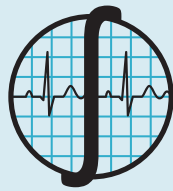




ib

REVISTA MEXICANA DE **Ingeniería** **Biomédica**

- **Medicina Regenerativa para Úlceras Crónicas: Aplicación Cutánea de Células Troncales Mesenquimales de Gelatina de Wharton**
- **Simulación Mediante Elemento Finito de Sistemas Intramedulares Telescópicos para Rehabilitación de Pacientes con Osteogénesis Imperfecta**
- **Towards designing Brain-Computer Interfaces in terms of User-Profiles, Neurophysiological Factors and User Experience**
- **A modelling study of glycolytic oscillations and electrical activity in pancreatic alpha cells**
- **Activación Hemisférica Cerebral en Adultos Jóvenes Mientras Ejecutan Tareas Ortográficas Utilizando fMRI**



SOMIB
Sociedad Mexicana
de Ingeniería Biomédica

Sociedad Mexicana de Ingeniería Biomédica

La Mesa Directiva de la Sociedad Mexicana de Ingeniería Biomédica hace una extensa invitación a las personas interesadas en participar, colaborar y pertenecer como Socio Activo de la SOMIB. La SOMIB reúne a profesionistas que se desarrollan en áreas de Ingeniería Biomédica, principalmente ingenieros biomédicos, así como otros profesionistas afines con el desarrollo de tecnología para la salud.

Membresía Estudiante

\$850.00 PESOS MXN

15% de descuento para grupos de 5 o más personas.

Membresía Profesional

\$1,450.00 PESOS MXN

15% de descuento para grupos de 5 o más personas.

Membresía Institucional

\$11,600.00 PESOS MXN

No aplica descuento.

Membresía Empresarial

\$15,500.00 PESOS MXN

No aplica descuento.

EL PAGO CUBRE UN AÑO DE CUOTA. EN CASO DE REQUERIR FACTURA FAVOR DE SOLICITARLA, ADJUNTANDO COMPROBANTE DE PAGO Y ESPECIFICANDO CONCEPTO, AL CORREO ELECTRÓNICO: facturación@somib.org.mx

Para ser socio

- Presentar el formato de inscripción.
- Realizar el pago de derechos, de acuerdo a la categoría.
- Enviar formato de inscripción, currículum y comprobante de pago a: socios@somib.org.mx.
- Se emitirá carta de aceptación y constancia de membresía por parte de la mesa directiva (aprobada la solicitud).
- Para mayor información sobre beneficios, ingresar a: www.somib.org.mx.

Datos bancarios

- Beneficiario:** Sociedad Mexicana de Ingeniería Biomédica A. C.
- Banco:** Scotiabank
- Referencia:** 1000000333
- Cuenta:** 11006665861
- CLABE Interbancaria:** 044770110066658614



AUTORES

Los trabajos a publicar en la RMIB, deben ser originales, inéditos y de excelencia. Los costos de publicación para autores son los siguientes:

NO SOCIOS: \$4,060.00 PESOS MXN (INCLUYE I.V.A.)

SOCIOS: \$1,276.00 PESOS MXN (INCLUYE I.V.A.)

PUBLICIDAD

A las empresas e instituciones interesadas en publicitar su marca o productos en la RMIB, los costos por número son los siguientes:

MEDIA PLANA: \$4,999.00 PESOS MXN (INCLUYE I.V.A.)

UNA PLANA: \$6,799.00 PESOS MXN (INCLUYE I.V.A.)

CONTRAPORTADA: \$7,799.00 PESOS MXN (INCLUYE I.V.A.)

FORROS INTERIORES: \$7,799.00 PESOS MXN (INCLUYE I.V.A.)

DESCUENTO DEL 20% AL CONTRATAR PUBLICIDAD EN DOS O MÁS NÚMEROS.

La inserción de la publicidad será publicada en el libro electrónico y en el área de patrocinios en el sitio Web de la revista (RMIB), disponible en:

<http://rmib.mx>

Fundador

Dr. Carlos García Moreira

COMITÉ EDITORIAL

Editora en Jefe

Dra. Nelly Gordillo Castillo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CIUDAD JUÁREZ

Editores Asociados

Dr. Rafael Eliecer González Landaeta

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CIUDAD JUÁREZ

Dr. Christian Chapa González

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CIUDAD JUÁREZ

Dr. Hugo Abraham Vélez Pérez

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

Dra. Rebeca del Carmen Romo Vázquez

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

Dr. César Antonio Díaz González

INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

Comité Editorial Nacional

Dr. José Bargas Díaz

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Dr. Jorge Isaac Chairez Oria

INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

Dr. Arturo Minor Martínez

CINVESTAV-IPN, MÉXICO

Comité Editorial Internacional

Dr. Jorge Armony

MCGILL UNIVERSITY, CANADÁ

Dr. Christopher Druzgalski

CALIFORNIA STATE UNIVERSITY AT LONG BEACH

Dr. Renato García Ojeda- UFSC

FLORIANÓPOLIS, BRASIL

Dr. Marc Madou

UNIVERSITY OF CALIFORNIA AT IRVINE

Dr. Mario J. Romero Ortega

THE UNIVERSITY OF TEXAS AT DALLAS

Dr. Hugo Leonardo Rufiner

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL, ARGENTINA

Dr. Max E. Valentinuzzi

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES, ARGENTINA

Dr. Eduard Montseny Masip

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE CATALUÑA, BARCELONA TECH

Dra. Pilar Sobrevilla Frisón

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE CATALUÑA, BARCELONA TECH

Índices

La Revista Mexicana de Ingeniería Biomédica aparece en los siguientes índices científicos:

Sistema de Clasificación de Revistas Científicas y Tecnologías del CONACYT - Q4, SCOPUS, SciELO, REDALyC, EBSCO, LATINDEX, Medigraphic Literatura Biomedica, Sociedad Iberoamericana de Información Científica - SIIC.

www.rmib.mx

ISSN 2395-9126

Editor Técnico y en Internet

Enrique Ban Sánchez

Se autoriza la reproducción parcial o total de cualquier artículo a condición de hacer referencia bibliográfica a la Revista Mexicana de Ingeniería Biomédica y enviar una copia a la redacción de la misma.

Sociedad Mexicana de Ingeniería Biomédica

Plaza Buenavista #2, Col. Buenavista, Del. Cuauhtémoc, C.P. 06350, Ciudad de México, México, (555) 574-4505



SOMIB
Sociedad Mexicana
de Ingeniería Biomédica

MESA DIRECTIVA

Ing. Herberth Bravo Hernández

PRESIDENTE

M. en C. Ana Luz Portillo Hernández

VICEPRESIDENTE

Dra. Dora Luz Flores Gutiérrez

SECRETARIO

Ing. Carlos Graniel Tamayo

TESORERO

Dra. Nelly Gordillo Castillo

EDITORA DE RMIB

Afiliada a:

International Federation of Medical and Biological Engineering (IFMB-IUPSM-ICSU)
Federación de Sociedades Científicas de México, A.C. (FESOCIME)
Consejo Regional de Ingeniería Biomédica para América Latina (CORAL)

SOMIB

Plaza Buenavista #2, Col. Buenavista Del. Cuauhtémoc, C.P. 06350 Ciudad de México, México (555) 574-4505

www.somib.org.mx

REVISTA MEXICANA DE INGENIERÍA BIOMÉDICA, Vol. 40, No. 1, Enero-Abril 2019, es una publicación cuatrimestral editada por la Sociedad Mexicana de Ingeniería Biomédica A.C., Plaza Buenavista #2, Col. Buenavista, Del. Cuauhtémoc, Ciudad de México, 06350, (555) 574-4505, www.somib.org.mx, rmib.somib@gmail.com. Editor responsable: Nelly Gordillo Castillo. Reserva de Derechos al Uso Exclusivo No. 04-2015-041310063800-203, ISSN (impreso) 0188-9532; ISSN (electrónico) 2395-9126, ambos otorgados por el Instituto Nacional del Derecho de Autor. Responsable de la última actualización de este número: Lic. Enrique Federico Ban Sánchez, Plaza Buenavista #2, Col. Buenavista, Del. Cuauhtémoc, Ciudad de México, 06350, (555) 574-4505, fecha de última modificación, 15 de diciembre de 2016.

El contenido de los artículos, así como las fotografías son responsabilidad exclusiva de los autores. Las opiniones expresadas por los autores no necesariamente reflejan la postura del editor de la publicación.

Queda estrictamente prohibida la reproducción total o parcial de los contenidos e imágenes de la publicación sin previa autorización de la Sociedad Mexicana de Ingeniería Biomédica.

Disponible en línea:

www.rmib.mx

CONTENIDO

CONTENTS

El contenido aparece según su publicación en el portal de la revista.

Artículo de investigación

Medicina Regenerativa para Úlceras Crónicas:
Aplicación Cutánea de Células Troncales
Mesenquimales de Gelatina de Wharton
*Regenerative Medicine for Chronic Ulcers:
Cutaneous Application of Mesenchymal Stem Cells
of Wharton's Jelly*

p 1-11

Artículo de investigación

A modelling study of glycolytic
oscillations and electrical activity
in pancreatic alpha cells
*Un estudio de las oscilaciones
glicolíticas y la actividad eléctrica en
un modelo de célula alfa de páncreas*

p 1-10

Artículo de investigación

Simulación Mediante Elemento Finito de
Sistemas Intramedulares Telescópicos para
Rehabilitación de Pacientes con Osteogénesis
Imperfecta
*Simulation by Finite Element Method of
Intramedullary Telescopic Systems for Rehabilitation
of Patients with Osteogenesis Imperfecta*

p 1-10

Artículo de investigación

Activación Hemisférica Cerebral en Adultos
Jóvenes Mientras Ejecutan Tareas Ortográficas
Utilizando fMRI
*Hemispheric Brain Activation in Young Adults While
Performing Orthographic Tasks Using fMRI*

p 1-10

Artículo de investigación

Towards designing Brain-Computer Interfaces
in terms of User-Profiles, Neurophysiological
Factors and User Experience
*Hacia el diseño de Interfaces Cerebro-Computadora
en términos del Perfil del Usuario, Factores
Neurofisiológico y Experiencia del Usuario*

p 1-12

[dx.doi.org/10.17488/RMIB.40.2.1](https://doi.org/10.17488/RMIB.40.2.1)

E-LOCATION ID: e201832

Medicina Regenerativa para Úlceras Crónicas: Aplicación Cutánea de Células Troncales Mesenquimales de Gelatina de Wharton

Regenerative Medicine for Chronic Ulcers: Cutaneous Application of Mesenchymal Stem Cells of Wharton's Jelly

A. Parra-Barrera, C. M. Mejía-Barradas, C. C. Calzada-Mendoza, E. Mera-Jiménez, A. L. Sánchez-Corrales, G. Gutiérrez-Iglesias

Escuela Superior de Medicina del Instituto Politécnico Nacional

RESUMEN

El empleo de células mesenquimales ha emergido como una parte importante en la medicina regenerativa con efectos positivos en la recuperación de tejidos dañados o perdidos. Las úlceras crónicas incluyen lesiones cutáneas que afectan a una gran parte de la población con diabetes mellitus, (por ejemplo 9.14% desarrollan lesiones por pie diabético según ENSANUT 2016) y representan gastos económicos considerables, debido a la pobre calidad de vida que llevan los pacientes. El tratamiento convencional que se lleva a cabo en estos casos es a largo plazo, y los efectos benéficos generados que se presentan son limitados, ya que las lesiones reinciden por no contar con un tratamiento específico y regenerativo, solo paliativo. Es por ello que en este trabajo se obtuvieron y emplearon células troncales mesenquimales derivadas de gelatina de Wharton (CTM-GW) bajo los criterios propuestos por la Sociedad Internacional de la Terapia Celular. El tratamiento fue aplicado en dos pacientes con úlceras crónicas flebotáticas de diferentes condiciones médicas y se monitoreo a corto plazo, por lo que fue un estudio limitado. Los resultados mostraron que las CTM-GW indujeron la reconstrucción cutánea mediante formación de tejido de granulación, además de disminuir el proceso inflamatorio crónico en la zona de daño, lo que favoreció el índice de cierre de la herida. Por lo anterior, se propone la utilización de CTM-GW en úlceras flebotáticas crónicas como tratamiento en la regeneración de la estructura tisular con resultados a corto plazo.

PALABRAS CLAVE: Medicina Regenerativa; Células Troncales Mesenquimales de Gelatina de Wharton; Úlceras crónicas

ABSTRACT

Use of mesenchymal cells has emerged as an important part in regenerative medicine with positive effects in the recovery of damaged or lost tissues. Chronic ulcers include skin lesions that affect a large part of the population with diabetes mellitus, (for example, 9.14 develop diabetic foot according to ENSANUT 2016) and represent considerable economic expenses, due to poor quality of life in patients. The conventional treatment that is carried out in these cases is long term, and the generated beneficial effects that are presented are limited, since the injuries recur due to not having a specific and regenerative treatment, only palliative. That is why in this work they were obtained and used mesenchymal stem cells derived from Wharton's jelly (MSC-WJ) under the criteria proposed by the International Society for Cell Therapy. The treatment was applied in two patients with chronic ulcers phlebostatic of different medical conditions and short-term monitoring, so it was a limited study. The results showed that MSC-WJ induced skin reconstruction by tissue formation granulation, in addition to decreasing the chronic inflammatory process in the area of damage, which favored the index of wound healing. Therefore, the use of MSC-WJ in chronic phlebostatic ulcers is proposed as a treatment in the regeneration of the tissue structure with short-term results.

KEYWORDS: Regenerative Medicine; Mesenchymal Stem Cells; Chronic Ulcers

Correspondencia

DESTINATARIO: Gisela Gutiérrez Iglesias
INSTITUCIÓN: Escuela Superior de Medicina
del Instituto Politécnico Nacional
DIRECCIÓN: Salvador Díaz Mirón S/N, Col. Santo Tomás,
C. P. 11340, Ciudad de México, CDMX, México
CORREO ELECTRÓNICO: iglesiasgg@yahoo.com

Fecha de recepción:

30 de agosto de 2018

Fecha de aceptación:

16 de enero de 2019

INTRODUCCIÓN

Las úlceras crónicas (UC), son alteraciones en la piel que toman más de seis semanas en cicatrizar [1]. El envejecimiento, la diabetes y la obesidad incrementan la prevalencia de las UC, por lo que son una de las principales causas de morbilidad y mortalidad [2]. Son más frecuentes en personas de la tercera edad con enfermedad vascular periférica [3] y se caracterizan por la presencia de dolor [4] e incapacidad para cicatrizar [5].

Aunque se han desarrollado tratamientos para este tipo de problemas, la mayoría de ellos no tiene efectos benéficos a corto plazo, lo que repercute sobre el gasto público de las instituciones de salud pública y sobre la calidad de vida de los pacientes [6]. Por otro lado, la medicina regenerativa y la ingeniería de tejidos ofrecen una alternativa en terapias celulares para el tratamiento de este tipo de lesiones [7] debido a que pueden reparar/reemplazar el tejido dañado [8]. Las células troncales mesenquimales (CTM) son las células más empleadas en medicina regenerativa debido a que son células progenitoras con capacidad de autoregenerarse y multipotentes, pueden aislarse de varios tejidos como: médula ósea [9], tejido adiposo [10], sangre de cordón umbilical [11], sangre periférica [12], endometrio [13], pulpa dental [14], líquido amniótico [15] y tejido tumoral [16]. Estas células pueden caracterizarse con base en los criterios propuestos por la International Society for Cell Therapy (ISCT) e incluyen: adherencia al sustrato de cultivo, morfología fibroblastoide, con la capacidad para diferenciarse en células especializadas de la capa mesodérmica: adipocitos, condrocitos, osteoblastos [15], expresión de antígenos membranales: CD73, CD90 y CD105, así como ausencia de los antígenos como: CD34, CD45 y HLA-clase II [9, 10, 17].

Actualmente, se han aplicado en terapias celulares para disminuir la enfermedad injerto contra huésped o GvDH [18], regeneración epitelial en colon [19], úlceras crónicas [20, 21], úlceras asociadas a esclerosis sistémica [8] colitis ulcerativa [22] y pie diabético [23]. Sin embargo,

pocos estudios han realizado la aplicación de Células Troncales Mesenquimales derivadas de Gelatina de Wharton para el tratamiento de úlceras crónicas [24]. Por ello, en este trabajo se realizó la aplicación de CTM derivadas de gelatina de Wharton en dos pacientes con diagnóstico de úlcera crónica flebostática, donde se analizaron las modificaciones estructurales del tejido mediante técnicas histológicas, área de la herida, índice de cierre antes y después del tratamiento.

METODOLOGÍA

Presentación de los casos

Caso 1: Paciente femenina, 55 años de edad con diabetes mellitus tipo 2, insuficiencia venosa periférica crónica y úlcera flebostática en región maleolar del miembro pélvico derecho, más de 3 años de evolución.
Caso 2: Paciente femenina, 56 años de edad con insuficiencia venosa periférica crónica, úlcera flebostática en región maleolar del miembro pélvico derecho, más de 5 años de evolución con falla de injerto autólogo.

Recolección cordones umbilicales

La selección de cordones umbilicales se realizó en base a los criterios establecidos por la Ley General de Salud Mexicana, la Norma Oficial Mexicana NOM-253-SSA1-2012 y por el Banco de Sangre de Cordón Umbilical del Instituto Mexicano del Seguro Social Centro Médico Nacional “La Raza”. Una vez seleccionadas las posibles donadoras y previa firma del consentimiento informado, se realizó la recolección de los cordones en condiciones de esterilidad, en una solución amortiguada de fosfatos o PBS (NaCl 8.06 g, KCl 0.22 g, Na₂HPO₄ 1.15 g, KH₂PO₄ 0.20 g H₂O 1000 mL⁻¹) y se mantuvieron a 4 °C hasta la extracción de las CTM-GW.

Aislamiento de las CTM-GW

El cordón se cortó en secciones de aprox. 3mm, fueron eliminadas las arterias y vena umbilicales, se disgregó enzimáticamente primero con colagenasa tipo I al 1% en PBS (Sigma-Aldrich, USA) y posteriormente

con tripsina al 0.1 %, en agitación constante a 37.5 °C por 60 y 30 minutos respectivamente. El sobrenadante, fue centrifugado a 180 g/10min, el botón celular se resuspendió en medio DMEM-F12 complementado con 10% de suero fetal bovino y 1% de antibiótico-antimicótico (Gibco®, USA). Las células fueron cultivadas en cajas Petri de 100 mm x 20 mm (Corning Centri Star™, USA), se mantuvieron a 37 °C en una atmósfera con humedad saturada con 5% de CO₂ en incubadora modelo Galaxy 170R (R.T.L., Colombia). Cuando los cultivos tuvieron una confluencia del 80 - 90%, se realizó la resiembra de las mismas (pases), este procedimiento se repitió hasta obtener las células en un pase no mayor a 6 para poder caracterizar las células y aplicarlas en los pacientes.

Caracterización de las CTM-GW

Se realizó tomando en cuenta los criterios propuestos por la ISCT como: 1) *Morfología fibroblastoide y adherencia*; las células de Gelatina de Wharton humana se mantuvieron en observación mediante el uso de un microscopio Oxion Inverso (PCE Instruments, Chile), se realizó la documentación fotográfica con una cámara digital Samsung-ST150F 16.2-Megapixel (modelo: EC-ST150FBPBUS). La adherencia se determinó durante los cambios de medio, las células adheridas permanecieron en las cajas Petri en tanto, las células en suspensión, fueron desechadas durante este procedimiento; 2) *Pruebas de plasticidad celular*. Para inducir la diferenciación hacia osteoblastos y adipocitos, las CTM-GW se cultivaron con Stempro® Osteogenesis Differentiation y Stempro® Adipogenesis Differentiation (USA) durante 21 días. Para comprobar la diferenciación se realizó: a) Tinción con rojo de alizarina S (1,2-dihidroxiantraquinona) (Merck Mlipore, USA): las células se lavaron con PBS y fijaron con formol al 10% durante 10 minutos, en seguida se agregó rojo de alizarina S (1,2-dihidroxiantraquinona) durante 10 minutos, se realizaron dos lavados con PBS. b) Tinción con rojo oleoso: las células se fijaron con formol al 10%, tiñeron con rojo Oleoso (Sigma-Aldrich,

USA) en isopropanol al 60 % (Sigma-Aldrich, USA) por 10 min, y se lavaron en dos ocasiones con isopropanol al 60%. 3) *Expresión de antígenos de superficie*; las células se lavaron con PBS y se les agregó EDTA (ácido etildiaminotetraacético) 2mM (Research Organics, USA) para desprenderlas mediante raspado. Una vez en suspensión con NaCl 0.9 % se incubaron con los siguientes anticuerpos anti-humano; anti-HLA-DR (cat. sc-3939); anti-CD34 (cat. Sc-343503); anti-CD45 (cat. MA1-12219, Thermo Scientific); anti-CD105 (cat. 323204); anti-CD73 (cat. 344004) y anti-CD90 (cat. 328108, Biolegend), lavaron con PBS y centrifugaron a 3000 rpm por 1 min. El botón celular se resuspendió en paraformaldehído (Sigma-Aldrich, USA) al 2 %, la lectura se realizó en un citómetro de flujo FACScalibur (Becton Dickinson, USA). Los resultados obtenidos se reportaron como porcentaje de células positivas para cada marcador tomando como 100 % el número total de eventos analizados.

Separación en etapas de estudio

El área de las heridas y el consumo de antiinflamatorios no esteroideos fueron estudiados en tres etapas diferentes: terapia convencional (TC); desde el momento de la valoración inicial (semana -6) al inicio del tratamiento (semana 0), 1er Dosis (1er-D); desde el inicio del tratamiento (semana 0) hasta la segunda aplicación (semana 4), y finalmente, 2da Dosis (2da-D); que abarcó desde el momento de la segunda aplicación (semana 4) hasta que las pacientes abandonaron el tratamiento (semana 9 aproximadamente).

Aplicación de CTM-GW en pacientes

Para realizar la aplicación de las CTM-GW en los pacientes se realizaron los siguientes pasos; 1) *Cuantificación del área de la herida*. Para calcular el área de daño se obtuvieron imágenes con una cámara digital Samsung-ST150F 16.2-Megapixel (modelo: EC-ST150FBPBUS) y el área se determinó con el programa ImageJ 1.46r, los valores obtenidos fueron expresados en centímetros cuadrados (cm²), 2)

Preparación de la herida. Se realizó la curación con jabón quirúrgico neutro Antibenzil (1 g de cloruro de benzalconio · 100 mL⁻¹ de vehículo) (Altamirano farmacéuticos), solución salina al 0.9% (PISA farmacéutica), 3) *Preparación de las células para su aplicación:* Las CTM-GW fueron despegadas con tripsina/EDTA (Sigma-Aldrich, USA), y se aplicaron 100,000 ± 10,000 células · cm⁻² de herida, 4) *Colocación del Surgicel®* (Ethicon, USA): en el caso 2 se colocó una malla de celulosa regenerada oxidada absorbible 35 x 5 cm² a la herida mediante puntos quirúrgicos con sutura Catgut crómico 3/0 (Ethicon, USA), 5) *Aplicación de las CTM-GW.* Se realizó directo en la herida mediante infiltración intradérmica e irrigación en el lecho de la herida en dos ocasiones, el día de la primera aplicación se consideró como día 0 y la segunda dosis se realizó a la cuarta semana, por último las lesiones se protegieron con un apósito hidrocoloide DuoDERM® (ConvaTec, Nordic Capital y Avista Capital Partners), gasas y apósitos estériles hasta la valoración de las mismas.

Histología

Los cortes histológicos fueron teñidos con Hematoxilina y Eosina (H-E), las biopsias se tomaron antes de iniciar el tratamiento y a los 30 días de la primera aplicación, fijaron con formol al 10 % amortiguado (formaldehído 4%, NaH₂PO₄·H₂O 4 g, Na₂HPO₄·7H₂O 6.5 g · H₂O 1000 mL⁻¹), fueron incluidos en parafina, se realizaron cortes semi-finos de 4-7 μm, se montaron en portaobjetos, *Tinción por Hematoxilina y Eosina:* las laminillas con los tejidos se desparafinaron, hidrataron y tiñeron con Hematoxilina de Harris. Posteriormente, las laminillas se lavaron con agua corriente, contrastaron con eosina, deshidrataron, aclararon y montaron con resina de metacrilato/Acrilato (Entellan® Merck, Alemania).

Respuesta de la lesión

La recuperación de la lesión fue determinada al plantear el índice úlcera, que se interpretó por el porcentaje del área de la herida abierta remanente con respecto al

área de la herida al inicio del tratamiento. También se expresó la tasa de recuperación (T_r) de la herida como el cociente $T_r = A_r/t_r$, donde A_r es el valor del área recuperada (cm²) durante el tratamiento, y t_r son los días que duró la recuperación del área. Las extensiones de las áreas ulceradas y recuperadas fueron evaluadas a través del análisis de imágenes con el programa *ImageJ*.

Aspectos bioéticos

El comité de bioética local autorizó este trabajo así como el método de selección de los sujetos de estudio, cumplió con los principios y valores bioéticos de beneficencia, respeto a las personas y equidad.

Análisis estadístico

El análisis de las áreas se realizó mediante la prueba estadística ANOVA de una vía con el programa Microsoft Excel.

RESULTADOS

Caracterización celular

Morfología fibroblastoide y adherencia a las placas de cultivo: las células aisladas mostraron una morfología alargada que asemejaba a fibroblastos, característica relacionada con la adherencia de las CTM a la placa de cultivo (figura 1A).

Diferenciación osteogénica: los cultivos mostraron positividad para la tinción de rojo de Alizarina, lo que indica la presencia de Ca⁺⁺ y fosfatasa alcalina como distintivo de las células mesenquimales diferenciadas a osteoblastos (figura 1B).

Diferenciación adipogénica: en los cultivos mantenidos con medio adipogénico se pudieron apreciar pequeñas vesículas lipídicas en el citoplasma, positivas para la tinción de rojo Oleoso, específico para los adipocitos (figura 1C). Expresión de antígenos de superficie: los marcadores de superficie que se analizaron para las células aisladas fueron CD90/CD73

(93.38% de positividad) y CD105 (35.98% de células positivas), mientras que la expresión de antígenos hematopoyéticos HLA-DR, CD34 y CD45 estuvo prácticamente ausente (0.04 y 0.16%, respectivamente) en los cultivos (figura 1D). Con ello se cumplieron los criterios propuestos por la ISCT.

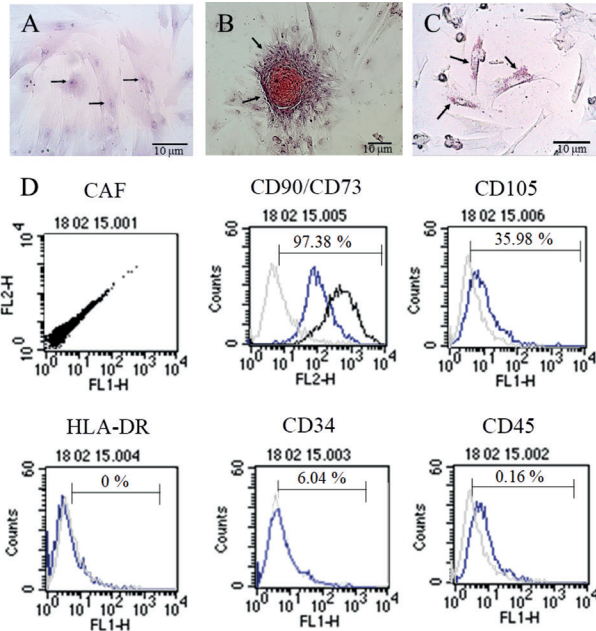


FIGURA 1. Obtención y caracterización de las CMM-GW. (A) Cultivos celulares en 6º pase, (↑) células de forma fibroblastoide. (B) Células en medio de diferenciación osteogénica, (↑) acúmulos de Ca⁺⁺ y fosfato extracelular teñidas con rojo de alizarina. (C) Células en medio de diferenciación adipogénica, (↑) con vesículas lipídicas intracelulares teñidas con rojo oleoso. (D) Análisis de la expresión de proteínas hematopoyéticas de superficie por citometría de flujo de 10 mil eventos celulares.

Respuesta de la lesión hacia el tratamiento

Caso 1; la figura 2A muestra la herida al día 0 del tratamiento, donde se puede observar un estado eritematoso y exudativo, sin evidente proceso de infección en la zona, por otro lado, la figura 2B obtenida al séptimo día de la primera aplicación de las mesenquimales donde es posible apreciar la formación de tejido en el lecho de la misma. Caso 2; la figura 2C muestra el área de lesión recubierta por la malla de Surgicel® al

inicio de la aplicación celular. En la figura 2D se aprecia la formación de tejido sobre la malla colocada al inicio del tratamiento, con lo que se disminuyó la profundidad de la lesión. Para representar el beneficio del tratamiento con células solamente y células en Surgicel®, se llevó a cabo un análisis de índice de úlcera y tasa de recuperación, las cuales se describen a continuación.

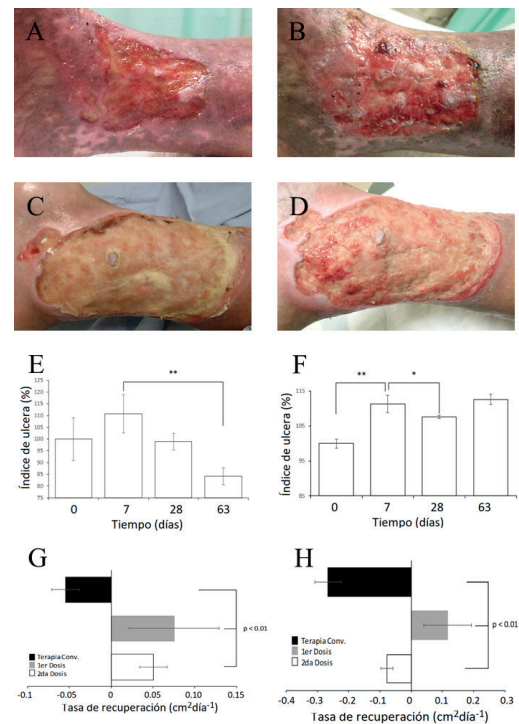


FIGURA 2. Respuesta de la lesión para Caso 1 (A, B, E y 299 G) y Caso 2 (C, D, F y H). Aspecto de la herida al inicio 300 del tratamiento (A y C), aspecto de la herida a los 7 días 301 de la primera aplicación del tratamiento (B y D), índice 302 de úlcera (E y F), tasa recuperación (G y H).

Índice de úlcera y tasa de recuperación

En el caso 1; durante el periodo de observación se pudo apreciar un incremento en el porcentaje del área al día 7 (figura 2E), sin embargo, al término del tratamiento (día 63), la herida mostro una disminución del área de lesión. Por otro lado, con el análisis de las áreas de herida se calculó la tasa de recuperación de herida, en el cual se demostró que con el tratamiento convencional este valor era negativo (-0.05), lo que señala un

aumento en el área afectada. Posteriormente, con el tratamiento de células mesenquimales, la tasa de recuperación mostró valores significativamente positivos (0.05 y 0.10), lo que indica un índice de recuperación de herida favorable.

En el caso 2 esta paciente mostró un área de herida incrementada con el tratamiento convencional (figura 2F, día 0); e igual que pasó en el caso 1, el índice de úlcera aumentó al día 7; no obstante, en el día 28 posterior a la primera aplicación el índice de úlcera alcanzó a disminuir y se mantuvo en el tiempo hasta el día 63 (figura 2F). Por otro lado, el análisis de la tasa de la recuperación de la herida mostró valores negativos con el tratamiento convencional (0.3, figura 2H) y aunque alcanzó valores positivos (0.15 en la primer dosis), subsecuentemente se reflejó en un valor negativo en la tasa de cierre; sin embargo, éste número negativo se mantuvo menor al 0.1, que fue menor al que se presentó al inicio del tratamiento (figura 2H), lo que refleja que con el tratamiento número 2 las condiciones de úlcera mejoraron con el material Surgicel®.

Análisis histológico de las úlceras antes y después del tratamiento

En los resultados de las tinciones por H&E para el caso 1; fue posible apreciar previo al tratamiento, un infiltrado inflamatorio perivascular así como microangiopatía (3A, flechas) y las fibras depositadas en el área de lesión (3A, asteriscos). Después de administrarse la aplicación de células mesenquimales (figura 3B), el infiltrado inflamatorio disminuyó (3B, flechas) y las fibras de colágeno fueron más abundantes (3B, asteriscos), delimitando los nuevos vasos sanguíneos que son perceptibles en la tinción (3B, cabezas de flecha obscuras). En el caso 2, previo a la aplicación de las células mesenquimales (figura 3C), se aprecian extensas zonas de necrosis (3C, estrellas), edema (3C, cabezas de flecha claras), infiltrado inflamatorio perivascular, vasculitis, microangiopatía (3C, asteriscos) y microcoágulos de fibrina en vasos sanguíneos. En esta

paciente se presentaron mayores beneficios por el tratamiento de la úlcera con las células mesenquimales y Surgicel®, que fueron observados en los cortes histológicos (figura 3D); donde la zona de necrosis fue desplazada (3D estrellas) por un aumento de células que conformaron una zona de proliferación vascular. Debido a lo anterior, la conformación del tejido puede verse más sólido, como se mostró en las fotos de la lesión de la figura 2.

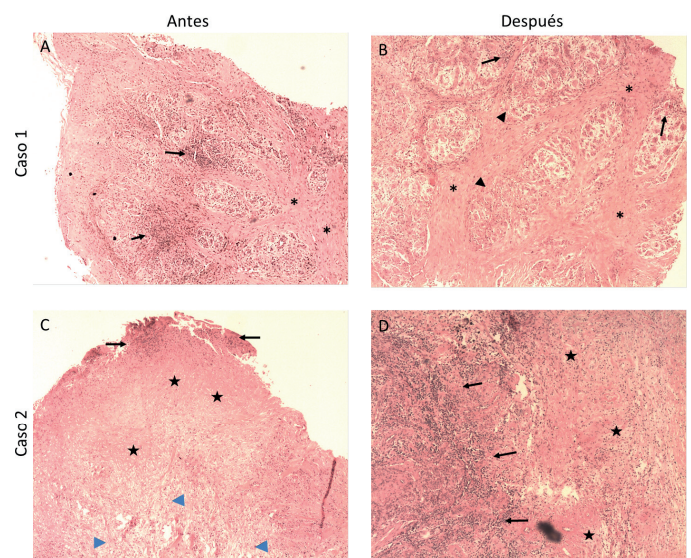


FIGURA 3. Cortes histológicos de las lesiones antes (A, C) 319 y después (B, D) del tratamiento para Caso 1 (panel 320 superior) y Caso 2 (panel inferior). (↑) infiltrado 321 linfocitario perivascular, (*) fibras de colágena, (▲) vaso 322 sanguíneo, (▲) edema, (★) necrosis.

DISCUSIÓN

El desarrollo de estrategias de medicina regenerativa o terapia celular con células troncales mesenquimales ha demostrado tener resultados a corto plazo, además de aminorar los costos en el sector salud [25, 26]. Para ello es importante que la obtención no sea invasiva, que sea posible su trasplante autólogo o alogénico, que el aislamiento y cultivo se basen en las buenas prácticas de manufactura y por último, cumplir con los postulados propuestos por la sociedad internacional para la terapia celular (ISCT) [27].

Las úlceras son lesiones cutáneas de tamaño y forma variable que persisten por más de 6 semanas que no responden a tratamiento convencional, por lo que se transforman en crónicas [28]. Estas heridas se caracterizan por presentar alteraciones en la estructura microvascular que se favorece por diferentes comorbilidades metabólicas preexistentes, y por lo tanto, su tratamiento resulta difícil, largo y costoso, afectando de forma importante la calidad de vida del paciente [28-30].

En este trabajo se aplicó terapia regenerativa a partir de CTM derivadas de gelatina de Wharton (tejido de cordón umbilical de obtención no invasiva) en úlceras crónicas. Las CTM fueron aisladas y caracterizadas en base a los criterios propuestos por la ISCT [27]. Primeramente, la naturaleza troncal de las células fue evidenciada por presentar morfología de tipo fibroblastoide, adherencia a los recipientes de cultivo, capacidad de diferenciación tanto osteogénica como adipogénica, y se identificaron los antígenos de superficie CD90, CD73 y CD105, por lo que los cultivos utilizados en este estudio cumplieron los criterios para ser utilizados en terapia [27].

Las úlceras crónicas de pacientes con diabetes mellitus recientemente han sido tratadas con CTM de diferentes fuentes como M.O. [31, 32], tejido adiposo [33, 34, 35] y piel [36]. En este trabajo, se confirmó lo reportado previamente por muchos investigadores, donde las CTM suprimen la inflamación excesiva, estimulan la angiogénesis de novo, facilitan la cicatrización y reducen el tamaño de la herida, por lo que brinda enormes posibilidades para la sanación de dichas úlceras [37]. Las características histológicas macroscópicas y físicas de la herida (inflamación evidente, apertura de herida) después de la primera aplicación, mostraron la formación de tejido de granulación y fibrótico al séptimo día del tratamiento con las CTMs. La cicatrización fue más evidentes en el caso 2 (figura 2c y d), donde se utilizó la malla de Surgicel® [38]. Se pudo observar un efecto aditivo de las CTM con el Surgicel. Para éste último, se

han descrito los beneficios en casos de úlceras pero sin aplicación de CTM [39], por lo que al utilizarlo en conjunto con las CTM tuvo mayores beneficios. Chen y cols., (2015) [40] en un modelo de ratón, demostraron que las CTM-MO en combinación con un hidrogel n-isopropilamida (NIPAM) a los 35 días post-implante una disminución de la inflamación, formación de tejido de granulación, aumento de macrófagos M2, angiogénesis y regeneración tisular.

En nuestro trabajo, a los 65 días post-tratamiento encontramos que disminuye el tamaño de la lesión y presencia de formación de vasos sanguíneos. Cabe señalar que el tamaño de las lesiones en el modelo murino son muy pequeñas (aproximadamente 0.5 cm²) a comparación de las lesiones de nuestros pacientes (aproximadamente 10 x 7 cm²) por lo que la diferencia es muy marcada entre ambos grupos de trabajo [40].

Las CTM estimulan diferentes mecanismos moleculares y celulares [41-44], por ejemplo: a) Se promovió la diferenciación de las CTM a diferentes tipos celulares [41] como células endoteliales [29], pericitos [45], músculo liso [46], fibroblastos [47-49], miofibroblastos [50, 51] o queratinocitos [52], todas ellas indispensables en los procesos de angiogénesis [29, 53] y regeneración de piel [25, 440 33]; b) probable liberación de diferentes factores de crecimiento y citocinas que promueven la proliferación de las células residentes [41] y c) las CTM reestructuraron el microambiente, mejorando las condiciones para la regeneración tisular [41].

Ya que las úlceras crónicas presentan sucesiones continuas de inflamación (afectando la formación de tejido y remodelación), no se concluye su cicatrización o regeneración, ocasionando que se retrase el cierre de la herida [54]. En este estudio, los análisis histopatológicos iniciales para ambos casos, mostraron procesos inflamatorios crónicos como microangiopatía y zonas de fibrosis y necrosis (típico de dichas lesiones) [54-56]; sin embargo, a partir del tratamiento con las CTM fue

posible apreciar en los dos casos una disminución de la cantidad de linfocitos infiltrantes, que se relaciona a la capacidad inmunomoduladora de las células mesenquimales en presencia de ambientes inflamatorios crónicos, permitiendo así la regeneración de piel [41, 52, 54]. Lo anterior conlleva a un incremento en la cantidad y calidad de vasos sanguíneos formados [57, 58], los cuales también fueron observados en los cortes histológicos de las pacientes con tratamiento. El efecto que se mostró a corto plazo al aplicar las CTM-GW sobre el cierre de las heridas crónicas, concuerda con los resultados de Navone (2014) [59] quien utilizó un andamio de fibroína y CTM, donde la herida se reduce en un 40%. Kazohide M., y colaboradores (2015) [60] utilizaron células sobre un hidrogel de ácido hialurónico al 4% y se redujo la ulcera a los 28 días post-tratamiento (similar a nuestros resultados). Por otro lado, el grupo de Wu y cols (2017) [61] demostró que el uso de CTM derivadas de placenta disminuyeron el tamaño de las lesiones en 51% de los pacientes en un plazo mayor que este estudio (3 meses pos-trasplante). Ribeiro y cols., (2014) [62] observaron que las CTM-GW (1 x 10⁵/cm²) incluidas en un hidrogel de poli-vinil alcohol, a los 60 días post-tratamiento la herida sana al 100%, así los cortes histológicos mostraron reepitelización, tejido de granulación y formación de vasos sanguíneos en la herida. En este trabajo solo muestra reducción de la herida y la formación de vasos sanguíneos. Sin embargo hay que destacar que las úlceras crónicas son de pacientes diabéticos e insuficiencia venosa periférica crónica con más de 3 y 5 años de evolución [62].

Al realizar el análisis del área de la herida, se pudo observar una apertura considerable en la lesión que llevaba largo tiempo con terapia convencional, lo que indica que ésta no fue suficiente para favorecer el cie-

rrer; sin embargo, después de la primera dosis se pudo apreciar una disminución del área que se mantuvo en el tiempo. Esta mejoría pudiera deberse al efecto de las citocinas secretadas por las células mesenquimales sobre los fibroblastos o miofibroblastos [50], además de los otros efectos de las CTM ya mencionados. Aunque el análisis de la herida mostró mejoría debido al tratamiento, la lesión no se recuperó en su totalidad; nosotros proponemos ajustar a una mayor dosis celular y al menos otras dos aplicaciones, sobre todo por la extensión de la lesión. Por otro lado, en el caso 2 se demostró que la aplicación de células en conjunto con materiales que promueven el soporte celular (en este caso utilizamos un producto derivado de la oxidación de la celulosa) [38], es una mejor alternativa para recuperar el tejido en menor tiempo, por lo que la medicina regenerativa en este tipo de lesiones, pueda dar paso al siguiente nivel, que es la “ingeniería de tejidos”, donde se puede utilizar la piel autóloga, alogénica o sintética [25, 52], así como biomateriales, con el fin de potencializar la resolución de las heridas flebotómicas crónicas.

CONCLUSIONES

La terapia celular con aplicación de CTM provenientes de gelatina de Wharton sobre úlceras flebotómicas de difícil manejo, es adecuada y representa una interesante alternativa médica por sus resultados a corto plazo, y podría aplicarse en otros tipos de lesiones. Además de lo anterior, la utilización de materiales como el producto de la oxidación de la celulosa, permite una mejor regulación de los procesos inmunológicos y modeladores del tejido; esto abre las puertas para que en este tipo de lesiones se aplique la ingeniería de tejidos en conjunto con células troncales. Lo anterior, también representaría una reducción del tiempo de convalecencia.

REFERENCIAS

- [1] Nelson EA, Adderley U. (2016). Venous leg ulcers. *BMJ Clin Evid*. Jan 15; 2016. DOI: [1902 \[pii\]](#)
- [2] Kelly T., et al., (2008). Global burden of obesity in 2005 and projections to 2030. *Int J Obes (Lond)*. 32(9):1431-7. DOI: [10.1038/ijo.2008.102_ijo2008102 \[pii\]](#)
- [3] Aberdam D., (2004). Derivation of keratinocyte progenitor cells and skin formation from embryonic stem cells. *Int J Dev Biol*. 48(2-3):203-6. DOI: [10.1387/ijdb.031760da_031760da \[pii\]](#)
- [4] Agale SV. (2013). Chronic Leg Ulcers: Epidemiology, Aetiopathogenesis, and Management. *Ulcers*. 2013:9. DOI: [10.1155/2013/413604](#)
- [5] Alzahrani H., et al., (2013). Healing of chronic diabetic foot ulcers with a skin substitute: Patient selection is the key to success. *Open Journal of Regenerative Medicine*. 2:15-9. DOI: [10.4236/ojrm.2013.22003](#)
- [6] Antunez G.F.T., et al., (2008). Tratamiento combinado para úlcera venosa crónica: compresión, escleroterapia de perforantes guiada por ultrasonido e injerto de piel. *Revista Mexicana de Angiología [serial on the Internet]*. 36(2): Available from: <https://goo.gl/ordNPF>
- [7] Atala A, et al., (2012). Engineering complex tissues. *Sci Transl Med*. 14;4(160):160rv12. DOI: [10.1126/scitranslmed.3004890](#)
- [8] Marfia G, et al., (2015). Mesenchymal stem cells: potential for therapy and treatment of chronic non-healing skin wounds. *Organogenesis*. 2015;11(4):183-206. DOI: [10.1080/15476278.2015.1126018](#)
- [9] Acevedo-Olvera L.F., (2016). Effect of dehydroepiandrosterone on expression of BMP2, SPARC and RUNX2 in human bone marrow mesenchymal stem cells. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 15(1): <http://www.redalyc.org/pdf/620/62045307005.pdf>
- [10] Parra-Barrera A., et al., (2017). Comparación entre Células Troncales Mesenquimales obtenidas de Médula Ósea, Tejido Adiposo y Gelatina de Wharton en base a los Criterios de la ISCT. *Revista Mexicana de Ingeniería Biomédica*. 38(1 [S.I.]):280-7. DOI: [dx.doi.org/10.17488/RMIB.38.1.23](#)
- [11] Erices A, Conget P, Minguell JJ. (2000). Mesenchymal progenitor cells in human umbilical cord blood. *Br J Haematol*. 109(1):235-42. DOI: [bjh1986 \[pii\]](#)
- [12] Roufosse C.A., et al., (2014). Circulating mesenchymal stem cells. *Int J Biochem Cell Biol*. 36(4):585-97. DOI: [10.1016/j.biocel.2003.10.007](#)
- [13] Meng X, et al. (2007). Endometrial regenerative cells: a novel stem cell population. *J Transl Med*. 15;5:57. DOI: [10.1186/1479-5876-5-57](#)
- [14] Gronthos S, et al., (2000). Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo. *Proc Natl Acad Sci US*. 5;97(25):13625-30. DOI: [10.1073/pnas.240309797](#)
- [15] Sessarego N., et al. (2008). Multipotent mesenchymal stromal cells from amniotic fluid: solid perspectives for clinical application. *Haematologica*. 93(3):339-46. DOI: [10.3324/haematol.11869](#)
- [16] Yan X.L., et al. (2012). Mesenchymal stem cells from primary breast cancer tissue promote cancer proliferation and enhance mammosphere formation partially via EGF/EGFR/Akt pathway. *Breast Cancer Res Treat*. 132(1):153-64. DOI: [10.1007/s10549-011-1577-0](#)
- [17] Aktas M., et al. (2010). Good manufacturing practice-grade production of unrestricted somatic stem cell from fresh cord blood. *Cytotherapy*. 12(3):338-48. DOI: [10.3109/14653241003695034](#)
- [18] Manochantr S, et al. (2013). Immunosuppressive properties of mesenchymal stromal cells derived from amnion, placenta, Wharton's jelly and umbilical cord. *Intern Med J*. 43(4):430-9. DOI: [10.1111/imj.12044](#)
- [19] Semont A., et al., (2013). Mesenchymal stem cell therapy stimulates endogenous host progenitor cells to improve colonic epithelial regeneration. *PLoS ONE*. 8(7):e70170. DOI: [10.1371/journal.pone.0070170](#)
- [20] Augustin M, and Vanscheidt W. (2012). Chronic venous leg ulcers: the future of cell-based therapies. *Lancet*. 15;380(9846):953-5. DOI: [10.1016/S0140-6736\(12\)61255-0](#)
- [21] Zollino I., et al. (2017). Autologous adipose-derived stem cells: Basic science, technique, and rationale for application in ulcer and wound healing. *Phlebology*. 32(3):160-71. DOI: [10.1177/0268355516641546](#)
- [22] Hu J, et al. (2016). Safety and therapeutic effect of mesenchymal stem cell infusion on moderate to severe ulcerative colitis. *Exp Ther Med*. 12(5):2983-9. DOI: [10.3892/etm.2016.3724 ETM-0-0-3724](#)
- [23] Zeng X., et al. (2017). Three-week topical treatment with placenta-derived mesenchymal stem cells hydrogel in a patient with diabetic foot ulcer: A case report. *Medicine (Baltimore)*. Dec;96(51):e9212. DOI: [10.1097/MD.0000000000009212](#)
- [24] Badiavas E.V., and Falanga V. (2003). Treatment of chronic wounds with bone marrow-derived cells. *Arch Dermatol*. 139(4):510-6. DOI: [10.1001/archderm.139.4.510 139/4/510](#)
- [25] Savoji H, et al., (2018). Skin Tissue Substitutes and Biomaterial Risk Assessment and Testing. *Front Bioeng Biotechnol*. 6:86. DOI: [10.3389/fbioe.2018.00086](#)
- [26] Carriel V., et al., (2018). Ex Vivo and In Vivo Stem Cells-Based Tissue Engineering Strategies for Their Use in Regenerative Medicine. *Stem Cells Int*. DOI: [10.1155/2018/7143930](#)
- [27] Dominici M., et al. (2006). Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*. 8(4):315-7. DOI: [10.1080/14653240600855905](#)
- [28] Shah SV, Chakravarthy D. (2015). Evaluation of a bovine 100% native collagen for the treatment of chronic wounds: a case series. *J Wound Ostomy Continence Nurs*. 42(3):226-234. DOI: [10.1097/WON.0000000000000124](#)
- [29] Zhou L., et al. (2018). Efficient differentiation of vascular endothelial cells from dermal-derived mesenchymal stem cells induced by endothelial cell lines conditioned medium. *Acta Histochem*. 21. DOI: [10.1016/j.acthis.2018.08.004](#)
- [30] Jiménez-Hernández F., et al., (2014). Tratamiento de úlceras venosas en las extremidades inferiores con autoinjertos en sacabocado más compresión contra compresión elástica. *Dermatol Rev Mex* 58. www.medigraphic.com/pdfs/derrevmex/rmd-2014-rmd146c.pdf
- [31] Ganary D., et. Al., (2013). The emerging use of bone marrow-derived mesenchymal stem cells in the treatment of human chronic wounds. *Expert Opin. Emerging Drugs* 18(4):1-15.

- [32] Benítez-Arvízu G., et al., (2015). Células troncales mesenquimales autólogas e injerto cutáneo autólogo para tratamiento de una úlcera crónica secundaria a diabetes mellitus tipo 2. *Cirugía y Cirujanos* 83(6):532-536.
- [33] Amato B, et al., (2015). The role of adult tissue-derived stem cells in chronic leg ulcers: a systematic review focused on tissue regeneration medicine. *Int Wound J*. DOI: [10.1111/iwj.12499](https://doi.org/10.1111/iwj.12499)
- [34] Marfia G., et al., (2015). Mesenchymal Stem Cells: Potential For Therapy and Treatment Of Chronic Non-Healing Skin Wounds, Organogenesis, DOI: [10.1080/15476278.2015.1126018](https://doi.org/10.1080/15476278.2015.1126018)
- [35] Gadelkarima M., (2018). Adipose-derived stem cells: Effectiveness and advances in delivery in diabetic wound healing. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 107: 625-633. DOI: doi.org/10.1016/j.biopha.2018.08.013
- [36] Francesco De Francesco, et al., (2016). A Regenerative Approach with Dermal Micrografts in the Treatment of Chronic Ulcers. *Stem Cell Rev and Rep*. DOI: [10.1007/s12015-016-9692-2](https://doi.org/10.1007/s12015-016-9692-2)
- [37] Austin Nuschke. (2014). Activity of mesenchymal stem cells in therapies for chronic skin wound healing. *Organogenesis* 10:1, 29-37. DOI: <http://dx.doi.org/10.4161/org.27405>
- [38] Etulain J. Platelets in wound healing and regenerative medicine. *Platelets*. 2018 Sep;29(6):556-68. DOI: [10.1080/09537104.2018.1430357](https://doi.org/10.1080/09537104.2018.1430357)
- [39] Abou-Elela A, et al., (2009). Use of oxidized cellulose hemostats (Surgicel) to support parenchymal closure and achieve hemostasis following partial nephrectomy. *Surg Technol Int*. 18:75-9.
- [40] Chen S., et al., (2015). Mesenchymal stem cell-laden antiinflammatory hydrogel enhances diabetic wound healing. *Scientific Reports* 5:18104. DOI: [10.1038/srep18104](https://doi.org/10.1038/srep18104)
- [41] Li X., et al., (2014). Comprehensive characterization of four different populations of human mesenchymal stem cells as regards their immune properties, proliferation and differentiation. *Int J Mol Med*. 34(3):695-704. DOI: [10.3892/ijmm.2014.1821](https://doi.org/10.3892/ijmm.2014.1821)
- [42] Caplan AI. (1991). Mesenchymal stem cells. *J Orthop Res*. 9(5):641-50. DOI: [10.1002/jor.1100090504](https://doi.org/10.1002/jor.1100090504)
- [43] Sasaki M., et al. (2008). Mesenchymal stem cells are recruited into wounded skin and contribute to wound repair by transdifferentiation into multiple skin cell type. *J Immunol*. 15;180(4):2581-7. DOI: [180/4/2581 \[pii\]](https://doi.org/10.1093/ajph/100.4.2581)
- [44] Yeh E.T.H., et al., (2003). Transdifferentiation of human peripheral blood CD34(+)-enriched cell population into cardiomyocytes, endothelial cells, and smooth muscle cells in vivo. *Circulation*. 28;108(17):2070-3. DOI: [10.1161/01.Cir.0000099501.52718.70](https://doi.org/10.1161/01.Cir.0000099501.52718.70)
- [45] Yianni V, Sharpe PT. (2018). Molecular programming of perivascular stem cell precursors. *Stem Cells*. DOI: [10.1002/stem.2895](https://doi.org/10.1002/stem.2895)
- [46] Wang Y., et al., (2018). Effect of Deltex-1 on proliferation and differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells into smooth muscle cells. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 22(12):3627-34. DOI: [10.26355/eurrev.201806.15239](https://doi.org/10.26355/eurrev.201806.15239)
- [47] Li Y., et al. (2017). Differentiation of Human Amniotic Mesenchymal Stem Cells into Human Anterior Cruciate Ligament Fibroblast Cells by In Vitro Coculture. *Biomed Res Int*. DOI: [10.1155/2017/7360354](https://doi.org/10.1155/2017/7360354)
- [48] Soundararajan M, and Kannan S. (2018). Fibroblasts and mesenchymal stem cells: Two sides of the same coin? *J Cell Physiol*. DOI: [10.1002/jcp.26860.794](https://doi.org/10.1002/jcp.26860)
- [49] Chowdhury R., (2015). Cancer exosomes trigger mesenchymal stem cell differentiation into pro-angiogenic and pro-invasive myofibroblasts. *Oncotarget*. 20;6(2):715-31. DOI: [2711 \[pii\], 10.18632/oncotarget.2711](https://doi.org/10.18632/oncotarget.2711)
- [50] Linard C., et al. (2018). Autologous Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells Improve the Quality and Stability of Vascularized Flap Surgery of Irradiated Skin in Pigs. *Stem Cells Transl Med*. 7(8):569-82. DOI: [10.1002/sctm.17-0267](https://doi.org/10.1002/sctm.17-0267)
- [51] Lecarpentier Y., et al. (2018). Human Bone Marrow Contains Mesenchymal Stromal Stem Cells That Differentiate In Vitro into Contractile Myofibroblasts Controlling T Lymphocyte Proliferation. *Stem Cells Int*. DOI: [10.1155/2018/6134787](https://doi.org/10.1155/2018/6134787)
- [52] Steffens D., et al., (2015). Development of a biomaterial associated with mesenchymal stem cells and keratinocytes for use as a skin substitute. *Regen Med*. 2015 Nov;10(8):975-87. DOI: [10.2217/rme.15.58](https://doi.org/10.2217/rme.15.58)
- [53] Seidemann SB., et al., (2014). Development and pathologies of the arterial wall. *Cell Mol Life Sci*. Jun;71(11):1977-99. DOI: [10.1007/s00018-013-1478-y](https://doi.org/10.1007/s00018-013-1478-y)
- [54] Raffetto JD. (2016). Pathophysiology of wound healing and alterations in venous leg ulcers-review. *Phlebology*. Mar;31(1 Suppl):56-62. DOI: [10.1177/0268355516632998](https://doi.org/10.1177/0268355516632998)
- [55] Blaise S., et. Al., (2017). Roustit M, Forli A, Imbert B, Cracowski JL. Non-healing ischaemic digital ulcer in a systemic sclerosis patient: a challenging clinical case. *Int Wound J*. 14(6):978-81. DOI: [10.1111/iwj.12742](https://doi.org/10.1111/iwj.12742)
- [56] Fiordaliso F, (2016). Prospective study on microangiopathy in type 2 diabetic foot ulcer. *Diabetologia*. 59(7):1542-1548. DOI: [10.1007/s00125-016-3961-0](https://doi.org/10.1007/s00125-016-3961-0)
- [57] Li X, et. Al., (2018). Exosomes from adipose-derived stem cells overexpressing Nrf2 accelerate cutaneous wound healing by promoting vascularization in a diabetic foot ulcer rat model. *Exp Mol Med*. 13;50(4):29. DOI: [10.1038/s12276-018-0058-5](https://doi.org/10.1038/s12276-018-0058-5)
- [58] Payushina OV, (2018). Effect of Mesenchymal Stromal Cells and Conditioned Media on Healing of Skin Wound. *Bull Exp Biol Med*. 165(4):572-5. DOI: [10.1007/s10517-018-4215-6](https://doi.org/10.1007/s10517-018-4215-6)
- [59] Navone et al. (2014). Decellularized silk fibroin scaffold primed with adipose mesenchymal stromal cells improves wound healing in diabetic mice. *Stem Cell Research & Therapy* 5:7. <http://stemcellres.com/content/5/1/7>
- [60] Mineda Kazohide M., (2015). Therapeutic Potential of Human Adipose-Derived Stem/Stromal Cell Microspheroids Prepared by Three-Dimensional Culture in Non-Cross-Linked Hyaluronic Acid Gel. *Stem Cells Translational Medicine* 4:1511-1522. DOI: <http://dx.doi.org/10.5966/sctm.2015-0037>
- [61] Wu SC, et al., (2017). Safety and efficacy of intramuscular human placenta-derived mesenchymal stromal-like cells (cenplacel [PDA-002]) in patients who have a diabetic foot ulcer with peripheral arterial disease. *Int Wound J*. 14:823-829.
- [62] Ribeiro J., et al., (2014). Cell Therapy with Human MSCs Isolated from the Umbilical Cord Wharton Jelly Associated to a PVA Membrane in the Treatment of Chronic Skin Wounds. *Int. J. Med. Sci*. 11(10): 979-987. DOI: [10.7150/ijms.9139](https://doi.org/10.7150/ijms.9139)

[dx.doi.org/10.17488/RMIB.40.2.2](https://doi.org/10.17488/RMIB.40.2.2)

E-LOCATION ID: e201826

Simulación Mediante Elemento Finito de Sistemas Intramedulares Telescópicos para Rehabilitación de Pacientes con Osteogénesis Imperfecta

Simulation by Finite Element Method of Intramedullary Telescopic Systems for Rehabilitation of Patients with Osteogenesis Imperfecta

J. L. Rueda-Arreguín¹, C. R. Torres-San Miguel¹, V. Ramírez-Vela¹, G. Urriolagoitia-Sosa¹, L. Martínez-Sáez²

¹Instituto Politécnico Nacional

²Universidad Politécnica de Madrid

RESUMEN

En el trabajo se plantea el análisis de diferentes geometrías para un dispositivo intramedular, las cuales ayudan a reducir y evitar la migración, deformación y rotura del implante en tejido óseo afectado con Osteogénesis Imperfecta (OI). Se realizaron diseños en CAD de diferentes prototipos, donde se analizan las propiedades mecánicas en el alma del dispositivo, así como en las roscas distal y proximal de los implantes macho y hembra. Asimismo, se obtuvieron modelos 3D de huesos de un infante afectado con OI para realizar simulaciones mediante elemento finito de la interacción entre el hueso y el dispositivo intramedular. Los resultados muestran que los prototipos propuestos disminuyen la deformación del dispositivo, así como el aumento en la rigidez de la relación hueso-prótesis. Asimismo, las roscas generaron un menor esfuerzo en la unión con el hueso, lo que prevé un menor daño al tejido óseo. El trabajo se limitó al análisis numérico del rediseño de implantes telescópicos intramedulares para afectados con OI. Concluyendo que la geometría semicircular $\frac{3}{4}$ de caña, otorga un óptimo resultado en las pruebas realizadas, al tiempo que las roscas ACME proveen una mejor sujeción en las epífisis distal y proximal de los huesos largos.

PALABRAS CLAVE: Clavo telescópico; Osteogénesis imperfecta; Análisis numérico

ABSTRACT

In this work we propose the analysis of different geometries for an intramedullary device, which help to reduce and avoid the migration, deformation and rupture of the implant in bone tissue affected with Osteogenesis Imperfecta (OI). Designs of different prototypes were made in CAD, where the mechanical properties in the device's soul are analyzed, as well as in the distal and proximal threads of the male and female implants. Likewise, 3D bone models of an affected infant with OI were obtained to perform finite element simulations of the interaction between the bone and the intramedullary device. The results show that the prototypes proposed decrease the strain of the device, as well as the increase in the stiffness of the bone-prosthesis relationship. Also, the threads generated less stress in the union with the bone, which provides less damage to the bone tissue. The work was limited to the numerical analysis of the redesign of intramedullary telescopic implants for patients with OI. Concluding that the semicircular geometry $\frac{3}{4}$ of cane, gives an optimal result in the tests carried out, while the ACME threads provide a better subjection in the distal and proximal epiphyses of the long bones.

KEYWORDS: Telescopic system; Osteogenesis Imperfecta; Numerical Analysis

Correspondencia

DESTINATARIO: Christopher René Torres San Miguel
INSTITUCIÓN: Instituto Politécnico Nacional
DIRECCIÓN: Unidad Profesional Adolfo López Mateos
"Zacatenco", Edificio 5, 2do. Piso, Col. Lindavista,
C. P. 07320, Ciudad de México, CDMX, México
CORREO ELECTRÓNICO: ctorress@ipn.mx

Fecha de recepción:

29 de junio de 2018

Fecha de aceptación:

24 de febrero 2019

INTRODUCCIÓN

La *Osteogénesis Imperfecta* (OI), también llamada como la enfermedad de los huesos de cristal tiene como causa un desorden genético hereditario, que afecta principalmente la producción de colágeno, lo que trae como consecuencia en huesos con una densidad ósea y resistencia mecánica por debajo de lo normal ^[1]. Su tratamiento suele necesitar de la intervención de un equipo multidisciplinario; debido a las variables clínicas que se presentan en la enfermedad; dentro de las áreas más comunes se encuentran la rehabilitación física, tratamiento dental, terapia farmacológica, ortopedia e intervención quirúrgica son las que destacan ^[2].

A lo largo de la historia, las fracturas en huesos largos se han tratado mediante el uso de la osteosíntesis, la cual consiste en fijar los segmentos de hueso con ayuda de elementos de sujeción, como lo son placas metálicas, dispositivos intramedulares (clavos, tornillos y alambres), agujas y pines, entre otros, dependiendo de la gravedad de la fractura. Estos métodos resultan poco eficientes para el tratamiento de la OI, debido al principio manejado para su fijación que consiste en la penetración del hueso en diferentes zonas para el ajuste del dispositivo utilizado ^[3].

Posteriormente, debido a los excelentes resultados obtenidos al tratar las fracturas mediante los dispositivos intramedulares, se pensó en aplicar el mismo método en pacientes afectados con OI. Sin embargo, rápidamente se identificó el problema de estos dispositivos al tratar esta enfermedad, el cual presentaba dificultad en el telescopado del dispositivo, es decir, no crecía junto con el hueso, lo que llegaba a ocasionar un desplazamiento del clavo dentro del hueso obligando a realizar varias cirugías para el reacomodamiento de este ^[4]; ejemplo de lo anterior ocurre en 1959, cuando *Solfield y Millar* publican los resultados de la técnica quirúrgica que empleaban en el hospital *Chicago-Shriners* desde 1948 cuyo título es, *Fragmentation,*

realignment and intramedullary rod fixation of deformities of the long bones in children, donde varios pacientes eran niños afectados con OI, y un elevado porcentaje de los infantes mostraban nuevas fracturas al ser tratados con clavos intramedulares ^[5].

Conociendo el problema se trataron las fracturas con clavos intramedulares elásticos, *Elastic Stable Intramedullary Nail*, ESIN por sus siglas en inglés. Sin embargo, un nuevo problema surgió en estos clavos al ser sobre pasados por el hueso debido al crecimiento del infante, por lo que para asegurar un buen funcionamiento se optó por fijar el dispositivo en las epífisis distal y proximal del hueso ^[6]. En los años 60's se desarrollan los clavos telescópicos, los cuales al ser fijados en las epífisis redujeron dramáticamente el número de cirugías necesarias en un niño, no obstante, se seguían presentando complicaciones como el hecho que el crecimiento del niño sobrepasara el rango telescópico establecido para el clavo ^[7].

Inicialmente el dispositivo *Bailey-Dubow*TM fue el clavo telescópico utilizado para el tratamiento de la OI ^[5], documentando buenos porcentajes de éxito, este implante consiste en la inserción de sus dos componentes por cada una de las epífisis, es decir se realizan 2 perforaciones en el hueso. Posteriormente se desarrolló el dispositivo *Fassier-Duval*TM, el cual incorpora 2 roscas en ambos extremos del implante lo que permite ser introducido por un solo orificio, reduciendo así el número de operaciones a realizar para su inserción y extracción ^[7]. En la actualidad los implantes más utilizados para el tratamiento de la rehabilitación de huesos largos en pacientes con OI son los dos clavos telescópicos antes mencionados, aunque dependiendo del tipo de OI también se pueden utilizar clavos intramedulares elásticos o de fijación.

En el presente trabajo se revisarán diferentes geometrías para el diseño de un clavo telescópico especializado en pacientes con OI tipo III, para reducir los pro-

blemas existentes y conseguir un mejor porcentaje de éxito en la rehabilitación de estos pacientes. Se llevaron a cabo análisis numéricos con base en la norma ASTM 1264 a los clavos telescópicos propuestos. Finalmente, se muestran comparaciones entre las geometrías propuestas que conllevan a prevenir migraciones en el tratamiento.

METODOLOGÍA

La metodología aplicada en este trabajo se desarrolla sobre el rediseño de un dispositivo intramedular basado en las complicaciones que se encuentran documentadas dentro de la literatura acerca del dispositivo intramedular telescópico. El diseño de este dispositivo consiste en dos elementos cilíndricos, uno de ellos tubular, el cual se denomina implante hembra, y el segundo sólido, pero con un diámetro cercano al interno del implante hembra, llamado implante macho. Cada implante posee en un extremo una sección rosca, en el implante hembra de 1.65 cm y en el macho de entre 1.00 cm y 1.5 cm. La rosca que se emplea en el implante hembra es una rosca de perfil circular mientras que, en el implante macho el perfil es trapezoidal.

Basándose en las complicaciones encontradas dentro de la literatura, se proponen modificaciones en la geometría del implante macho con la finalidad de prevenir una rotación que desencadene en la pérdida de fijación del implante con la epífisis. Asimismo, se plantean modificaciones dentro de las roscas de los implantes, para lograr una mejor fijación entre implante-hueso y evitar la migración del dispositivo intramedular.

La metodología se desarrolla en este trabajo mediante la aplicación del método de elemento finito, en 15 diferentes casos de estudios, de los cuales 7 son con respecto a pruebas de flexión y torsión en el área del alma del dispositivo, 6 casos de estudio consisten en los análisis de la interacción de un modelo 3D de un hueso con OI y las diferentes roscas propuestas, con la finalidad de determinar la resistencia mecánica ejercido en

el sistema óseo, finalmente, 2 casos de estudio del tejido óseo afectado con OI sin implante y con un dispositivo intramedular colocado.

Se propusieron diferentes secciones transversales con las que se pueden atacar los problemas de rotación del implante macho. Las geometrías propuestas para el diseño de un nuevo clavo telescópico son: polígono hexagonal, circular con pestaña y un semicírculo 3/4 de caña, como se observa en la Figura 1.

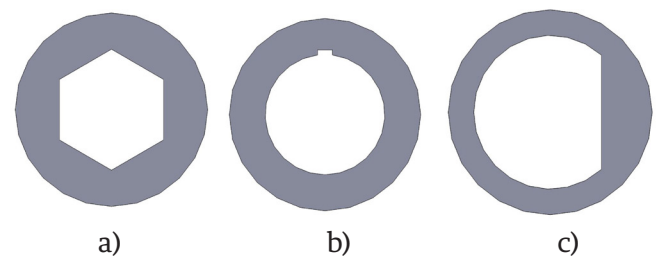


FIGURA 1. Casos de estudio. a) Hexagonal. b) Circular con pestaña. c) Semicírculo 3/4 de caña.

Prueba de flexión

Se realizó el análisis numérico en el dispositivo *Fassier-Duval*TM utilizando las condiciones de flexión en cuatro puntos establecidas por la norma ASTM 1264 para dispositivos intramedulares, con la finalidad de obtener un marco de referencia con el cual comparar las nuevas propuestas. Las propiedades del material empleado para el análisis numérico corresponden a un Acero Inoxidable 316L grado médico, el cual cuenta con un módulo de Young de 200 GPa, un coeficiente de Poisson de 0.268 y un límite elástico de 170 MPa [8].

Dentro de la literatura se conoce la biomecánica de las fuerzas que interactúan dentro de los huesos de la pierna, por lo que, se determinan las cargas con base al peso del paciente y la curvatura del hueso, metodología que se emplea en la determinación de las cargas aplicadas al sistema propuesto del clavo intramedular [9]. En el desarrollo del trabajo, se considera un paciente de estudio que presenta OI tipo III de 6 años de edad y un peso de 11 kg.

Con base en lo anterior, se aplicó una carga perpendicular de 100 N para simular el caso más extremo del paciente, el cual refiere a una bipedestación (Figura 2).

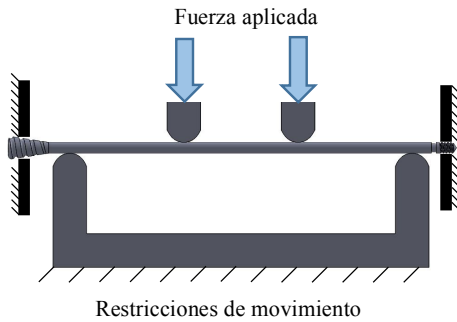


FIGURA 2. Condiciones de frontera para prueba de flexión en 4 puntos.

A continuación, se efectúa el discretizado de las piezas dentro del análisis, para eso se realiza un mallado libre con elementos triangulares. La Tabla 1 muestra el número de elementos y nodos de los casos analizados.

TABLA 1. Número de elementos y nodos generados para el análisis.

Dispositivo para analizar	No. de elementos	No. de nodos
Fassier-Duval®	24352	39626
Hexagonal	18874	33633
Circular con pestaña	18615	33669
Semicírculo 3/4 de caña	16973	30461

Prueba de torsión

Se realizaron pruebas de torsión establecidas dentro de la norma, a los 3 diseños propuestos para determinar su resistencia a la misma, y prevenir rotaciones que provoquen una deficiente rehabilitación en los huesos largos de los pacientes con OI.

Las condiciones bajo las que se someterá el estudio consistirán en aplicar un punto de sujeción en el extremo del implante externo y una fuerza de torsión

de 0.6 N/m en el extremo del implante interno. Se utiliza esta magnitud debido a que, al realizar el movimiento del tobillo, el único elemento que genera resistencia es el peso del pie, el cual se considera equivale al 1.5% del peso total de una persona, en este caso el paciente pesa 11 Kg, por lo que el pie equivaldría a 0.165 Kg.

Considerando que el pie actúa en forma de palanca con respecto a la tibia, se consideran el peso del pie como una masa puntual en el centro del pie, la cual se ubica a 2.5 cm del eje de la tibia, genera un par torsor de 0.6 N/m sobre el implante macho (Figura 3).

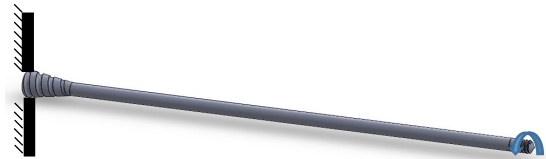


FIGURA 3. Condiciones de frontera en prueba de torsión.

De igual manera al caso anterior se realizó un mallado libre en los dos implantes del dispositivo intramedular. A continuación, en la Tabla 2 se observan los elementos y nodos generados para los análisis.

TABLA 2. Número de elementos y nodos generados en análisis de torsión.

Dispositivo para analizar	No. de elementos	No. de nodos
Hexagonal	10649	20246
Circular con pestaña	12962	24675
Semicírculo 3/4 de caña	10819	21096

Análisis numérico en ensamble rosca-epífisis

Se realizaron análisis numéricos considerando un ensamble hueso-implante. Para este se obtuvieron modelos tridimensionales de las epífisis de los huesos del paciente de 6 años con OI. Esto se llevó a cabo

mediante la realización de una tomografía axial computarizada (TAC) a un paciente con OI tipo III. El estudio tomográfico entrega una serie de imágenes en un formato denominado DICOM. Las imágenes fueron procesadas mediante el programa de cómputo ScanIP®, el cual permite realizar modelos virtuales del hueso. Posteriormente, con el apoyo del programa CAD Solidworks® se corrigió la superficie del modelo para convertirlo a un sólido exportable a un programa de cómputo de análisis mediante elemento finito.

Diferentes modelos de rosca son empleados para establecer la interacción que existe en la fijación hueso-implante. La Figura 4 muestra el modelado de la epífisis distal de la tibia del paciente con OI.

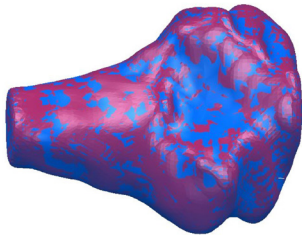


FIGURA 4. Modelo tridimensional de una epífisis distal de tibia.

Se realizó la parametrización de los clavos telescópicos considerando las roscas empleadas actualmente para el tratamiento de la OI. Adicionalmente, se efectuaron rediseños de los clavos modificando el perfil de la rosca, con la finalidad de conocer los esfuerzos generados en el tornillo, así como en el hueso del paciente (Figura 5 y Figura 6).

Se trasladaron los modelos CAD de la tibia al software SolidWorks®, con la finalidad de generar ensamblajes entre el implante macho del clavo telescópico y la epífisis, mostrado el ensamblaje en la Figura 7.

Para el análisis se introdujo al programa de cómputo, las propiedades mecánicas del hueso con OI, las cuales, un coeficiente de Poisson dentro de la literatura se

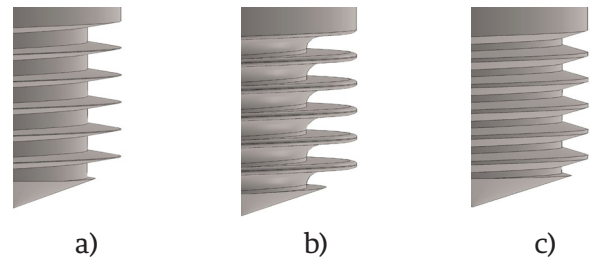


FIGURA 5. Modelos de rosca para epífisis distal. a) Rosca original. b) Rosca Cortical. c) Rosca ACME.

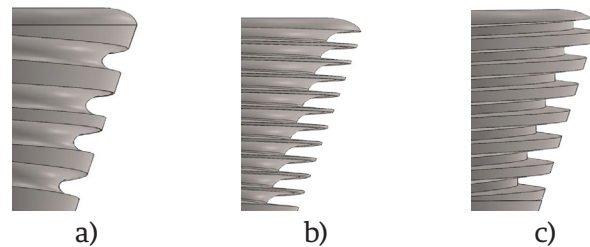


FIGURA 6. Modelos de rosca para epífisis proximal. a) Rosca original. b) Rosca Cortical. c) Rosca ACME.

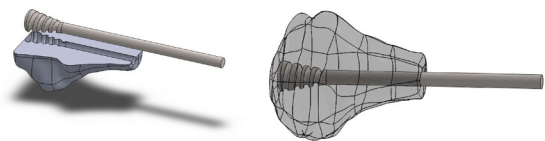


FIGURA 7. Modelo de ensamblaje de epífisis distal con implante hembra.

indica que posee un módulo de Young con valores cercanos a 12 GPa de 0.24 ± 0.08 y un límite elástico de 49 MPa, mientras que al dispositivo intramedular se le asignaron las propiedades mecánicas del Acero Inoxidable 316L el cual cuenta con un módulo de Young de 200 GPa, un coeficiente de Poisson de 0.268 y un límite elástico de 170 MPa.

Dentro de la literatura, se indica que pacientes con OI tipo III, durante su infancia, el crecimiento más notable que sufren llega a ser entre 10 y 12 cm de su estatura total, la cual representa en la tibia un crecimiento promedio de entre 3 y 4.5 cm [10]. Sin embargo, como se explicó anteriormente, estos dispositivos, al ser telescópicos se van alargando al mismo ritmo que el hueso, por lo que la reacción generada en la rosca es

mínima. Las condiciones de frontera empleadas para este caso de estudio consistieron en colocar una fijación en las epífisis, al mismo tiempo que se ejercía una fuerza de tensión de 50 N sobre el dispositivo, la cual será la misma en todos los análisis para poder realizar las comparaciones de los esfuerzos en la rosca,

En la siguiente Tabla 3, se muestra la cantidad de elementos y nodos generados mediante el mallado libre para el análisis de la rosca y la epífisis.

TABLA 3. Número de elementos y nodos utilizados durante el análisis del ensamble rosca-epífisis.

Dispositivo para analizar	No. de elementos	No. de nodos
Fassier-Duval®	11459	17859
Rosca Cortical	17454	27931
Rosca ACME	12571	19551

Análisis numérico en ensamble hueso-implante

Finalmente, en los últimos dos casos de estudio se procedió a realizar un análisis considerando un ensamble total del hueso y el dispositivo mostrado en la Figura 8, el cual fue sometido a cargas de flexión, considerando al hueso como una viga en cantiléver y simulando los movimientos de desplazamiento de un niño pequeño con los implantes colocados.

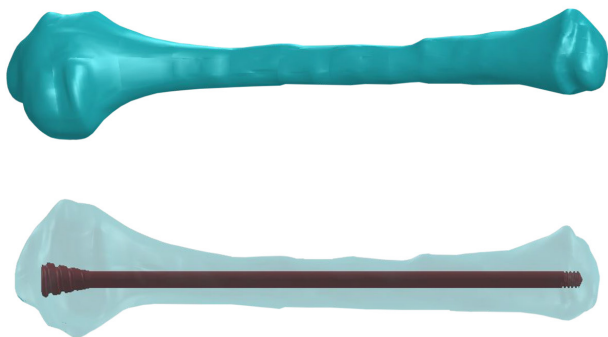


FIGURA 8. Modelo del ensamblaje y condiciones de frontera.

Para estos análisis el mallado libre para el hueso sin implante arroja una cantidad de elementos de 8763 y de 13898 nodos, mientras que para el ensamble entre hueso-implante género 20068 elementos y un total de 32623 nodos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados muestran esfuerzos, desplazamientos y deformaciones unitarias de los casos de estudio establecidos; de la misma manera, se recopilaron los datos en la Tabla 4, la Tabla 5, la Tabla 6, la Tabla 7 y la Tabla 8 con la finalidad de comparar el cambio geométrico del alma del implante macho y el anclaje en el ensamble del sistema.

Los resultados de la Tabla 1 y la Tabla 2 muestran los resultados de los primeros 7 casos de estudios correspondientes al análisis de flexión y torsión de los implantes con la modificación geométrica en el alma del dispositivo.

TABLA 4. Resultados de análisis numérico en 4 puntos de flexión.

Clavo	Esfuerzos σ (MPa)	Desplazamientos δ (mm)	Deformaciones Unitarias ϵ
Fassier-Duval®	433.32	0.63742	0.003382
Hexagonal	373.72	0.63196	0.00103
Circular con pestaña	448.88	0.55171	0.0008546
Semicírculo 3/4 de caña	338.844	0.5663	0.001218

TABLA 5. Resultados de torsión en dispositivos intramedulares.

Clavo	Esfuerzos σ (MPa)	Desplazamientos δ (mm)	Deformaciones Unitarias ϵ
Hexagonal	973.47	0.2321	0.003111
Circular con pestaña	1289.941	0.1731	0.004584
Semicírculo 3/4 de caña	575.76	0.19966	0.001648

A continuación, se observan los resultados de los análisis ejecutados a las roscas propuestas y el modelo tridimensional de un hueso con propiedades de OI. La Tabla 6 muestra los resultados para el caso de la epífisis distal, donde es la rosca del implante macho la que interactúa con esta y la Tabla 7 la interacción entre implante hembra y epífisis proximal.

TABLA 6. Resultados en epífisis distal.

Tipo de rosca	Esfuerzos σ (MPa)	Desplazamientos δ (mm)	Deformaciones Unitarias ϵ
Fassier-Duval®	23.425	0.00203	0.000394
Cortical	42.579	0.002157	0.00293
ACME	18.8	0.00204	0.000495

TABLA 7. Resultados en epífisis proximal.

Tipo de rosca	Esfuerzos σ (MPa)	Desplazamientos δ (mm)	Deformaciones Unitarias ϵ
Fassier-Duval®	16.139	0.00217	0.000348
ACME	30.565	0.002094	0.001355
Cortical	55.464	0.00228	0.001411

Asimismo, en la Figura 9 se puede observar un diagrama que permite observar las zonas que sufren un mayor desplazamiento al momento de ejercer una fuerza axial a lo largo de la epífisis.

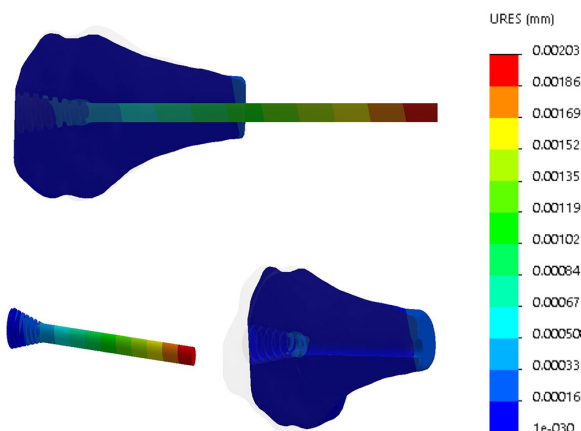


FIGURA 9. Análisis del desplazamiento de las roscas.

Finalmente, se observó que, al colocar el implante dentro del hueso se evita la flexión del tejido óseo, como se observa en la Figura 10, los esfuerzos se concentran en el dispositivo intramedular, permitiendo mantener el hueso recto y así, prevenir fracturas.

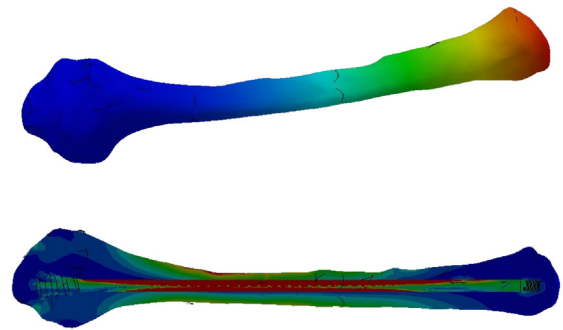


FIGURA 10. Deformaciones unitarias y esfuerzos de Von Mises en hueso con OI con implante.

Los esfuerzos encontrados en el hueso con el dispositivo intramedular son menores comparándolos con el hueso sin implante, lo siguiente se puede observar en la Tabla 8, donde se exhibe el esfuerzo máximo encontrado en la superficie del hueso en ambos análisis, mientras que el generado en las epífisis del hueso aumenta debido al anclaje generado por el dispositivo.

TABLA 8. Esfuerzos del análisis en el ensamble hueso-implante.

	Esfuerzo sobre la superficie del hueso MPa	Esfuerzo en epífisis distal MPa	Esfuerzo en epífisis proximal MPa
Hueso sin implante	402.06	14.92	4.24
Hueso con implante	260.22	67.60	57.07

Lo anterior radica en las propiedades mecánicas de los elementos implicados en el ensamblaje, como se observa en la Figura 10, el acero inoxidable 316 L, posee una mayor resistencia a deformarse, por lo que puede decirse que, en un análisis a flexión, el hueso únicamente se deformará en el punto que el implante sufra una deformación.

CONCLUSIONES

Con los datos obtenidos se puede observar fácilmente que la propuesta con mayor rigidez a la torsión es el clavo semicírculo 3/4 de caña. Mientras que el clavo que sufre una mayor deformación es el circular con pestaña, por lo que se puede concluir que, si bien el clavo circular con pestaña ofrece una mayor rigidez a la flexión, es fácilmente deformable a la torsión.

Con base en los resultados numéricos obtenidos de las propuestas en flexión y torsión, se puede concluir que, dentro de las geometrías propuestas, la de sección semicírculo 3/4 de caña es la que presenta una menor concentración de esfuerzos a la flexión, así como una menor deformación, bajo esta hipótesis este sería el rediseño con el que se pueden atacar las debilidades existentes dentro del clavo comercial que actualmente se utiliza para el tratamiento de la OI.

De acuerdo con los resultados de los análisis realizados a las roscas se puede observar que la ACME presenta una menor cantidad de esfuerzos en la zona de la epífisis distal, con lo que se puede argumentar que este tipo de rosca al no sufrir concentraciones de esfuerzos no daña la integridad del hueso, por consiguiente, la sujeción del implante con el hueso es mayor que con la rosca con la que actualmente cuneta el dispositivo.

En el caso de la epífisis proximal, el tipo de rosca que presenta menor concentración de esfuerzos es la que actualmente se encuentra en el dispositivo intramedu-

lar comercial, si bien los esfuerzos generados entre la rosca ACME y el clavo comercial crecen aproximadamente el doble, en esta sección debido a la forma cónica del extremo roscado proporciona una mayor sujeción entre el clavo y la epífisis, en cuanto al análisis tibial se refiere.

Finalmente, se observa que el clavo telescópico, le brinda una mejor resistencia ante los desplazamientos, asimismo, se encarga de actuar de concentrador de los esfuerzos que se generan durante la aplicación de la carga y de esta manera reducir los esfuerzos en el hueso.

Con los resultados obtenidos, se continuará la investigación realizando la manufactura del dispositivo intramedular con la finalidad de realizar pruebas experimentales ex vivo planteadas en este trabajo, en tejido óseo de carnero, esto debido a la similitud del canal intramedular con el tejido óseo humano con condiciones de OI.

AGRADECIMIENTOS

Los autores de este trabajo agradecen al Instituto Politécnico Nacional, Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, Asociación Angelitos de Cristal I.A.P., y a la Universidad Politécnica de Madrid por el apoyo brindado en la realización del presente trabajo. Los autores también reconocen el apoyo parcial del proyecto 20181141, así como la subvención EDI, todo proporcionado por SIP / IPN.

REFERENCIAS

- [1] Shapiro, J. R., Byers, P. H., Glorieux, F. H. y Sponseller, P.D., Osteogenesis Imperfecta: A Translational Approach to Brittle Bone Disease, Academic Press, United States of America, pp. 5-14, 2014. [DOI:10.1016/C2011-0-07790-6](https://doi.org/10.1016/C2011-0-07790-6)
- [2] Rommens, P.M., Hessmann, M. H. y Editores, Intramedullary Nailing. A Comprehensive Guide, Springer, pp. 565-572, 2015. [DOI:10.1007/978-1-4471-6612-2](https://doi.org/10.1007/978-1-4471-6612-2)
- [3] Rohrbach, M., Giunta, C., Recessive osteogenesis imperfecta: clinical, radiological, and molecular findings, American Journal of Medical Genetics Part C, Seminars in Medical Genetics, Vol. 160, 2012. [DOI: 10.1002/ajmg.c.31334](https://doi.org/10.1002/ajmg.c.31334)
- [4] Shapiro, J. R., Byers, P. H., Glorieux, F. H. y Sponseller, P.D., Osteogenesis Imperfecta: A Translational Approach to Brittle Bone Disease, Academic Press, United States of America, pp. 421-426, 2014. [DOI:10.1016/C2011-0-07790-6](https://doi.org/10.1016/C2011-0-07790-6)
- [5] Sofield, H. A., Millar, A., Fragmentation, realignment, and intramedullary rod fixation of deformities of the long bones in children: a ten year appraisal, The Journal of Bone & Joint Surgery, Vol. 41, 1959. [DOI: 10.2106/00004623-195941080-00001](https://doi.org/10.2106/00004623-195941080-00001)
- [6] Porat, S., Heller, E., Seidman DS, Meyer, S., Functional results of operation in osteogenesis imperfect: elongating and non-elongating rods, Journal of Pediatric Orthopaedics, Vol. 11, 1991. [DOI: 10.1097/01241398-199103000-00012](https://doi.org/10.1097/01241398-199103000-00012)
- [7] Rommens, P.M., Hessmann, M. H. y Editores, Intramedullary Nailing. A Comprehensive Guide, Springer, pp. 565-572, 2015. [DOI:10.1007/978-1-4471-6612-2](https://doi.org/10.1007/978-1-4471-6612-2)
- [8] Zaifeng F., Peter A. S., Gerald F. H., Frank R. Y Ruta B., Comparison of Nanoindentation Measurements Between Osteogenesis Imperfecta Type III and Type IV and Between Different Anatomic Locations (Femur/Tibia versus Iliac Crest), Connective Tissue Research, Vol. 48, pp. 70-75, 2007. [DOI: 10.1080/03008200601090949](https://doi.org/10.1080/03008200601090949)
- [9] Huiskes, R., Mow, Van C., Basic Orthopaedic Biomechanics & Mechano-biology, Lippincott Williams & Wilkins, 3rd Edition, United States of America, pp. 29-91, 2005. [DOI: 10.1186/1475-925X-4-28](https://doi.org/10.1186/1475-925X-4-28)
- [10] Enagonia, E., Nutrition in Osteogenesis Imperfecta, Osteogenesis Imperfecta: A Translational Approach to Brittle Bone Disease, Academic Press, United States of America, pp. 371-379, 2014. [DOI:10.1016/C2011-0-07790-6](https://doi.org/10.1016/C2011-0-07790-6)

[dx.doi.org/10.17488/RMIB.40.2.3](https://doi.org/10.17488/RMIB.40.2.3)

E-LOCATION ID: e201825

Towards designing Brain-Computer Interfaces in terms of User-Profiles, Neurophysiological Factors and User Experience

Hacia el diseño de Interfaces Cerebro-Computadora en términos del Perfil del Usuario, Factores Neurofisiológico y Experiencia del Usuario

L. M. Alonso-Valerdi, V. R. Mercado-García

Tecnológico de Monterrey, Escuela de Ingeniería y Ciencias

ABSTRACT

Brain-computer interfaces (BCIs) are technology in development that attempt to establish interaction between individuals and their surroundings by modulating their neural activity. One of the most common strategies to modulate neural activity is motor imagery (MI). However, research on MI-based BCIs has been mostly carried out on the system-related part, whereas the user-related part has been relatively ignored. Thus far, up to 30% of users cannot gain control of BCI, while the remaining ones reach modest performance. The exclusion of users in the system design has possibly led to this outcome. Therefore, the aim of this paper is to establish a mixed method based on interactive design principles and in line with (1) user-profile, (2) psychological and (3) neurophysiological factors, (4) BCI technical issues and (5) user-experience. Although some of these elements have been previously discussed, their integration and application are seldom considered during investigation.

KEYWORDS: Brain-Computer Interfaces; Neurophysiological Factors; User-Experience; User-Profile

RESUMEN

Las interfaces cerebro-computadora (ICC) son tecnología en desarrollo que intenta establecer interacción entre un individuo y su entorno a través de la modulación de su actividad neuronal. Una de las estrategias más usadas para modular la actividad neuronal ha sido la imaginación motora. Sin embargo, la investigación en ICC controladas por imaginación motora ha sido desarrollada mayoritariamente en términos del sistema, donde el usuario es generalmente ignorado. A la fecha, hasta el 30% de los usuarios no pueden controlar un sistema ICC basado en imaginación motora, mientras que el resto de los usuarios alcanzan un desempeño moderado. La exclusión de los usuarios en el diseño del sistema, posiblemente ha llevado al bajo índice de adaptación entre el sistema y el usuario. En base a esta evidencia, el objetivo de este artículo es establecer un método mixto sustentado en principios de diseño interactivo y considerando cinco elementos: (1) perfil del usuario, (2) factores psicológicos y (3) neurofisiológicos, (4) factores técnicos y (5) experiencia del usuario. Aunque todos estos elementos han sido discutidos previamente, su integración y aplicación son muy poco frecuentes durante la investigación.

PALABRAS CLAVE: Interfaces Cerebro-Computador; Factores Neurofisiológicos; Experiencia del Usuario; Perfil del Usuario

Correspondencia

DESTINATARIO: Luz María Alonso Valerdi
INSTITUCIÓN: Tecnológico de Monterrey,
Escuela de Ingeniería y Ciencias
DIRECCIÓN: Ave. Eugenio Garza Sada #2501,
Col. Tecnológico, C. P. 64849, Monterrey,
Nuevo León, México
CORREO ELECTRÓNICO: lm.aloval@tec.mx

Fecha de recepción:

12 de junio de 2018

Fecha de aceptación:

24 de febrero de 2019

INTRODUCTION

A brain-computer interface (BCI) is a system that attempts to establish interaction between individuals and their surroundings by translating brain signals into control commands. Brain signals are modulated by control tasks, which can be of two types: endogenous and exogenous. Endogenous control tasks refer to mental rehearsal such as imagination of specific movements without actual execution (i.e., motor imagery) or mental rotation of 3D objects. On the other hand, exogenous ones regard the focus of attention towards visual, auditory or haptic stimuli ^[1].

One of the most commonly used control task has been motor imagery (MI) due to the natural way to perform the task and the sense of agency ^[2]. Research on MI based BCIs has been mostly carried out on the system-related part. However, the user-related part has been relatively ignored. Thus far, a considerable portion of naïve users have been classified as low aptitude users because they do not achieve adequate system performance (i.e., detection of at least 70% of neural patterns associated with MI). According to ^[3, 4], researchers in the field have reported portions of low aptitude naïve users from 40% to 60% of their sample in use. Similarly, it was argued in ^[2] that between 15% and 30% of naïve users could not control BCI at all, whereas the remaining users only reached modest performance. It is also important to note that performance variation is not only present across different users, but also the same user can present high performance variations ^[5, 6]. The exclusion of users in the system design has possibly led to this outcome.

The system design in terms of the user, rather than in terms of the system per se, is well-known as interaction design ^[7]. In the light of aforementioned evidence, it seems plausible that BCI community has been failing in developing interactive designs of MI based BCIs. Therefore, the present paper aims to offer some important insights into interactive design of MI based BCIs by

raising three fundamental questions: (1) who is going to use the system? (2) how is the system going to be operated? and (3) where is the system going to be used?

The first question concerns the user. So far, users have been seen as entities with no history. However, every individual has different anatomy, body functioning, lifestyles, habits, skills, and interests. It has been shown that all of these factors (and many others) determine the nature of the brain activity, and the feasibility of being modulated through MI ^[2]. As a result, the first step towards prototyping interactive designs must be to build up *user-profiles*.

The second question relates to the control tasks. In MI based BCIs, the term “control task” refers to generate motor mental images that could produce distinguishable brain patterns over the scalp. MI related control tasks are a skill that must be acquired by training, and which also depends on the user-profile. Furthermore, imaginary movements are predicted and produced in line with motor repertoires inherited at birth and built along lifetime ^[8]. Thus, *psychological and neurophysiological factors* of MI-related control tasks must be considered as well.

The third question is associated with the context, which can be physical, social, and organizational ^[9]. Physical context may limit the number of tasks undertaken at a time due to environmental distractors, and it could also push users to explore different ways to solve the same problem at different times. Social context can determine user guidance, and even the acceptability of certain designs. Organizational context is associated with the availability of easy-to-access and easy-to-digest information. All these factors strongly influence the user performance, but such influence might be quantifiable, once a prototype had been tested by end-users in real working conditions ^[10]. Consequently, *user-experience (UX)* must be obtained to redesign MI based BCIs in line with end-user requirements.

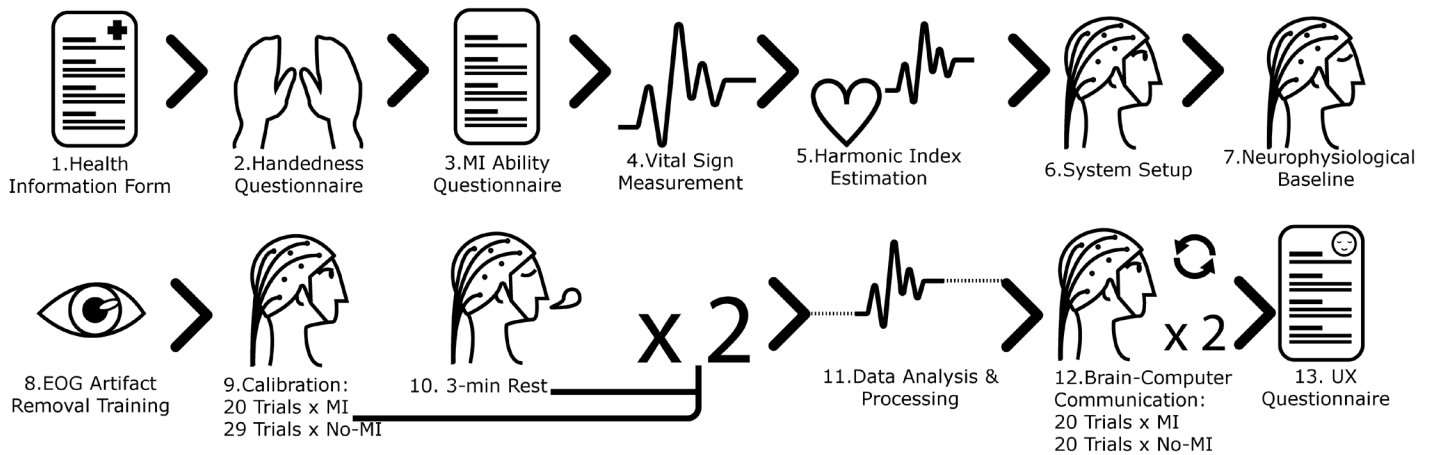


FIGURE 1. Methodological workflow to design MI based BCIs in line with user-profile, psychological factors, neurophysiological evaluation, and UX undergone throughout the brain-computer communication.

In the light of the above discussion, the aim of this paper is to establish the initial steps towards new methods for designing easy-to-learn, effective-to-use and enjoyable MI based BCIs on the basis of (1) user-profiles, (2) psychological and neurophysiological factors associated with MI control tasks, and (3) UX so as to improve individual user performances, and increase the number of qualified users.

MIXED METHOD FOR BCIs

BCI community has been always surrounded with hopes and expectations of providing a reliable way of communication between the human brain and a computer system. This research field has been getting more robust in important areas ranging from pattern recognition to electrode (transducer to record non-invasively electrical body activity) and material improvements, along with human-computer interaction techniques. However, methodologies are often skipped or dimly presented in the state-of-the-art publications^[11], leading to a great difficulty or impossibility of replicating experiments in this area. The purpose of this paper is to propose a mixed methodological procedure in line with user-profiles, neuro-evaluations (both psychological and physiological), and UX. The step-by-step proposed method is depicted in Figure 1. As can be seen from the figure, the method involves 12 steps,

which are encompassed under five stages: (1) user-profile, (2) psychological and (3) neurophysiological evaluation, (4) technical issues in BCI and (5) UX.

User-profile

As can be seen, life history, life style, and living conditions of users affect MI based BCI performance, and from here, the relevance of create user-profiles. A user-profile can be helpful to define the system structure to exploit user strengths, and overcome user weaknesses. It is proposed to build up user-profiles according to health information, lifestyle, and handedness.

Health information and lifestyle

Health information and lifestyle can reveal the facility or difficulty of users to produce specific imaginary movements at the time of controlling a MI based BCI^[12, 13]. By way of illustration, an online questionnaire concerning physical and medical condition, sleeping and nutrition habits, alcohol consumption, smoking habits, and hormonal conditions has been attached to this [paper](#)ⁱ. In addition, vital signs, including body temperature, breathing frequency, blood pressure and heart rate should be registered. Particularly, heart rate is very relevant to adjust the frequency band of sensorimotor rhythms (brain patterns related to MI) according to the neurobiology aspects of the user. It is com-

mon practice to make use of the pre-defined frequency bands. However, it is well-established that neural oscillations change over lifecycle. By using heart rate and applying the brain-body coupling theory can be estimated neural resonance rhythms of each user ^[14].

Handedness

Imaginary movements stimulate the same neurocognitive and learning processes as actual ones. Thus, it is expected the relevance of the dominant hand of BCI users. In ^[15], this point is clearly illustrated. Researchers found that MI practice with the dominant hand resulted in larger and more robust improvements in movement speed compared with MI practice with the non-dominant one. As it is very relevant to determine participant handedness, standard handedness [evaluation](#)ⁱⁱ related to hand preference to carry out daily tasks such as writing, drawing, throwing, striking a match, opening a box, eating, toothbrushes, brooms, and scissoring are necessary. This test is based on ^[16]. Once the test has been completed, a laterality index is obtained which determines the percentile of handedness for the participant. By identifying the dominant hand, a well-chosen selection of control tasks for brain-computer interfacing may be offered at the prototype stage.

Psychological factors

To date, the psychological factors associated with MI tasks have been (1) perception of an imagination task, (2) visual-motor coordination, (3) level of attention, (4) spatial abilities, (5) intelligence, (4) personality traits, (5) psychological well-being, (6) motivation, and (7) mood ^[17]. All these factors may be encompassed under two categories: MI process and motivation. On the one hand, the imagination strategy to elicit motor mental images and the level of difficulty of the motor task (e.g., duration, velocity, complexity) are factors that affect whether users achieve to control their brain activity through MI control tasks ^[18, 3]. On the other hand, the level of user engagement at the moment of the brain-computer communication has always been

critical. Motivation is a very complex factor that cannot be only influenced by entertainment and excitement as has been done via virtual environments, but it can also be modified via fatigue and frustration ^[19].

On this evidence, objective (e.g., psychophysiological monitoring) and subjective (e.g., questionnaires) evaluations of the user mental state along the experimental procedures should be obligatory. For instance, several MI questionnaires have been provided to measure movement imaginary abilities. There is no certainty about MI existence since it exclusively depends on the user intentions, and he/she is the only one who knows what and how is happening internally. Therefore, a way to give an insight into user mental projections is to evaluate movement imagery ability by means of official [questionnaires](#)ⁱⁱⁱ ^[20, 21, 22]. Note that these questionnaires have been also used as a simple method to detect BCI illiteracy in MI based BCIs ^[23]. Unfortunately, it is still occasional to see that researchers in the field do not report to have made use of them. Furthermore, not only the use, but also the analysis of the questionnaire outcomes should be obligatory.

Neurophysiological factors

As it has been herein discussed, MI is an individual capacity to image movements and a skill that needs to be acquired. Brain-computer communication depends on the fertility of imaginary movements selected as control tasks, since the voluntary control of brain activity is achieved by the effectiveness of MI mechanisms employed by the user. Similar to other authors, it is herein considered that brain-computer communication will breakdown, even applying the most sophisticated computational algorithms, if user is unable to show great motor imagination.

Hitherto, it has been commented about personal attributes and psychological factors that determine the nature of MI. However, the genetic influence and the evolution of brain activity along the life-cycle

could be even more determinant. A notable example is the theory proposed by Klimesch, who suggested that brain-body interactions can be described as a complex system that couples and decouples on the basis of a specific harmonic frequency: heart rate ^[14]. This theory establishes that heart rate, which is known to vary with body size, age, and sex, is the basic frequency and the scaling factor for all other frequency domains: (1) brainstem oscillations that trigger inhaling and exhaling, (2) breathing frequency, and (3) brain oscillations. The work of Klimesch confirms that brain oscillations are determined by basic biological factors; and moreover, that they can be adjusted according to the individual heart rate. In a similar case, brain oscillations in alpha and beta bands over the sensorimotor cortex at resting state have been used to anticipate the user performance in MI based BCIs ^[24]. In the same line of thinking, brain oscillations in high theta, low alpha, and gamma frequency bands have been also proposed as neurophysiological predictors of MI suitability as control task ^[3, 25]. Besides, brain activity has not only been used to characterize individuals as potential BCI users, but the electrophysiological activity of nervous system has also been subject of study. As a case in point, MI ability through electro-dermal activity was assessed in ^[26]. As it can be seen, abundant and strong neurophysiological evidence has been accumulated to show that feasibility and reliability of interactive systems such as BCIs depend on biological and physiological aspects of users. Additionally, all this information must be utilized (1) to estimate neural features used to detect MI related control tasks, (2) to evaluate new training protocols, (3) to quantify the learning level of user, and (4) to assess new multi-sensorial feedback strategies such as tactile stimulation.

Vital signs and harmonic index

In the light of the above discussion, vital signs, including body temperature, breathing frequency, blood pressure and heart rate should be registered, before an BCI experimental procedure. Particularly,

heart rate is very relevant to adjust the frequency band of sensorimotor rhythms according to the neurobiology aspects of the user. It is common practice to make use of the pre-defined frequency bands. However, it is well-established now that brain oscillations change over life-cycle, and the brain-body coupling theory can help to localize “real” neural resonance of each user ^[14].

Neurophysiological predictor

In addition to vital signs, recording of brain activity at rest before a BCI experimental procedure should be also considered. Some parameters that can be determined by using this recording are individual alpha frequency and the neurophysiological predictor index to categorize users with low or high MI aptitudes. As it was aforementioned, such user categorization can be helpful to test the effectiveness of new training protocols or new feedback strategies. To obtain the individual alpha frequency, it can be employed the method proposed in ^[27], where two three-minute-long recordings in eyes-closed and eyes-open conditions are necessary. Individual alpha frequency is specifically obtained from two occipital recording sites over the scalp. To estimate the neurophysiological predictor index, the method proposed in ^[28] has demonstrated to be one of the most effective. The method requires a two-minute-long recording in eyes-closed condition. The general procedure consists in calculating the power spectral density of two central recording sites over the scalp ^[24]. Implementations can be found in public sites such as GitHub ^[29].

BCI: Technical issues

The discussion of BCI design is beyond the scope of this paper. However, there are some critical technical issues that are often ignored, and determinant to establish brain-computer communication.

Electrode montage

The commonly used method to record brain activity is Electroencephalography (EEG). An EEG signal is typically measured between two electrodes, and one of

them is used as referencing point. However, it is frequently overlooked the sensitiveness of the referencing electrode to the electrical brain activity. It is common practice to place the referencing electrode on a hypothetically “inactive” area of the scalp, or on another part of the body such as the left or right earlobe, or thereof. When a particular lobe is chosen as a reference, the EEG amplitude decreases on the electrodes that are close to the referencing electrode. When linked earlobes is chosen, the asymmetry effect of using one lobe referencing electrode is avoided. However, the link wire between two earlobe referencing electrodes affects intracranial currents that produce the EEG potentials. This inconvenient effect also produces a distortion on the EEG recording [30, 31, 32, 33]. The referencing issue on EEG has been analyzed by the BCI community. A case in point, the estimation of the optimal location of the referencing electrode for MI based BCI using functional magnetic resonance imaging was proposed in [34]. In such method, a proper referencing point was estimated to maximize the differentiation between two mental tasks: imagination of left and right finger movements. Authors found that the best reference to discriminate two MI related tasks was FCz, a recording site localized on the supplementary motor area.

The electrode montage determines the spatial filtering of the EEG signals, which in turn maximizes the neuro-mechanisms of interest. This is why the selection of an optimal electrode montage, along with exact electrode location, is significant. On the one hand, electrode positioning must be in line with an imaginary transversal line drawn from nasion to inion, and an imaginary longitudinal line drawn from left to right pre-auricular points. The crossing point of these two imaginary lines should be the recording site Cz (Figure 2 - top section). On the other hand, if the detection of alpha and beta rhythms over the sensorimotor cortex (those that reflect MI activity) is of interest, the typical recording sites are C3, Cz and C4, in conjunction with their neighboring sites (Figure 2 - bottom section).

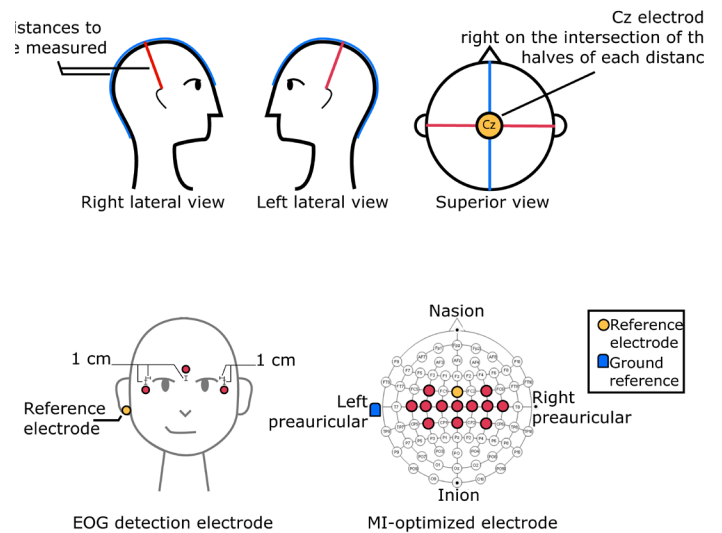


FIGURE 2. EEG and EOG electrode montage: procedure and location. EEG are mounted over the sensory-motor cortex to record C3, Cz and C4, along their neighboring recording sites to spatially filter by small Laplacian method.

Removal of EOG artefacts

Electrical activity proceeding from eye movements and blinking (i.e., electrooculography (EOG)) are one of the main interference sources during EEG recording. As a result, it is very important to adopt a method to minimize EOG effects. A practical and optimal method to detect and remove EOG artifacts in online mode was proposed in [35]. The EOG montage is based on three recording sites (Figure 2 - bottom section) and a three-minutes-long recording. Over the first two minutes, participants should be asked to follow with their sight an object covering as much sight space clockwise for the first minute, and counter-clockwise for the second one. Over the third minute, participants should be asked to blink continuously.

Calibration and online communication

As it is well-established, a minimum of 40 trials per control task in use is necessary to calibrate a MI based BCI. Once the system has been calibrated, brain-computer communication can be initiated. During BCI experiments, it is very important to keep in mind that volunteers need to take comfortable positions, to

drink some water or eat some snack, to stand up and move around, or even to be on the phone from time to time. Relaxation periods are essential for any experimental protocol since human beings have limited mental resources [36].

User-Experience (UX)

In addition to the individual characteristics of users, their perspective about the BCI system should be studied as well [37]. Precisely, the term “user-experience” was introduced to define a person perceptions and responses that result from the use of a system. According to human-centered design processes for interactive systems (ISO 9241-210), UX includes the emotions, beliefs, preferences, perceptions, physical and physiological responses, behaviors and accomplishments of the user before, during, and after the interaction with the system. UX evaluation might allow to redesign BCI prototypes in terms of user necessities and desires. An alternative can be the official UX questionnaire. The purpose of UX questionnaire is to evaluate aesthetic attractiveness, level of task understanding, predictability, levels of innovation, creativity and excitement. This source of information can be used to improve user-system interaction in BCIs. In [38], it is suggested that the distribution of UX questionnaires in BCI studies has increased user acceptance, user enjoyment, and human-computer interaction. This evaluation could lead to increase the interaction quality between the user and the BCI system [39, 40].

DISCUSSION

A distinctive characteristic of BCI community during the system-part development has been the transparent and openness of the computational algorithms, what has led to the standardization of data processing pipelines. So far, a wide variety of open-source software has been released. The best known and extensively used packages include BCI2000 [41], BCILAB [42], BioSig [43], FieldTrip toolbox [44], OpenViBE [45], and EEGLAB [46]. In order to continue fostering the commu-

nication practices [47], it is proposed a step-by-step methodology towards the interactive prototyping of MI-based BCIs. According to Figure 1, the methodology involves 13 steps, which are encompassed under five stages: user-profile, psychological and neurophysiological assessment, brain-computer communication, and UX evaluation. See Figure 1.

Towards designing BCIs in terms of user-profiles, neurophysiological factors and UX, the first step that a BCI research team must take in order to create a new interaction paradigm relies exclusively on getting to know the user. This means to actually reach for the user by considering demographic factors, socioeconomic position, familiarity with technology products, occupation, devices and products which are constantly in contact with the user among many other factors that are often trivialized. User and his/her context represent a mine of information which can be used to take advantage of elements that could result familiar to them for designing a system which can merge easily with reality. The second step is to consider expectations from the user, which derive from the context. Questions such as (1) Has the user used a computer before? (2) Does the user perform long concentration tasks? If yes, (3) how does the user feel about that? (4) What are the concepts that come to the user mind when BCIs are mentioned to him? and (5) How much time does he/she think that he/she can maintain focus on repeating modulation tasks? must be answered before any line is drawn or any code is typed. The community must reject the idea of adapting the users to what is already there if a better performance wanted to be reached. The third and last step refers to the design and development the BCI system and an appropriate working environment. For that purpose, it must be considered that imaginary movements are predicted in line with motor repertoires built along lifetime, and sensory predictions made through context scanning (similar to actual movements). Therefore, a favorable and familiar system and working environment that

provide at a first glance the sufficient sensory information about which imaginary movements are needed to interact with such environment must be created. Thereafter, it is necessary to identify the imaginary movements in line with the nature of the working environment so as to modify that environment as if imaginary movements were being actually executed. This achieves consistency between what is imagined and how that mental image is effectuated. Frequently, the set of imaginary movements that user performs to establish brain-machine communication is not strongly related to the control panel of the system. The consistency between imaginary movements and control mechanisms is referred to as transparent mapping. Finally, sensory feedback to obtain perceptual information about the environmental changes effected by the MI activity in use must be provided.

Prototyping interactive MI based BCIs in terms of user-profiles, psychological and neurophysiological factors, and UX can lead to the early involvement of end-users, and the appropriate contextualization of the final applicability of the system. At early stages of MI based BCI prototyping, this design strategy identifies and involves day-to-day activities, employment of existing technology, emotions, and expectations of end-users. Thereby, questions such as (1) What are the simplest and most routine tasks of users at the time of interacting with present-day technology? (2) How can those tasks be mapped into MI related control tasks? (3) Do users feel comfortable at using this kind of technological platforms? (4) What are the user expectations about the system performance? or (5) Would users make use of BCI based technology for their activities of daily living? could be answered. Based on that documentation, more feasible prototypes may result.

Interaction design of MI based BCIs challenges traditional paradigms since it attempts to restructure the system functionality by making users the central part of the system. This empathy-driven approach has

shown to provide a better UX, which in turn diminishes frustration and increases involvement. Interaction design does not pretend to discard or demerit previous efforts, but to move towards natural and intuitive user-system interactions. This design technique may help users to imagine specific movements in specific contexts, facilitating the detection to brain patterns associated with the control tasks in use [48, 49, 50, 51, 52]. In the traditional paradigms, it is common practice to map arbitrarily imaginary movements of (1) mouth, (2) foot, (3) left hand, and (3) right hand to the control commands (1) move forward, (2) move backward, (3) turn left, and (4) turn right, regardless of the particular BCI application. Namely, what user thinks is not what system effectuates. This inconsistent control mapping causes confusion, and hinders the user-system adaptation, since not only MI skill acquisition is necessary, but also the correlation between mental rehearsal and control panel [53, 54, 55]. Interaction design allows to conceptualize and contextualize opinions, emotions, and expectations of end-users. The preliminary results presented in [50] and [54], along with the critiques provided [48], are the theoretical framework of this proposal, and demonstrate the relevance of interaction design of MI based BCIs.

Regardless of the benefits of interaction design in MI based BCI prototype, there are some sources of weakness in the approach. Firstly, this practice is rarely implemented by the BCI community since it takes time and demands resources. Secondly, the appropriate implementation of interactive methodologies strongly determines the system performance. Thirdly, there is no a conventional methodology yet. Moreover, methodological standardization could be complicated since interaction design hinges on the application of the system. Interaction design is a heuristic approach since every person is different, and then, the prototype cannot be considered neither universally functional or accepted.

CONCLUSION

The interest on MI based BCIs has been growing exponentially. Although the idea of direct brain-computer communication is very attractive stand alone, BCIs as a tool in Neurosciences to investigate sensorimotor transformations of the nervous system has magnified BCI research. Of particular interest is the neural mechanism behind the motor system, because movement is the only way human beings have for interacting with the world. When this system is malfunctioning, people eventually or suddenly lose their autonomy, what leads to overcome several socio-economical pitfalls. Only in Mexico, around 15.9 million people have some kind of limitation, either mental or physical. This means that 6% of the total population in the country have a poor quality of life. According to the National Institute of

Statistics and Geography (2014), mobility restrictions are the most recurrent disability and they are typically associated with aging process, traumatic injuries or congenital conditions. Unfortunately, MI based BCIs are still a laboratory prototype since not anyone at any time can control the system. The system functionality greatly depends on the modulation of EEG signals by means of MI related tasks. MI as control task in BCIs has been seen as a skill that must be acquired, but no user conditions nor controlled learning conditions have been taken into account. In this paper, it has been proposed a mixed methodology on the basis of (1) user-profiles, (2) psychological and neurophysiological factors associated with MI control tasks, and (3) UX so as to improve individual user performances, and increase the number of qualified users.

REFERENCES

- [1] C. S. Nam, A. Nijholt and F. Lotte, *Brain-Computer Interfaces Handbook: Technological and Theoretical Advances*, New York: CRC Press, 2018.
- [2] C. Jeunet, B. N'Kaoua and F. Lotte, "Advances in user-training for mental-imagery-based BCI control: Psychological and cognitive factors and their neural correlates," *Progress in Brain Research*, vol. 228, no. 1, pp. 3-35, 2016.
- [3] M. Ahn and S. C. Jun, "Performance variation in motor imagery brain-computer interface: A brief review," *Journal of neuroscience methods*, vol. 243, no. 1, pp. 103-110, 2015.
- [4] S. Marchesotti, M. Bassolino, A. Serino, H. Bleuler and O. Blanke, "Quantifying the Role of Motor Imagery in Brain-Machine Interfaces," *Scientific Reports*, vol. 6, no. 1, p. 24076, 2016.
- [5] M. Grosse-Wentrup and B. Schölkopf, "A review of performance variations in SMR-based Brain- Computer interfaces (BCIs)," *Brain-Computer Interface Research*, vol. Springer Berlin Heidelberg, no. 1, pp. 39-51, 2013.
- [6] J. Štaftrný, P. Sovka and M. Kostilek, "Overcoming Inter-Subject Variability In BCI Using EEG-Based Identification," *Radioengineering*, vol. 23, no. 1, 2014.
- [7] Y. Rogers, et al., *Interaction design: beyond human-computer interaction*, 3rd ed., Italy: John Wiley & Sons, 2011.
- [8] E. G. Chryssikou, D. Casasanto and S. L. Thompson-Schill, "Motor experience influences object knowledge," *Journal of Experimental Psychology: General*, vol. 146, no. 3, p. 395, 2017.
- [9] D. Benyon, *Designing Interactive Systems: A comprehensive guide to HCI, UX and interaction design*, 3rd ed., Edinburgh: Pearson, 2014.
- [10] H. Gürkök, G. Hakvoort, M. Poel and A. Nijholt, "Meeting the Expectations from Brain-Computer Interfaces," *Computers in Entertainment*, vol. 15, no. 3, pp. 1-10, 2017.
- [11] T. W. Picton, S. Bentin, P. Berg, E. Donchin, S. A. Hillyard, R. Johnson, G. A. Miller, W. Ritter, D. S. Ruchkin, M. D. Rugg and M. J. Taylor, "Guidelines for using human event-related potentials to study cognition: recording standards and publication criteria," *Psychophysiology*, vol. 37, no. 2, pp. 127-152, 2000.
- [12] C. Jeunet, B. N'Kaoua and F. Lotte, *Towards a cognitive model of mi-bci user training*, Bordeaux: <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01519476>, 2017.
- [13] L. M. Alonso-Valerdi and A. A. González-Garrido, "Cognitive and Computational Neuroscience - Principles, Algorithms and Applications," in *Characterizing Motor System to Improve Training Protocols Used in Brain-Machine Interfaces Based on Motor Imagery*, S. A. Hosseini, Ed., DOI: 10.5772/intechopen.68377, *InTech Open*, 2018, pp. 57-78
- [14] W. Klimesch, "An algorithm for the EEG frequency architecture of consciousness and brain body coupling," *Frontiers in Human Neuroscience*, vol. 7, pp. 1-4, 2013.
- [15] R. J. Gentili and C. Papaxanthis, "Laterality effects in motor learning by mental practice in right-handers," *Neuroscience*, vol. 297, no. 1, pp. 231-242, 2015.
- [16] R. Oldfield, "The assessment and analysis of handedness: the Edinburgh inventory," *Neuropsychologia*, vol. 9, no. 1, pp. 97-113, 1971.
- [17] E. M. Hammer, S. Halder, B. Blankertz, B. Sannelli, T. Dickhaus, S. Kleih, K. R. Müller and A. Kübler, "Psychological predictors of SMR-BCI performance," *Biological Psychology*, vol. 89, no. 1, pp. 80-86, 2012.
- [18] C. Jeunet and F. Lotte, "Why and How to Use Intelligent Tutoring Systems to Adapt MI-BCI Training to Each User," in *6th International BCI Meeting*, Graz, 2016.
- [19] A. Myrden and T. Chau, "Effects of user mental state on EEG-BCI performance," *Frontiers in Human Neuroscience*, vol. 9, p. 308, 2015.
- [20] M. Gregg, C. Hall and A. Butler, "The MIQ-RS: a suitable option for examining movement imagery ability," *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, vol. 7, no. 2, pp. 249-257, 2010.
- [21] F. Malouin, C. L. Richards, P. L. Jackson, M. F. Lafleur, A. Durand and J. Doyon, "The Kinesthetic and Visual Imagery Questionnaire (KVIQ) for assessing motor imagery in persons with physical disabilities: a reliability and construct validity study," *Journal of Neurologic Physical Therapy*, vol. 31, no. 1, pp. 20-29, 2007.
- [22] C. Papadelis, C. Kourtidou-Papadeli, P. Bamidis and M. Albani, "Effects of imagery training on cognitive performance and use of physiological measures as an assessment tool of mental effort," *Brain and Cognition*, vol. 64, no. 1, pp. 74-85, 2007.
- [23] A. Vuckovic and B. A. Osuagwu, "Using a motor imagery questionnaire to estimate the performance of a brain-computer interface based on object oriented motor imagery," *Clinical Neurophysiology*, vol. 124, no. 1, pp. 1586-1595, 2013.
- [24] B. Blankertz, C. Sannelli, S. Halder, A. Kubler, K. R. Muller, G. Curio and T. Dickhaus, "Neurophysiological predictor of SMR-based BCI performance," *Neuroimage*, vol. 51, no. 4, pp. 1303-1309, 2010.
- [25] M. Grosse-Wentrup and B. Scholkopf, "High gamma-power predicts performance in sensorimotor-rhythm brain-computer interfaces," *Journal of Neural Engineering*, vol. 9, no. 046001, 2012.
- [26] A. Guillot, C. Collet, V. A. Nguyen, F. Malouin, C. Richards and J. Doyon, "Functional neuroanatomical networks associated with expertise in motor imagery," *Neuroimage*, vol. 41, no. 4, pp. 1471-1483, 2008.
- [27] D. Posthuma, M. C. Neale, D. I. Boomsma and E. J. C. de Geus, "Are smarter brains running faster? Heritability of alpha peak frequency, IQ, and their interrelation," *Behavior Genetics*, vol. 31, no. 6, pp. 567-79, 2001.
- [28] S. Halder, D. Agorastos, R. Veit, M. Eva, S. Hammer, B. Lee, B. Varkuti, M. Bogdan, W. Rosenstiel, N. Birbaumer and A. Kübler, "Neural mechanisms of brain-computer interface control," *Neuroimage*, pp. 1779-1790, 2011.
- [29] L. M. Alonso-Valerdi, "Python Executable Script for Estimating Two Effective Parameters to Individualize Brain-Computer Interfaces: Individual Alpha Frequency and Neurophysiological Predictor," *Frontiers in Neuroinformatics*, vol. doi: 10.3389/fninf.2016.00022, pp. 10-22, 2016.
- [30] T. K. Bera, "Noninvasive electromagnetic methods for brain monitoring: a technical review," *Brain-Computer Interfaces*, vol. Springer, no. Cham, pp. 51-95, 2015.

- [31] J. Dien, "Dien J. Issues in the application of the average reference: Review, critiques, and recommendations," *Behavior Research Methods, Instruments, & Computers*, vol. 30, no. 1, pp. 34-43, 1998.
- [32] F. F. Offner, "The EEG as potential mapping: the value of the average monopolar reference," *Electroencephalography and clinical neurophysiology*, vol. 2, no. 1, pp. 213-214, 1950.
- [33] J. W. Osselton, "Acquisition of EEG data by bipolar unipolar and average reference methods: a theoretical comparison," *Clinical Neurophysiology*, vol. 19, no. 5, pp. 527-528, 1965.
- [34] S. H. Choi, M. Lee, Y. Wang and B. Hong, "Estimation of optimal location of EEG reference electrode for motor imagery based BCI using fMRI," New York, 2006.
- [35] A. Schlögl, C. Keinrath, D. Zimmermann, R. Scherer, R. Leeb and G. Pfurtscheller, "A fully automated correction method of EOG artifacts in EEG recordings," *Clinical Neurophysiology*, vol. 118, no. 1, pp. 98-104, 2007.
- [36] D. A. Norman and D. G. Bobrow, "On data-limited and resource-limited processes," *Cognitive psychology*, vol. 7, no. 1, pp. 44-64, 1975.
- [37] H. Gürkök, D. Plass-Oude Boss, B. L. Laar, F. Nijboer and A. Nijholt, "User experience evaluation in BCI: Filling the gap," *International Journal of Bioelectromagnetism*, vol. 13, no. 1, pp. 54-55, 2011.
- [38] D. Plass-Oude Bos, H. Gürkök, B. Van de Laar, F. Nijboer and A. Nijholt, "User Experience Evaluation in BCI: Mind the Gap," *International Journal of Bioelectromagnetism*, vol. 13, no. 1, pp. 48-49, 2011.
- [39] H. B. Santoso, M. Schrepp, R. Isal, A. Y. Utomo and B. Priyogi, "Measuring User Experience of the Student-Centered e-Learning Environment," *Journal of Educators Online*, vol. 13, no. 1, pp. 58-79, 2016.
- [40] M. Schrepp, A. Hinderks and J. Thomaschewski, "Applying the User Experience Questionnaire (UEQ) in different evaluation scenarios," *International Conference of Design, User Experience, and Usability*, vol. Springer, no. Cham, pp. 383-392, 2014.
- [41] J. Mellinger and G. Schalk, "BCI2000: A general-purpose software platform for BCI," in *Toward Brain-Computer Interfacing*, Cambridge, MIT Press, 2007, pp. 359-368.
- [42] C. A. Kothe and S. Makeig, "BCILAB: a platform for brain-computer interface development," *Journal of Neural Engineering*, vol. 10, no. 5, p. 056014, 2013.
- [43] A. Schlögl, C. Brunner, R. Scherer and A. Glatz, "BioSig: An opensource software library for BCI research," in *Toward Brain-Computer Interfacing*, Cambridge, MIT Press, 2007, pp. 347-358.
- [44] R. Oostenveld, P. Fries, E. Maris and J. M. Schoffelen, *FieldTrip: open source software for advanced analysis of MEG, EEG, and invasive electrophysiological data*, 1: Computational intelligence and neuroscience, 2011.
- [45] Y. Renard, F. Lotte, G. Gibert, M. Congedo, E. Maby, V. Delannoy, O. Bertrand and A. Lécuyer, "OpenViBE: An open-source software platform to design, test, and use brain-computer interfaces in real and virtual environments," *Presence: teleoperators and virtual environments*, vol. 19, no. 1, pp. 35-53, 2010.
- [46] A. Delorme and S. Makeig, "EEGLAB: an open source toolbox for analysis of single-trial EEG dynamics including independent component analysis," *Journal of Neuroscience Methods*, vol. 134, pp. 9-21, 2004.
- [47] R. O. Gilmore, M. T. Diaz, B. A. Wyble and T. Yarkoni, *Progress toward openness, transparency, and reproducibility in cognitive neuroscience*, 1-14: *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2017, pp. 1-14.
- [48] R. Chavarriaga, M. Fried-Oken, S. Kleih and F. Lotte, "Heading for new shores! Overcoming pitfalls in BCI," *Brain-Computer Interfaces*, Taylor & Francis, vol. IV, no. 1, pp. 60-73, 2016.
- [49] A. Kübler, E. M. Holz, A. Riccio, C. Zickler, T. Kauffmann, S. C. Kleih, P. Staiger-Sälzer, L. Desideri, E.-J. Hoogerwerf and D. Mattia, "The User-Centered Design as Novel Perspective for Evaluating the Usability of BCI-Controlled Applications," *Plos One*, vol. 9, no. 12, 2014.
- [50] Z. Qiu, B. Z. Allison, J. Jing, Y. Zhang, X. Wang, W. Li and A. Cichocki, "Optimized motor imagery paradigm based on imagining Chinese characters writing movement," *IEEE Transactions on Neural Systems and Rehabilitation Engineering*, vol. PP, no. 99, p. 1, 2017.
- [51] F. Merienne, "Human factors consideration in the interaction process with virtual environment," *International Journal on Interactive Design and Manufacturing*, vol. 4, no. 2, pp. 83-86, 2010.
- [52] J. M. D. Lynn, E. Armstrong and S. Martin, "User centred design and validation during the development of domestic brain computer interface applications for people with acquired brain injury and therapists: a multi-stakeholder approach," *Journal of Assistive Technologies*, vol. 10, no. 2, pp. 67-78, 2016.
- [53] C. Jeunet, E. Jahanpour and F. Lotte, "Why standard brain-computer interface (BCI) training protocols should be changed: an experimental study," *Journal of Neural Engineering*, vol. 13, no. 3, p. 036024, 2016.
- [54] J. Schumacher, C. Jeunet and F. Lotte, "Towards Explanatory Feedback for User Training in Brain-Computer Interfaces," in *Systems, Man, and Cybernetics (SMC)*, 2015 IEEE International Conference on, Kowloon, China, 2015.
- [55] M. Schreuder, A. Riccio, M. Riseti, S. Dähne, A. Ramsay, J. Williamson, D. Mattia and M. Tangermann, "User-centered design in brain-computer interfaces—A case study," *Artificial Intelligence in Medicine*, vol. 2013, no. 59, pp. 71-80, 2013.

dx.doi.org/10.17488/RMIB.40.2.4

E-LOCATION ID: e201835

A modelling study of glycolytic oscillations and electrical activity in pancreatic alpha cells

Un estudio de las oscilaciones glicolíticas y la actividad eléctrica en un modelo de célula alfa de páncreas

E. Olivos-Santes¹, H. E. Romero-Campos¹, G. Dupont², V. González-Vélez³

¹Posgrado en Ingeniería de Procesos, UAM-A, México

²Unité de Chronobiologie Théorique, ULB, Bélgica

³Depto. Ciencias Básicas, UAM-A, México

ABSTRACT

Pancreatic alpha and beta cells release the main hormones involved in blood glucose regulation: glucagon and insulin, respectively. Based on the observation that metabolic oscillations are related to electrical activity and, in turn, to insulin secretion in beta cells, in the present work we use a mathematical modelling approach to explore the contribution of glycolytic oscillations to electrical activity in alpha cells. Due to lack of data about metabolism in alpha cells and taking into account that pancreatic cells comes from a common progenitor, we used a previous model of pancreatic beta cells and focus on the main differences between both cell types. The main finding contrasts with beta cells since electrical activity in alpha cells could be triggered independently of glycolic oscillations. It suggests that alpha cells are stimulated by blood glucose through a different pathway, which is in agreement with the role of alpha cells during hypoglycemia.

KEYWORDS: alpha cells; glycolysis; modelling

RESUMEN

Las células alfa y beta de páncreas secretan las dos hormonas más importantes para la regulación de la glucosa en sangre: el glucagón y la insulina, respectivamente. Dado que en células beta se ha observado la presencia de oscilaciones metabólicas relacionadas con su actividad eléctrica y, por tanto, con la secreción de insulina, en este trabajo se presenta un estudio de la posible relación entre las oscilaciones glicolíticas y la actividad eléctrica en células alfa mediante un enfoque de modelación matemática. Debido a la falta de información sobre el metabolismo en las células alfa y tomando en cuenta que las células pancreáticas provienen de un progenitor común, se utilizó un modelo previamente propuesto de células beta y se tomaron en cuenta las principales diferencias entre ambos tipos celulares para el análisis. Nuestros resultados muestran que, a diferencia de las células beta, la actividad eléctrica en células alfa puede dispararse independientemente de la presencia de oscilaciones glicolíticas, lo cual sugiere que estas células son estimuladas por la glucosa a través de una ruta metabólica diferente a la propuesta para células beta, lo cual es congruente con su papel regulador durante periodos de baja glucosa.

PALABRAS CLAVE: células alfa; glucólisis; modelado

Correspondencia

DESTINATARIO: Virginia González Vélez
INSTITUCIÓN: Universidad Autónoma Metropolitana,
Unidad Azcapotzalco
DIRECCIÓN: Ave. San Pablo #180, Edificio G Bis,
Depto. Ciencias Básicas, Col. Reynosa Tamaulipas,
C. P. 02200, Azcapotzalco, CDMX, México
CORREO ELECTRÓNICO: vgv@azc.uam.mx

Fecha de recepción:

31 de agosto de 2018

Fecha de aceptación:

18 de marzo de 2019

INTRODUCTION

Alpha and beta cells are two types of pancreatic cells which are extremely important in the body since they secrete glucagon and insulin, respectively, the main hormones involved in blood glucose regulation. In both cell types, hormone secretion has been closely related to electrical activity and Ca^{2+} oscillations [1, 2]. In addition, it has been discussed that hormones have their own rhythms and their complex signals affect the normal and pathological functioning of the body [3]. In particular, insulin secretion occurs in an oscillatory manner as a response of the beta-cell system to the presence of high blood glucose, which has been recognized as a key factor in maintaining glucose levels in normal people. Indeed, the loss of pulsatile secretion is considered a sign of diabetes disease [4].

Glycolytic oscillations have been proposed as one of the key factors related to pulsatile insulin secretion [4]. Glycolysis is the metabolic pathway that phosphorylate glucose to produce ATP (Adenosine Triphosphate), the main energetic coin in the body. The first steps of this pathway involve the auto-catalysis of the Phosphofruktokinase (PFK) enzyme, which is regulated by its own product Fructose 1-6-bisphosphate (FBP). Models of glycolysis taking this autocatalytic regulation into account can reproduce slow metabolic oscillations in the range of minutes [5], the timescale observed for the physiological slow component of insulin secretion [4]. There have been many modeling works oriented to elucidate the mechanisms behind the link between high glucose and electrical and metabolic activity in beta cells, leading to insulin secretion [6, 7, 8].

On the other hand, in experiments with alpha cells, electrical activity and secretion is observed at low glucose concentrations [9], along with oscillations of ATP and Ca^{2+} [10]. Since alpha cells regulate blood glucose coordinated with beta cells, it is natural to suppose that glycolytic oscillations might play a key role in the behavior of alpha cells at low glucose, in a similar

manner as they do in beta cells at high glucose [11]. Therefore, in this work we explore the possibility that glycolytic oscillations could be related to electrical activity in alpha cells. Our approach is to do a modelling study based on a beta-cell model since there are no specific descriptions of glycolysis in alpha cells.

METHODS

Alpha cells are excitable cells that generate electrical action potentials and Ca^{2+} oscillations when exposed to low glucose environments [1, 9]. However, it is not clear how glucose level is coupled to electrical activity, and in turn, how this regulates glucagon secretion [12]. In particular, there are no specific studies about the glycolytic pathway in pancreatic alpha-cells, but it has been proposed that the rate of glucose utilization and the glycolytic flux are similar to those observed in beta cells [12, 13]. A general description of glycolysis based on PFK kinetics, which accounts for variations in ATP, FBP, and fructose 6-phosphate (F6P) was proposed by Smolen (1995) [5], and this model has been used to simulate glycolytic oscillations in beta cells [6].

Modelling glycolysis and electrical activity in beta cells considers that glucose enters the cell and triggers the glycolytic pathway which is mainly autoregulated by FBP (Figure 1). Glycolysis is closely related to mitochondrial metabolism through the production of pyruvate; in this case, both steps produce ATP and modulate the intracellular ATP/ADP ratio. This ratio modifies the conductance of ATP-dependent potassium channels (K_{ATP} channels), resulting in a depolarization of the cell that triggers action potentials. This electrical activity involves the opening of Ca^{2+} channels, so the cytoplasmic Ca^{2+} level is also increased which, in turn, modulates the mitochondrial metabolism and the ATP production leading to autoregulation.

The sequence of events described above (and in Figure 1) is well accepted for beta cells [4, 6], but just some of these steps have been also described for alpha

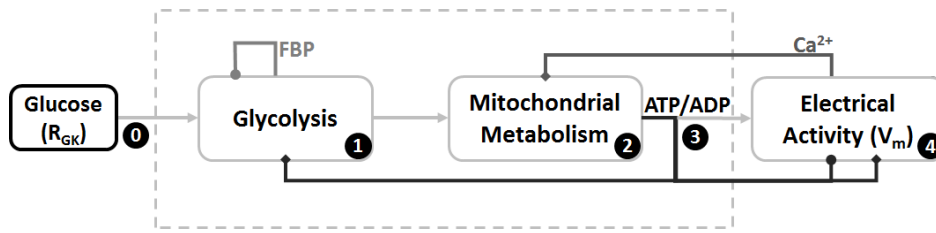
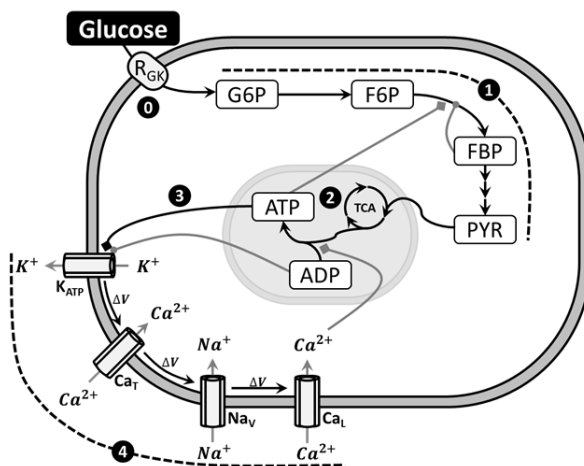


FIGURE 1. Scheme of the relationship between glucose and electrical activity. The model shows that glucose triggers glycolysis (step 0) which is autoregulated by FBP (step 1). The product of glycolysis (pyruvate) is directly connected to the mitochondrial metabolism which is modulated by Ca^{2+} (step 2). The ATP/ADP ratio (step 3) is mainly controlled by mitochondria and this ratio manages electrical activity (step 4) and glycolysis too, leading to a feedback loop for cell autoregulation. Steps inside the dotted lines have been described for beta cells but not for alpha cells.

cells; indeed, there is clearance just for step 0 leading to step 4 [12, 14], and the intermediate steps (1 to 3) are not completely known. Thus, we modify a previous beta-cell model [6], including all these steps, in order to take into account some of the main differences between both cell types: 1) The small size of alpha cells [1], 2) Their opposite response to glucose [1], and 3) Their very different K_{ATP} conductance under stimulation [14].

The whole proposed model is described in Figure 2, where equations of the main variables are shown. These variables are R_{GK} , G6P, F6P, FBP, ADP and ATP for the

glycolytic pathway and the mitochondrial metabolism (steps 0, 1, 2 and 3), and V (membrane potential) for the electrical activity (step 4). Membrane potential is calculated from the contribution of sodium, calcium and potassium currents relative to the membrane capacitance (C_m). Cytosolic Ca^{2+} (Ca) varies due to ionic currents (J_{mem}) and the endoplasmic reticulum (J_{er}). K_{ATP} current (I_{KATP}) is a very important current because it has been proposed as the link between the metabolic function to the electrical activity in alpha cells [14]. Parameter values of our model are shown in Table 1, and the rest of equations are included in the Appendix.



$$\begin{aligned} \frac{dCa}{dt} &= f_{cyt}(J_{mem} + J_{er}) \\ \frac{dV}{dt} &= -\frac{1}{C_m}(I_k + I_{Ca} + I_{KCa} + I_{KATP}) \\ \frac{dADP}{dt} &= \frac{1}{\tau_a} \left(ATP - ADP \exp \left((r + \gamma) \left(1 - \frac{Ca}{r_1} \right) \right) \right) \\ \frac{dG6P}{dt} &= \lambda(R_{GK} - R_{PFK}) \\ \frac{dFBP}{dt} &= \lambda \left(R_{PFK} - \frac{1}{2} R_{GPDH} \right) \\ I_{KATP} &= g_{KATP} O_{KATP} (V - V_K) \end{aligned}$$

FIGURE 2. Proposed model to study glycolysis and electrical activity in alpha cells. (Left) Glucose enters into the cell at a rate R_{GK} (step 0) and triggers glycolysis (step 1). Then mitochondrial metabolism is activated (step 2) which modifies ATP/ADP ratio (step 3). This ratio modulates the conductance of K_{ATP} channels which initiate depolarization and electrical activity (step 4). (Right) Equations of the main variables analyzed in this work. Other equations are included in the Appendix.

TABLE 1. Parameters of the alpha cell model.

Parameter	Value	Reference
f_{cyt}	0.01	[6]
C_m	2650 fF	[1]
τ_a	300,000 ms	[6]
r	1	[6]
r_1	1 μ M	[6]
λ	0.005	[6]
g_{KATP}	2700 pS	[14]
V_K	-75 mV	[6]

RESULTS AND DISCUSSION

The relationship between electrical activity and glycolytic oscillations in alpha cells under different glucose levels was studied by simulating the appearance of action potentials (APs), through the dynamics of the membrane voltage (V_m), along with the behavior of the cytosolic ADP and FBP concentrations. The parameter R_{GK} , which is defined as the glucokinase rate, is the value that represents glucose level. Particularly, we chose values 0.05 and 0.2 for R_{GK} to simulate low and high glucose conditions, respectively.

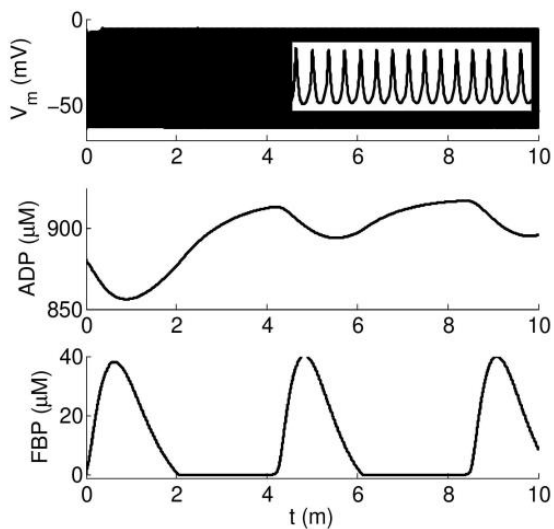


FIGURE 3. Dynamics of electrical activity (V_m) and metabolic variables (ADP and FBP) at high glucose ($R_{GK}=0.2$). The inset in the top panel shows a zoom to measure AP frequency (15 per second).

As shown in Figure 3, at high glucose there are permanent and fast bursts of APs while ADP and FBP are oscillating in the range of minutes. This behavior is similar to the slow glycolytic bursting mode reported for beta cells [6], although in our alpha model electrical activity never stops, and ADP and FBP oscillations are more frequent than in betas. Also, ADP varies around 900 μ M, which is slightly larger than the values observed in betas (780-840 μ M).

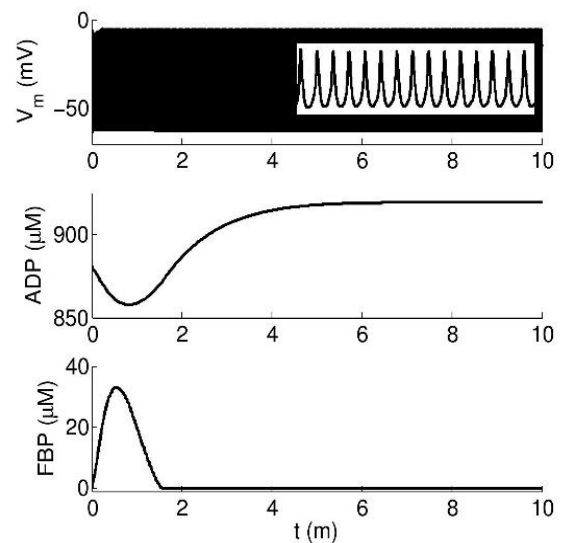


FIGURE 4. Dynamics of electrical activity (V_m) and metabolic variables (ADP and FBP) at low glucose ($R_{GK}=0.05$). The inset in the top panel shows a zoom to measure AP frequency (15 per second), which is the same that at high glucose.

In Figure 4 we show results for low glucose in the same simulation time (10 minutes). As seen, there are also permanent fast bursts of APs but metabolic variables (ADP and FBP) are not oscillating in this range of time. However, in a longer simulation time (40 minutes) we found very slow oscillations of both metabolic variables (Figure 5). ADP varies above 900 μ M, a value slightly larger than the one we obtained for high glucose.

The behavior observed in Figures 4 and 5 could be compared to the non oscillatory mode reported for beta cells when they use a too low or a too high value

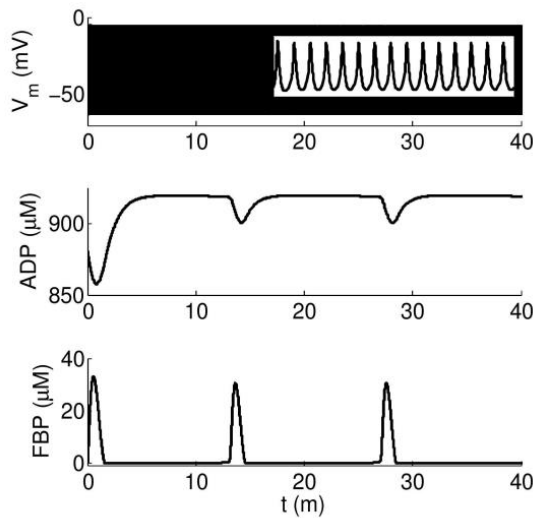


FIGURE 5. Long-term dynamics of electrical activity (V_m) and metabolic variables (ADP and FBP) at low glucose ($R_{GK}=0.05$). Simulation time is 40 minutes. The inset in the top panel shows that AP frequency remains.

of the R_{GK} parameter [6]. However, and in contrast to those reported results for beta cells, we found that electrical activity does not change when glucose level changes, whereas metabolic variables do. Moreover, the AP firing rate (15 AP per second) in these three simulations remains.

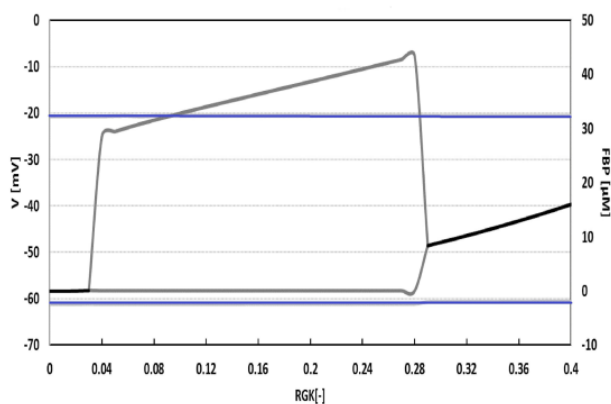


FIGURE 6. Bifurcation diagram of the alpha model. Electric and metabolic variables (V and FBP) as functions of the glucokinase rate (R_{GK}). Electrical activity shows permanent oscillations (in blue) whereas glycolytic oscillations (in grey) appear only for some values of R_{GK} (from 0.04 to 0.28).

All these results indicate that glycolytic oscillations are not directly modulating electrical activity in alpha cells, since bursts of APs appear independently of what is happening with the metabolic variables. Then, we studied the system in a broader range of glucose levels by drawing a bifurcation diagram of two variables, the membrane potential and the FBP, as functions of the glucokinase rate (Figure 6). This diagram confirmed our previous observations because the alpha model exhibits permanent electrical activity for all the explored values of R_{GK} , even if the metabolic variable changes between oscillatory and steady-state behavior.

CONCLUSIONS

Using an alpha cell model that includes the glycolytic pathway, the mitochondrial metabolism and the ionic currents, we studied metabolic and electrical variables under low and high glucose conditions. We obtained that at low glucokinase rate, which indicates low glucose level, glycolytic oscillations are slower than at high glucose, but electrical activity does not change not in amplitude nor in frequency as they do for beta cells.

Based on a bifurcation analysis, we observe that glucokinase rate modulates metabolic variables but not the electrical response. This is an interesting condition since in beta cells glycolytic oscillations have been directly related to electrical activity, Ca^{2+} oscillations and pulsatile insulin secretion [4, 17].

Our model analysis suggests that electrical activity in alpha cells can occur independently of glycolytic oscillations. Thus, it will be useful to study other pathways involved in metabolic changes, electrical activity and Ca^{2+} increases observed during alpha cell stimulation leading to glucagon secretion. Recently, there have been reports pointing out the importance of glycolysis, mitochondrial metabolism and ATP production in the control of glucagon secretion, and in turn, in the development of diabetes [10, 15, 16].

Modelling studies can contribute to understand better the sophisticated functioning of this pancreatic cells along with their role in blood glucose regulation specially during hypoglycemia.

ACKNOWLEDGEMENTS

Authors thank CONACyT and FNRS for financial support from the Mexico-Belgium Bilateral Cooperation Project Number 246032.

APPENDIX

Equations shown here are part of the alpha cell model along with equations written in Figure 2. Values of parameters not included in Table 1 were taken from Bertram (2004) [6].

Equations for ionic currents and Ca^{2+} concentrations

$$I_K = g_K n (V - V_K)$$

$$\frac{dn}{dt} = \frac{n_\infty - n}{\tau_n}, n_\infty = \frac{1}{1 + \exp(-(16 + V)/5)}$$

$$I_{Ca} = g_{Ca} m_\infty (V - V_{Ca})$$

$$m_\infty = \frac{1}{1 + \exp(-\frac{20 + V}{12})}$$

$$I_{KCa} = g_{KCa} \left(\frac{Ca^2}{K_D^2 + Ca^2} \right) (V - V_K)$$

$$O_{KATP} = \frac{0.08 \left(1 + \frac{2MgADP^-}{17\mu M} \right) + 0.89 \left(\frac{MgADP^-}{17\mu M} \right)^2}{\left(1 + \frac{MgADP^-}{17\mu M} \right)^2 \left(1 + \frac{ADP^{3-}}{26\mu M} + \frac{ADP^{4-}}{1\mu M} \right)}$$

$$J_{mem} = -(\alpha I_{Ca} + k_{MPCA} Ca)$$

$$J_{er} = J_{leak} - J_{SERCA}$$

$$J_{leak} = p_{leak} (Ca_{er} - Ca)$$

$$J_{SERCA} = k_{SERCA} Ca$$

$$\frac{dCa_{er}}{dt} = -f_{er} \frac{V_{cyt}}{V_{er}} J_{er}$$

Equations for metabolic variables

$$F6P = 0.3 G6P$$

$$R_{GPDH} = 0.2 \sqrt{\frac{FBP}{1\mu M}} \frac{\mu M}{s}$$

$$AMP + ADP + ATP = A_{tot}$$

$$AMP = \frac{ADP^2}{ATP}$$

$$\gamma = \frac{v_{\gamma} R_{GPDH}}{k_{\gamma} + R_{GPDH}}$$

REFERENCES

- [1] Quesada I, Todorova MG, Alonso-Magdalena P, Beltrán M, Carneiro EM, Martín F, Nadal A, Soria B, Glucose induces opposite intracellular Ca²⁺ concentration oscillatory patterns in identified alpha- and beta-cells within intact human islets of Langerhans, *Diabetes* 2006; 55, 2463-2469. DOI 10.2337/db06-0272
- [2] Hellman B, Dansk H., Grapengiesser E, Somatostatin promotes glucose generation of Ca²⁺ oscillations in pancreatic islets both in the absence and presence of tolbutamide, *Cell Calcium* 2018, 74, 35-42. DOI 10.1016/j.ceca.2018.05.007
- [3] Nunemaker CS, Satin LS, Episodic hormone secretion: a comparison of the basis of pulsatile secretion of insulin and GnRH, *Endocrine* 2014; 47, 49-63. DOI 10.1007/s12020-014-0212-3
- [4] Tengholm A, Gylfe E, Oscillatory control of insulin secretion, *Molecular and Cellular Endocrinology* 2009; 297, 58-72. DOI 10.1016/j.mce.2008.07.009
- [5] Smolen P, A model for glycolytic oscillations based on skeletal muscle phosphofructokinase kinetics, *Journal of Theoretical Biology* 1995; 174, 137-148. DOI 10.1006/jtbi.1995.0087
- [6] Bertram R, Satin LS, Zhang M, Smolen P, Sherman A, Calcium and glycolysis mediate multiple bursting modes in pancreatic islets, *Biophysical Journal* 2004; 87, 3074-3087. DOI 10.1529/biophysj.104.049262
- [7] Bertram R, Sherman A, Satin LS, Metabolic and electrical oscillations: partners in controlling pulsatile insulin secretion, *American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism* 2007; 293, E890-E900. DOI 10.1152/ajpendo.00359.2007
- [8] Félix-Martínez GJ, Godínez-Fernández JR, Mathematical models of electrical activity of the pancreatic β -cell: A physiological review, *Islets* 2014; 6, e949195. DOI 10.4161/19382014.2014.949195
- [9] Tudurí E, Marroquí L, Soriano S, Ropero AB, Batista TM, Piquer S, López-Boado MA, Carneiro EM, Gomis R, Nadal A, Quesada I, Inhibitory effects of leptin on pancreatic α -cell function, *Diabetes* 2009; 58, 1616-1624. DOI 10.2337/db08-1787
- [10] Li J, Yu Q, Ahooghalandari P, Gribble FM, Reimann F, Tengholm A, Gylfe E. Submembrane ATP and Ca²⁺ kinetics in alpha cells: unexpected signaling for glucagon secretion, *FASEB Journal* 2015; 29, 3379-3388. DOI 10.1096/fj.14-265918
- [11] McKenna JP, Dhumpa R, Mukhitov N, Roper MG, Bertram R, Glucose oscillations can activate an endogenous oscillator in pancreatic islets, *PLoS Computational Biology* 2016; 12, e1005143. DOI 10.1371/journal.pcbi.1005143
- [12] Gylfe E, & Gilon, P, Glucose regulation of glucagon secretion. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 2014, 1, 103, 1-10, <http://doi.org/10.1016/j.diabres.2013.11.019>
- [13] Heimberg H, De Vos A, Pipeleers D, Thorens B, Schuit F. Differences in glucose transporter gene expression between rat pancreatic alpha- and beta-cells are correlated to differences in glucose transport but not in glucose utilization, *Journal of Biological Chemistry* 1995; 270:8971-8975. DOI 10.1074/jbc.270.15.8971
- [14] Rorsman P, Ramracheya R, Rorsman NJG, Zhang Q, ATP-regulated potassium channels and voltage-gated calcium channels in pancreatic alpha and beta cells: similar functions but reciprocal effects on secretion, *Diabetologia* 2014; 57, 1749-1761. DOI 10.1007/s00125-014-3279-8
- [15] Knudsen JG, et al., Dysregulation of Glucagon Secretion by Hyperglycemia-Induced Sodium-Dependent Reduction of ATP Production, *Cell Metabolism* 2018; 29, 1-13. DOI 10.1016/j.cmet.2018.10.003
- [16] Basco D, et al., α -cell glucokinase suppresses glucose-regulated glucagon secretion, *Nature Communications* 2018; 9, 546. DOI 10.1038/s41467-018-03034-0
- [17] Rorsman P, Ashcroft FM, Pancreatic β -cell electrical activity and insulin secretion: Of mice and men, *Physiological Review* 2018; 98, 117-214. DOI 10.1152/physrev.00008.2017

[dx.doi.org/10.17488/RMIB.40.2.5](https://doi.org/10.17488/RMIB.40.2.5)

E-LOCATION ID: e201845

Activación Hemisférica Cerebral en Adultos Jóvenes Mientras Ejecutan Tareas Ortográficas Utilizando fMRI

Hemispheric Brain Activation in Young Adults While Performing Orthographic Tasks Using fMRI

J. A. Acosta-Franco¹, A. Flores Saiffe-Farías¹, F. R. Gómez-Velázquez², A. A. González-Garrido², R. Romo-Vázquez¹

¹Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías, Universidad de Guadalajara, México

²Instituto de Neurociencias, Universidad de Guadalajara, México

RESUMEN

El dominio del lenguaje escrito se basa en la consolidación de representaciones neurales complejas de los patrones ortográficos de las palabras. En virtud de explorar las características presentes en procesos neurales relacionados con la especialización ortográfica, se estudiaron con métodos de imagen por resonancia magnética funcional los niveles neurales de activación intrahemisférica de 27 jóvenes con alto y bajo rendimiento ortográfico mientras ejecutaban tareas ortográficas. Los resultados sugieren que, en participantes con alto rendimiento ortográfico, la intensidad de activación neural en el hemisferio izquierdo no difiere ante el estímulo de palabras o pseudohomófonos (palabras con error ortográfico); en cambio, difieren cuando se emiten respuestas correctas vs. incorrectas. En participantes con bajo rendimiento ortográfico no se encontró diferencia interhemisférica en ninguna tarea. Se encontró tendencia de que los participantes con bajo rendimiento ortográfico tienen mayor dispersión de la activación neural, respecto a los participantes con alto rendimiento, en el hemisferio derecho e izquierdo, además, en participantes con bajo rendimiento ortográfico se encontró tendencia de que la detección consciente aumenta la variación de la activación neural; sin embargo, no se encontró evidencia estadística concluyente. Este estudio ha abonado a la evidencia de la existencia de la especialización neural orientada a habilidades ortográficas.

PALABRAS CLAVE: fMRI; lateralización; lenguaje; ortografía

ABSTRACT

The written language domain is based on the consolidation of complex neural representations of words' orthographic patterns. Here, we studied the characteristics and differences of the neural activation levels that occur in the neural processes related to orthographic specialization, with functional magnetic resonance imaging, in each hemisphere, of 27 young adults with low and high orthographic abilities when they performed orthographic tasks. The results suggest that in high-orthographic-performance participants' left hemispheric neural activation does not vary between words and pseudohomophones; otherwise, their neural activation varies in incorrect vs. correct responses. There were not found interhemispheric differences in low-orthographic-performance participants where they performed any type of task. There were some tendency in the low-orthographic-performance participants to have greater neural activation dispersion, regarding the high-orthographic-performance participants, in both hemispheres, also, there were found tendency in low-orthographic-performance participants to have greater neural activation variation in explicit tasks; nevertheless, there is not enough conclusive statistic evidence. This study increases the evidence of lateralized neural specialization of orthographic abilities.

KEYWORDS: fMRI; language; lateralization; orthography

Correspondencia

DESTINATARIO: Rebeca del Carmen Romo Vázquez
INSTITUCIÓN: Centro Universitario de Ciencias Exactas
e Ingenierías, Universidad de Guadalajara, México
DIRECCIÓN: Blvd. Marcelino García Barragán #1421,
Col. Olímpica, C. P. 44430, Guadalajara, Jalisco, México
CORREO ELECTRÓNICO: rebeca.romo@academicos.udg.mx

Fecha de recepción:

15 de noviembre de 2018

Fecha de aceptación:

15 de abril de 2019

INTRODUCCIÓN

El lenguaje escrito es uno de los principales medios para la adquisición de conocimientos en el ser humano. En etapas tempranas del neurodesarrollo, el conocimiento es abstraído por medio del lenguaje oral en forma empírica, mientras que en etapas más avanzadas se incorpora el lenguaje escrito y con ello la estructura formal del lenguaje. A este conjunto de habilidades orales y escritas del lenguaje se le conoce como conocimiento ortográfico.

El proceso de reconocimiento ortográfico de las palabras puede ser afectado tanto por factores extrínsecos como las características propias del idioma y métodos de aprendizaje [1-2], como por factores intrínsecos como los trastornos en el aprendizaje de la lectura [3], asociados al desarrollo neural. A pesar de que la prevalencia de estos desórdenes ronda el 10% a nivel mundial [4-5], aún no se conoce con claridad la etiología de los desórdenes ortográficos y su asociación con la dislexia del desarrollo [6-7].

Algunos estudios electrofisiológicos o de neuroimagen, han logrado explorar y hacer inferencias acerca de la cognición y del lenguaje [8], así como asociar distintas regiones o patrones de activación cerebral con el nivel de rendimiento ortográfico de los participantes en dependencia del tipo de tarea [9-13].

Varios estudios han encontrado evidencia que sugiere que las altas habilidades ortográficas están asociadas con mayor activación neural del hemisferio izquierdo, mientras que las bajas habilidades parecen relacionarse con la falta de especialización hemisférica para el procesamiento de las palabras escritas [14-18].

En trabajos anteriores se estudió una población de 32 adultos jóvenes con Alto y Bajo Rendimiento Ortográfico (ARO y BRO respectivamente) a través de la técnica BOLD (señal dependiente del nivel del oxígeno en sangre) en las imágenes de resonancia magné-

tica funcional (fMRI), obtenidas mientras los participantes realizaban una tarea de identificación de pseudohomófonos (palabras con la misma fonología de una palabra real pero con un error ortográfico) [1].

En este estudio se identificó una activación cerebral bilateral en participantes con bajo rendimiento ortográfico, a diferencia de la activación unilateral izquierda reportada en participantes con alto rendimiento ortográfico, además de la ocurrida en otras regiones de interés. Para esto se estudiaron todos los volúmenes cerebrales de los participantes en conjunto, separados por nivel de rendimiento ortográfico y de manera individual. Dicho estudio ha arrojado nuevos resultados respecto a la lateralización y especialización de los hemisferios cerebrales ante la detección consciente e inconsciente de errores ortográficos.

En este trabajo, se analizaron los niveles BOLD hemisféricos integrando hipótesis acerca de su intensidad y dispersión.

METODOLOGÍA

El presente trabajo se centra en el análisis de una base de datos de registros de MRIs y fMRIs, donde inicialmente se hizo una etapa de preprocesamiento antes de seleccionar volúmenes de interés sobre los cuales se postularon varias pruebas de hipótesis. La Figura 1 muestra las etapas de la metodología propuesta.

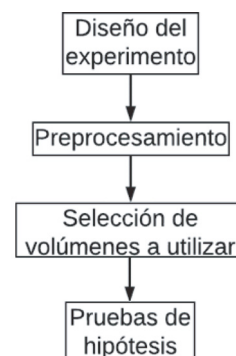


FIGURA 1. Metodología propuesta.

Diseño del experimento

Participantes. Se seleccionaron 27 participantes (tomados de la base de datos presentada en ^[1]) divididos de acuerdo con su nivel de conocimiento ortográfico en dos grupos: Alto (ARO) y Bajo (BRO) rendimiento ortográfico, de 15 y 12 jóvenes, con edad media de 19.8 (± 3.7) y 19.7 (± 3.5) años y escolaridad de 12.9 (± 1.3) y 12.1 (± 2.1) años, respectivamente. Todos ellos eran estudiantes del último grado de bachillerato o primero de licenciatura.

Durante los registros de MRIs y fMRIs los participantes desarrollaban una tarea que consistió en el procesamiento de violaciones ortográficas en palabras presentadas visualmente a través de 180 imágenes o secuencias de caracteres, donde 18 correspondían a palabras correctamente escritas, 18 eran pseudohomófonos y 144 cadenas de símbolos sin significado; presentadas todas de manera aleatoria. Esta tarea se realizó en dos condiciones, una de detección consciente y otra en detección inconsciente. En la detección consciente, los participantes respondieron presionando uno de dos botones, si era una palabra correcta o un pseudohomófono. En la detección inconsciente, los participantes debían determinar si la palabra contenía o no la letra “e”. En el caso de ver una cadena de símbolos, los participantes debían reprimir su respuesta.

Preprocesamiento

Las fMRIs presentan ruido y distintos tipos de artefactos que perturban la información en las imágenes. Es por ello que se someten a distintas etapas de preprocesamiento con la finalidad de ser acondicionadas y preparadas para el análisis estadístico. Estas etapas originan diferentes rutas de preprocesamiento ^[19], las cuales pueden ocasionar resultados y conclusiones distintas, en función de la ruta seleccionada ^[20-21]. Con la finalidad de evitar el sesgo a causa del preprocesamiento, se desarrollaron distintas rutas que fueron evaluadas para determinar la más adecuada.

La implementación del preprocesamiento para la corrección de movimiento y la corrección de rebanadas se basó en el software SPM ^[22]. Posteriormente para hacer la separación de las imágenes respecto a los hemisferios cerebrales, se alinearon las imágenes respecto al plano sagital mediante el paquete oro.nifti ^[23] ejecutado en IDE RStudio ^[24]. Además se evaluó el efecto del tiempo de corte del filtro pasa bajas (en milisegundos) y la intensidad del suavizado espacial (en unidades FWHM, anchura de la media del máximo); implementados en las herramientas de FSL ^[25], y SPM, respectivamente. En total se evaluaron doce diferentes rutas de preprocesamiento (Ver Figura 2).

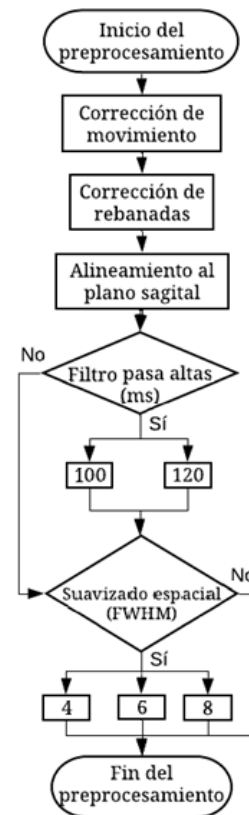


FIGURA 2. Diagrama de flujo de las doce rutas de preprocesamiento evaluadas.

La validación de las rutas de preprocesamiento se hizo usando dos métricas basadas en la razón señal a ruido (SNR) ^[26], una de ellas utilizando la amplitud (Ecuación 1) y otra en la variación (Ecuación 2) de la señal BOLD de todo el experimento.

$$SNR_A = \frac{A}{\sigma_N} \tag{1}$$

$$SNR_V = \frac{\sigma_S}{\sigma_N} \tag{2}$$

donde: A es la amplitud de la señal BOLD de la fMRI, σ_S es la desviación estándar de la señal BOLD y, σ_N es la desviación estándar del ruido de la señal BOLD.

Selección de volúmenes a utilizar

Se seleccionaron únicamente aquellos volúmenes, en los que los participantes observaron alguna palabra correcta o pseudohomófono, lo que corresponde solamente a 36 de las 180 imágenes. Además, se obtuvieron las respuestas conductuales (resultados correctos o erróneos) para cada palabra: Verdadera Positiva (VP), Verdadera Negativa (VN), Falsa Positiva (FP) y Falsa Negativa (FN) (ver Tabla 1).

TABLA 1. Tabla de contingencia para las respuestas conductuales.

		¿El participante respondió correctamente?	
		Sí	No
¿La palabra escrita es correcta?	Sí	Verdadero Positivo	Falso Positivo
	No	Verdadero Negativo	Falso Negativo

Pruebas de hipótesis

Se probaron 7 hipótesis, que se describen a continuación (ver Figura 3), utilizando como métricas la media (μ), desviación estándar (σ) y coeficiente de variación (C_v , Ecuación 3) de los niveles de activación BOLD, los cuales se calcularon sobre todos los vóxeles de cada hemisferio; a partir de estas métricas se hacen comparaciones entre hemisferios (izquierdo o derecho), poblaciones (ARO o BRO), tipos de tarea (consciente o inconsciente) y respuestas conductuales (VP, VN, FP y/o FN).

Dichas hipótesis se evaluaron por medio de la prueba *t de Student*.

$$C_v = \frac{\sigma}{|\mu|} \tag{3}$$

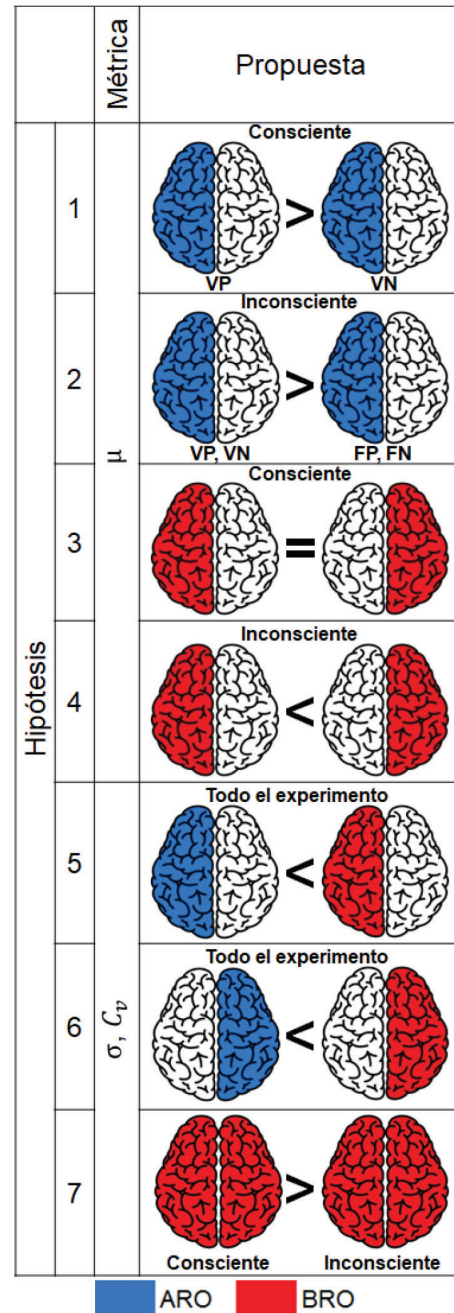


FIGURA 3. Se muestran las 7 pruebas de hipótesis. Consciente e Inconsciente representan el tipo de detección durante la tarea. VP, VN, FP y FN representan las respuestas conductuales estudiadas.

Enseguida se menciona cada prueba de hipótesis con su respectiva justificación:

1. Basado en la evidencia de la existencia de especialización neural para la identificación de palabras en participantes con ARO en el hemisferio izquierdo, se propuso la hipótesis de que durante las tareas de detección consciente los participantes con ARO tienen en el hemisferio izquierdo la media de activación BOLD mayor en respuestas VP (palabras) con respecto de las respuestas VN (pseudohomófonos).
2. Se probó la hipótesis que durante tareas de detección inconsciente de pseudohomófonos, los participantes con ARO tienen en el hemisferio izquierdo la media de la activación BOLD mayor en respuestas VP y VN, con respecto a las respuestas FP y FN. Esta hipótesis se basa en que los participantes con ARO tienden a percibir los errores ortográficos a pesar de no ser el objetivo de la prueba. Por lo tanto, frente a la tarea de identificar otra característica de un pseudohomófono, se demandan más recursos neurales, principalmente del hemisferio cerebral izquierdo, para emitir una respuesta correcta.
3. Basado en la evidencia que sugiere que los participantes con BRO carecen de especialización neural lateralizada y de manera compensatoria, presentan activación neural en ambos hemisferios cerebrales durante tareas de detección de errores ortográficos, se probó la hipótesis de que los participantes con BRO durante tareas de detección consciente, tienen la media de activación BOLD igual en ambos hemisferios.
4. Se propuso la hipótesis de que los participantes con BRO durante tareas de detección inconsciente tendrán la media de la activación BOLD mayor en el hemisferio derecho que en el hemisferio izquierdo. Esta hipótesis se basa en la premisa de que para los participantes con BRO los pseudohomófonos no fungen como distractor.
5. Se puede suponer que la especialización hemisférica presente en los participantes con ARO ocasiona una disminución general en la variabilidad de la activación BOLD en comparación con los BRO. Por lo tanto, se realizaron dos pruebas de hipótesis, una para cada hemisferio cerebral, que proponen que, de todo el experimento y de todas las respuestas conductuales, los participantes con ARO tienen menor C_v o σ con respecto de los de BRO.
6. Misma justificación de la quinta hipótesis.
7. Se realizó la prueba de hipótesis de que los participantes con BRO tienen mayor C_v o σ ante tareas de detección consciente con respecto a la detección inconsciente, en ambos hemisferios cerebrales. Esta hipótesis se basa en que la población de los participantes con BRO es más heterogénea y, en la evidencia conductual de que para ellos tienden a ser sencillas las tareas de detección inconsciente de errores ortográficos, debido a que no requieren recursos neurales adicionales para lidiar con la interferencia de la falta ortográfica.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Preprocesamiento

En la Figura 4 se muestran los resultados de los SNR_A y SNR_V de las doce rutas de preprocesamiento aplicadas. Se puede observar un comportamiento creciente de SNR de forma global en función del tiempo de corte del filtro pasa bajas y el parámetro del FWHM del suavizado espacial. Lo que indica la existencia del suavizado en ambos SNRs, el cual afecta en mayor proporción al SNR_A con respecto del SNR_V ; esto se ve reflejado con las pendientes medias, siendo de 0.07 y 0.02 respectivamente.

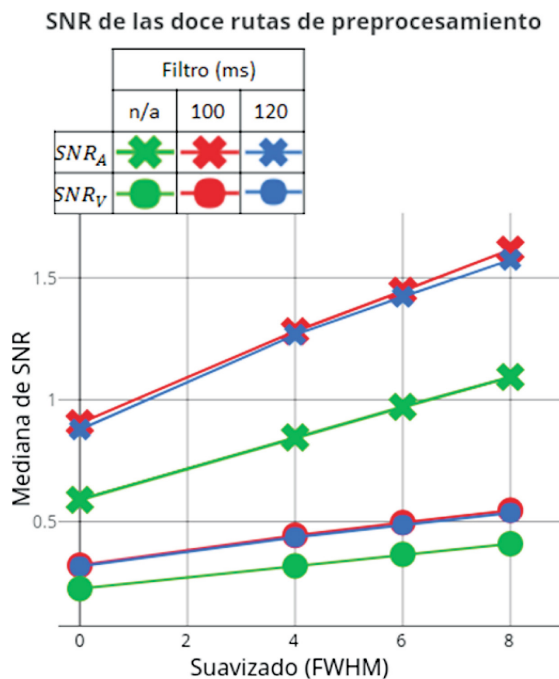


FIGURA 4. Comparación de los SNR de las doce rutas de preprocesamiento.

Entre los resultados del SNR_A y SNR_V se puede observar que el comportamiento fue muy similar en ambos casos, pero los resultados de SNR_V tuvieron menor intensidad. Esto sugiere que cualquiera de las dos métricas de SNR utilizadas en este trabajo puede guiar a la selección de una ruta de preprocesamiento adecuada. Sin embargo, considerando que SNR_A utiliza la amplitud de la señal BOLD, se propone emplear esta debido a que durante el preprocesamiento (con la implementación del filtro pasa bajas) se altera la amplitud de la señal BOLD.

Con base en lo anterior, y debido a que muestra un $SNR_A > 1$, con uso del suavizado más pequeño posible, la ruta de preprocesamiento seleccionada fue en la que se aplica el filtro pasa bajas de 100 ms y el suavizado espacial de 4 FWHM.

Análisis BOLD interhemisférico

En la Figura 5 se muestran los resultados de la prueba *t de Student* de las 7 pruebas hipótesis propuestas. Analizando los resultados obtenidos se puede mostrar

evidencia suficiente apoyar la hipótesis alternativa de la hipótesis propuesta 2 y la hipótesis nula de la hipótesis propuesta 3.

1. Como se muestra en la Figura 5 (hipótesis 1), no se encontró evidencia para demostrar la hipótesis propuesta ($p=0.5$), lo que sugiere que en los participantes con ARO la intensidad de la activación BOLD no difiere ante la presencia de palabras y pseudohomófonos en el hemisferio izquierdo del cerebro.
2. Respecto a la hipótesis 2, se encontró evidencia estadística ($p=0.02$) que sugiere que en detección inconsciente, los pseudohomófonos fungen como distractores en participantes con ARO y, en consecuencia, requieren más recursos neurales para ejecutar la tarea como se muestra en la Figura 5 (hipótesis 2).
3. En el caso de la hipótesis 3, se encontró evidencia estadística que sustenta esta hipótesis ($p=0.9$), lo cual sugiere que en tareas de detección consciente los participantes con BRO muestran indiferencia ante las palabras y los pseudohomófonos, y por lo tanto requieren semejantes recursos neurales en ambos hemisferios como se puede ver en la Figura 5 (hipótesis 3).
4. En la hipótesis 5 no se encontró evidencia estadística que la sustente ($p=0.5$) como se muestra en la Figura 5 (hipótesis 5).
5. Los resultados de las hipótesis 5 y 6 no muestran evidencia para probar la hipótesis del hemisferio izquierdo como se puede apreciar en la Figura 5 (hipótesis 5, $\sigma:p=0.2$ y $C_v:p=0.87$), a pesar de que en el hemisferio derecho se observa mayor diferencia en la σ como lo muestra Figura 5 (hipótesis 6, $\sigma:p=0.06$ y $C_v:p=0.73$), los resultados no son concluyentes en ningún caso.

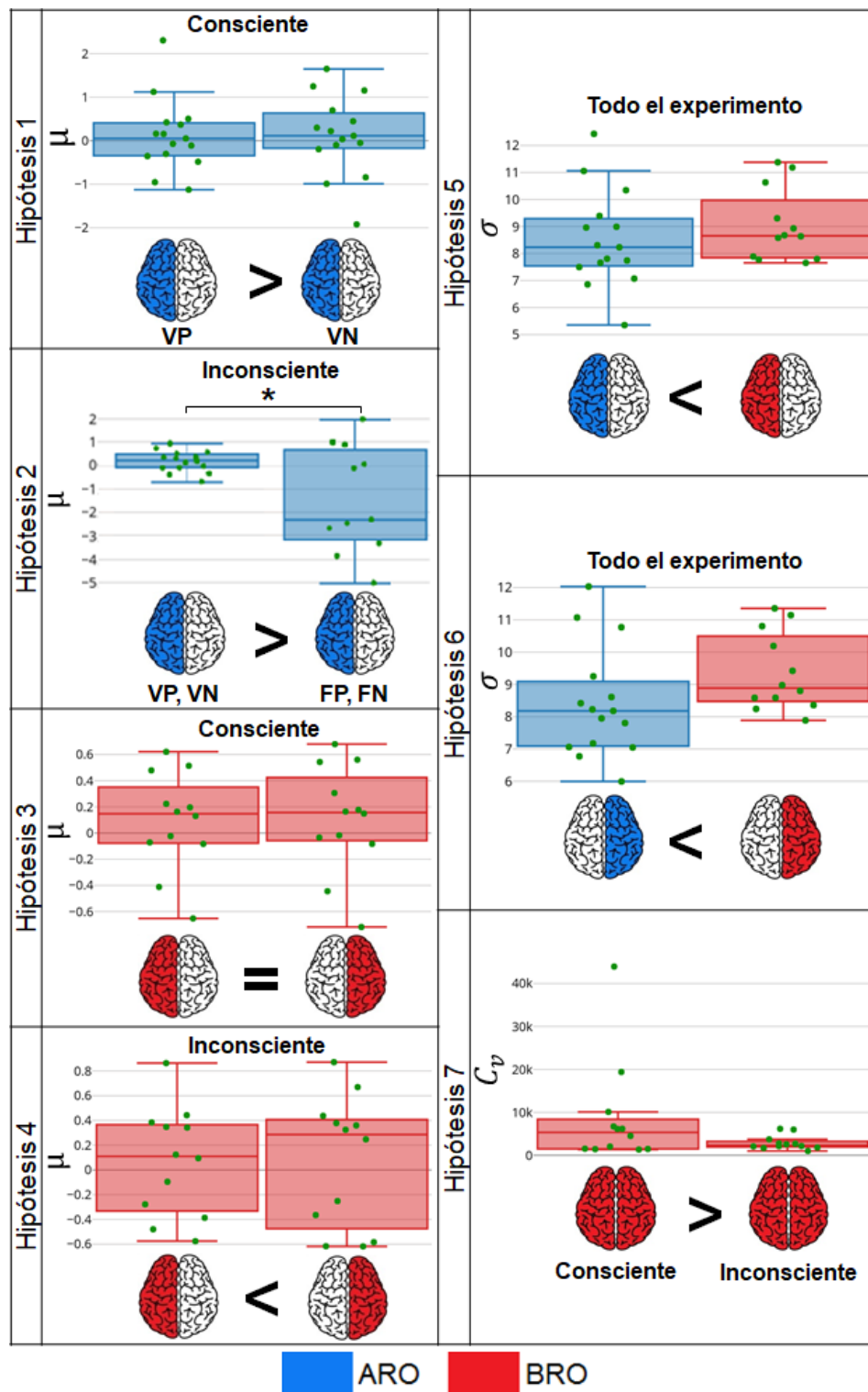


FIGURA 3. Resultado de las 7 pruebas de hipótesis. En la columna izquierda se muestran los resultados de las primeras 4 hipótesis, relacionadas con la media de activación BOLD. En la columna derecha se muestran los resultados de las hipótesis relacionadas con medidas de dispersión. * $p < 0.05$.

6. Mismo caso de la quinta hipótesis.
7. En el caso de la hipótesis 7, a pesar de que no se encontró evidencia suficiente para probar esta hipótesis (σ : $p=0.41$ y C_v : $p=0.06$), existe tendencia en el C_v , como lo muestra la Figura 5 (hipótesis 7), es decir, que los participantes con BRO en las tareas de detección inconsciente tienden a tener niveles BOLD más uniformes con respecto a las tareas de detección consciente.

Si bien en algunas hipótesis no se encontró evidencia suficiente para rechazar la H_0 , sí fue posible descubrir cierta tendencia que sugiere que, si se aumentara el tamaño de la muestra, podrían encontrarse diferencias significativas.

CONCLUSIONES

En este trabajo se muestra evidencia de que los participantes con ARO requieren más recursos neurales en el hemisferio cerebral izquierdo durante tareas de detección inconsciente en respuestas VN y VP en comparación con las respuestas FN y FP. Esto sugiere que las palabras con un error ortográfico o pseudohomófonos actúan como un distractor para los participantes con ARO, interfiriendo con el procesamiento regular de la tarea, aun cuando el procesamiento del error no es relevante, lo cual sugiere que, en los jóvenes con ARO, el procesamiento de las palabras tiene un nivel de automatización tal que la presencia de una alteración en la palabra es detectada de manera involuntaria.

Los análisis de los datos estudiados sugieren que existe una tendencia a una mayor dispersión de niveles de activación BOLD en el hemisferio derecho en participantes con BRO en comparación con los de ARO. Esto muestra que en el hemisferio derecho (pero no en el izquierdo) de participantes con ARO, existe una especialización de zonas neurales que aumenta la eficiencia para ejecutar este tipo de tarea.

Además, se puede inferir que los participantes con BRO tienen mayor dispersión en los datos BOLD en ambos hemisferios durante tareas de detección consciente, lo que se podría interpretar como la necesidad de reclutar una mayor cantidad de recursos neurales para resolver la tarea, en comparación con la detección inconsciente.

El presente trabajo complementa a [1] debido a que la aproximación utilizada estudia las diferencias entre ambos hemisferios, lo cual aporta para la exploración y la descripción de la actividad neural asociada a las tareas ortográficas. Los resultados obtenidos apoyan a la hipótesis de que el fenómeno de la especialización hemisférica se extiende hacia el reconocimiento ortográfico.

A pesar de que en el presente estudio se evaluó el SNR, es necesario incrementar el tamaño de la muestra para obtener resultados más concluyentes. Además, este estudio no considera la especialización de subestructuras cerebrales intrahemisféricas, lo que puede atenuar el efecto buscado.

REFERENCIAS

- [1] González-Garrido AA, Zarabozo-Hurtado D, Barrios FA, Gómez-Velázquez FR. The supramarginal and angular gyri underlie orthographic competence in Spanish language. 2016. DOI: [10.1016/j.bandl.2017.08.005](https://doi.org/10.1016/j.bandl.2017.08.005)
- [2] Bedwell P, Domínguez AM, Sotomayor C, Gómez Vera G, Jéldrez E. Caracterización de problemas ortográficos recurrentes en alumnos de Cuarto Básico. 2014;1-17.
- [3] Gómez-Velázquez FR, González-Garrido AA, Peró-Cebollero M, Zarabozo-Hurtado D, Guàrdia-Olmos J. Evaluación del conocimiento ortográfico en adultos jóvenes y su relación con la lectura. 2014;14:40-67.
- [4] Johnson B. Learning Disabilities in Children: Epidemiology, Risk Factors and Importance of Early Intervention. *BMH Med J - ISSN 2348-392X*. 2017;4(1):31-7.
- [5] De La Peña Álvarez C, Bernabéu Brotóns E. Dislexia y discalculia: una revisión sistemática actual desde la neurogenética. *Univ Psychol*. 2018;17(3):1-11. DOI: [10.11144/Javeriana.upsy17-3.ddrs](https://doi.org/10.11144/Javeriana.upsy17-3.ddrs)
- [6] Peterson R, Pennington B. Developmental Dyslexia. *Ssrn*. 2015; (January):1-25. DOI: [10.1146/annurev-clinpsy-032814-112842](https://doi.org/10.1146/annurev-clinpsy-032814-112842)
- [7] Pérez E, Medrano L, Mattus J, Ayllón S. Actualidad de la etiología de la dislexia. 2015;5(1):86-92. DOI: [10.17979/reipe.2015.0.09.133](https://doi.org/10.17979/reipe.2015.0.09.133)
- [8] Gamboa M, Cruz JJ. Potenciales evocados y cognición. *Rev Mex Ing Biomédica*. 2008;29:57-63.
- [9] Zarabozo-Hurtado D, González-Garrido AA. Neuroimage study on low orthographic competence group. 2013;44-55.
- [10] González-Garrido AA, Gómez-Velázquez FR, Rodríguez-Santillán E. Orthographic recognition in late adolescents: an assessment through event-related brain potentials. *Clin EEG Neurosci*. 2014;45(2):113-21. DOI: [10.1177/1550059413489975](https://doi.org/10.1177/1550059413489975)
- [11] Zarabozo D, Gómez-Velázquez FR, A. R-VB, De La Serna Tuya JM. Rapid Automated Naming and Lexical Decision in Children from an Electrophysiological Perspective. 2011;42(1). DOI: [10.1177/155005941104200106](https://doi.org/10.1177/155005941104200106)
- [12] Guardia-Olmos J, Zarabozo-Hurtado D, Peró-Cebollero M, Gudayol-Farré E, Gómez-Velázquez FR, González-Garrido A. Analysis of Pseudohomophone Orthographic Errors through Functional Magnetic Resonance Imaging (fMRI). *Span J Psychol*. 2017;20:E74. DOI: [10.1017/sjp.2017.72](https://doi.org/10.1017/sjp.2017.72)
- [13] Hillis AE, Newhart M, Heidler J, Barker P, Herskovits E, Degaonkar M. The roles of the “visual word form area” in reading. *Neuroimage*. 2005;24(2):548-59. DOI: [10.1016/j.neuroimage.2004.08.026](https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2004.08.026)
- [14] Cohen L, Henry C, Dehaene S, Martinaud O, Lehéricy S, Lemer C, et al. The pathophysiology of letter-by-letter reading. *Neuropsychologia*. 2004;42(13):1768-80. DOI: [10.1016/j.neuropsychologia.2004.04.018](https://doi.org/10.1016/j.neuropsychologia.2004.04.018)
- [15] Cohen L, Dehaene S, Naccache L, Lehéricy S, Dehaene-Lambertz G, Hénaff MA, et al. The visual word form area: spatial and temporal characterization of an initial stage of reading in normal subjects and posterior split-brain patients. *Brain*. 2000;(2):291-307. DOI: [10.1093/brain/123.2.291](https://doi.org/10.1093/brain/123.2.291)
- [16] Salván C V, Ulmer JL, DeYoe EA, Wascher T, Mathews VP, Lewis JW, et al. Visual object agnosia and pure word alexia: correlation of functional magnetic resonance imaging and lesion localization. *J Comput Assist Tomogr*. 2004;28(1):63-7. DOI: [10.1097/00004728-200401000-00010](https://doi.org/10.1097/00004728-200401000-00010)
- [17] Mercure E, Dick F, Halit H, Kaufman J, Johnson MH. Differential lateralization for words and faces: category or psychophysics? *J Cogn Neurosci*. 2008;20:2070-87. DOI: [10.1162/jocn.2008.20137](https://doi.org/10.1162/jocn.2008.20137)
- [18] Behrmann M, Plaut DC. A vision of graded hemispheric specialization. *Ann N Y Acad Sci*. 2015;1359(1):30-46. DOI: [10.1111/nyas.12833](https://doi.org/10.1111/nyas.12833)
- [19] Poldrack RA, Baker CI, Durnez J, Gorgolewski KJ, Matthews PM, Munafò MR, et al. Scanning the horizon: towards transparent and reproducible neuroimaging research. *Nat Publ Gr*. 2017. DOI: [10.1038/nrn.2016.167](https://doi.org/10.1038/nrn.2016.167)
- [20] Carp J. On the plurality of (methodological) worlds: Estimating the analytic flexibility of fmri experiments. *Front Neurosci*. 2012;6(OCT):1-13. DOI: [10.3389/fnins.2012.00149](https://doi.org/10.3389/fnins.2012.00149)
- [21] Pernet C, Poline J-B. Improving functional magnetic resonance imaging reproducibility. *Gigascience* [Internet]. 2015;4(1):15. Available from: <http://www.gigasciencejournal.com/content/4/1/15>. DOI: [DOI: 10.1186/s13742-015-0055-8](https://doi.org/10.1186/s13742-015-0055-8)
- [22] Penny W, Friston K, Ashburner J, J. Kiebel S, E. Nichols T. *Statistical Parametric Mapping: The Analysis of Functional Brain Images*. 2007.
- [23] Whitcer B, Schmid VJ, Thornton A. Working with the {DICOM} and {NIFTI} Data Standards in {R}. *J Stat Softw*. 2011;44(6):1-28.
- [24] RStudio Team. *RStudio: Integrated Development Environment for R*. Boston, MA; 2015.
- [25] Wikibooks. *Neuroimaging Data Processing/Temporal Filtering --- Wikibooks*, } The Free Textbook Project. 2017.
- [26] Welvaert M, Rosseel Y. On the definition of signal-to-noise ratio and contrast-to-noise ratio for fMRI data. *PLoS One*. 2013;8(11). DOI: [10.1371/journal.pone.0077089](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0077089)