de la memoria declarativa. universidad nacional de quilmes. 2017.
- M. D. Moyano, S. Diekelmann, M. E. Pedreira, and C. Forcato. Sleep accelerates re-stabilization of human declarative memories. 2019. doi: <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2019.04.012>.
- M. Mölle, L. Marshall, S. Gais, and J. Born. Grouping of spindle activity during slow oscillations in human Non-Rapid Eye Movement Sleep. doi: [10.1523/jneurosci.22-24-10941.2002](https://doi.org/10.1523/jneurosci.22-24-10941.2002).
- M. Mölle, L. Marshall, S. Gais, , and J. Born. Learning increases human electroencephalographic coherence during subsequent slow sleep oscillations. 2004.
- K. Nader, G. Schafe, and J. Doux. Fear memories require protein synthesis in the amygdala for reconsolidation after retrieval. *Nature*. Vol. *406(6797)*, 2000.
- B. Rasch and J. Born. About sleep's role in memory. 2013. doi: [10.1152/physrev.00032.2012](https://doi.org/10.1152/physrev.00032.2012).
- B. Rasch, C. Büchel, S. Gais, and J. Born. Odor cues during slow-wave sleep prompt declarative memory consolidation. 2007. doi: [10.1126/science.1138581](https://doi.org/10.1126/science.1138581).
- T. P. Reber, R. Luechinger, P. Boesiger, and K. Henke. Detecting analogies unconsciously. *Frontiers in Behavioral Neuroscience Vol 8.9*, 2014.
- A. Rechtschaffen and A. Kales. A manual of standardized terminology, techniques, and scoring system for sleep stages of human subject. 1968. doi: [10.1001/archpsyc.1969.01740140118016](https://doi.org/10.1001/archpsyc.1969.01740140118016).
- B. A. Riedner and V. G. Tononi. Sleep homeostasis and cortical synchronization: Iii. a high-density EEG study of sleep slow waves in humans. 2007.
- M. Rosanova and D. Ulrich. Pattern-specific associative long-term potentiation induced by a sleep spindle-related spike train. 2005. doi: [10.1523/JNEUROSCI.2149-05.2005](https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2149-05.2005).
- J. D. Rudoy, C. E. Westerberg, and K. A. Paller. Strengthening individual memories by reactivating them during sleep. 2009. doi: [10.1126/science.1179013](https://doi.org/10.1126/science.1179013).
- S. Sanei and J. A. Chambers. EEG signal processing. 2013.

- R. Sepulveda, Gutierrez, and O. Castillo. Classification of encephalographic signals using artificial neural networks. 2015. doi: 10.13053/CyS-19-1-1570.
- J. M. Siegel. Clues to the functions of mammalian sleep. 2005. doi: <https://doi.org/10.1038/nature04285>.
- L. R. Squire and A. J. Zola-Morgan. Conscious and unconscious memory systems. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. Vol., 7, 2015.
- L. R. Squire and S. M. Zola. Structure and function of declarative and nondeclarative memory systems. 1996.
- G. Tononi and C. Cirelli. Sleep and the price of plasticity: From synaptic and cellular homeostasis to memory consolidation and integration. 2014. doi: [doi:10.1016/j.neuron.2013.12.025](https://doi.org/10.1016/j.neuron.2013.12.025).
- E. Tulving. Episodic and semantic memory. 1, 1972.
- B. I. Turetsky and J. R. G. Fein. Noise and signal power and their effects on evoked potential estimation. 1988. doi: [10.1016/0168-5597\(88\)90032-9](https://doi.org/10.1016/0168-5597(88)90032-9).
- A. Vorster and J. Born. Sleep and memory in mammals, birds and invertebrates. 2015. doi: [10.1016/j.neubiorev.2014.09.020](https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2014.09.020).
- S. Wuethrich, D. E. Hannula, F. W. Mast, and K. Henke. Subliminal encoding and flexible retrieval of objects in scenes. 2018.

Apéndice

<i>Sujeto</i>	% <i>Overlapping</i>		
	25 %	50 %	100 %
S11	6.322 s	9.278 s	18.530 s
S12	6.704 s	9.709 s	19.801 s
S17	6.142 s	9.225 s	18.286 s
S21	5.862 s	8.560 s	17.300 s
S28	4.997 s	7.724 s	15.419 s
S36	10.233 s	15.539 s	29.234 s
S37	8.294 s	12.043 s	25.541 s
S40	6.443 s	8.394 s	17.064 s

Tabla .1: Tiempo de cómputo del pre-procesamiento diseñado según los distintos overlappings entre ventanas para cada sujeto.

<i>Parámetro</i>	Pend1 [$\frac{\mu V}{ms}$]	Pend2 [$\frac{\mu V}{ms}$]	Pend3 [$\frac{\mu V}{ms}$]	App [μV]	Dur total [ms]	Max [μV]	Min [μV]	Dur min-max [ms]
Promedio	572.39	11.15	197.41	188.54	970.65	70.75	- 117.80	456.89
Mínimo	38.30	4.61	30.33	80.66	523.06	20.52	- 39.45	145.00
Máximo	1581.08	21.36	732.22	412.90	1569.18	160.27	- 279.41	880.00

Tabla .2: Valor medio, máximo y mínimo de todas las características morfológicas evaluadas en todos los KC etiquetados de los 8 sujetos: pendiente 1 (Pend 1)

	Cambio en la memoria al día 1		Cambio en la memoria al día 7		Cambio en la memoria entre evaluaciones	
	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>
Características de los KC						
Pendiente 1	0,40	0,28	0,90	-0,04	0,48	-0,24
Pendiente 2	0,00	,827**	0,33	0,32	0,51	-0,23
Pendiente 3	0,66	0,15	0,76	-0,11	0,53	-0,21
Amplitud pico a pico	0,04	,623*	0,14	0,48	0,83	0,07
Duración KC	0,52	0,22	0,12	0,50	0,26	0,37
Máximo supremo	0,02	,687*	0,34	0,32	0,69	-0,13
Mínimo supremo	0,08	-0,56	0,10	-0,52	0,62	-0,17
P200	0,53	-0,21	0,53	-0,21	0,82	-0,08
N500	0,98	0,01	0,55	0,20	0,55	0,20
P900	0,94	-0,03	0,40	0,28	0,35	0,31
Distribución del Sueño						
%S1	0,18	0,44	0,62	0,17	0,72	-0,12
%S2	0,54	-0,21	0,92	0,04	0,60	0,18
%S3	0,67	-0,15	0,43	-0,27	0,60	-0,18
Total	0,37	-0,06	0,81	0,08	0,57	0,19

Tabla .3: Resultados de la correlación de Pearson entre los distintos parámetros analizados. El valor **r** corresponde al coeficiente de Correlación de Pearson

ESCALA DEL GRADO DE SOMNOLENCIA

Test del estado de alerta

Este test es una forma rápida de detectar cuán alerta te sentís.

Usando una escala del 1 al 7 (detallada abajo) elegí la opción que mejor represente cómo te sentís en este momento.

Escala de grado de somnolencia

GRADO DE SOMNOLENCIA	GRAD DE ESCALA
Me siento activo, vital, alerta, o bien despierto	1
Funcionando a niveles altos, pero no completamente alerta	2
Despierto, pero relajado; sensible, pero no completamente alerta	3
Un poco confundido, decepcionado	4
Confundido; pierdo interés en permanecer despierto; ralentizado	5
Somnoliento, mareado, luchado contra el sueño; prefiero recostarme	6
Ya no lucho contra el sueño, comenzaré a dormirme pronto; tengo pensamientos como sueños	7
Dormido	X