

Estimulación termoalgésica controlada para explorar nuevos biomarcadores de la percepción del dolor

octubre de 2023

TESIS DOCTORAL

Doctoranda:

Maidor Nuñez Ibero

Director:

Jesús María Cortés Díaz

Programa de Doctorado de Investigación Biomédica

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero agradecerte Jesús, tu apoyo y confianza en este proceso. Ha sido un honor que dediques tiempo a guiarme en el mundo de la ciencia.

A ti Javi, sin ninguna duda el mejor profesor que he conocido. Me has acompañado durante 10 años, dedicándome tiempo y esfuerzo por puro amor a la ciencia. Tu generosidad no tiene límites, he aprendido tanto como he disfrutado. Ha sido un auténtico placer, sin ti esta tesis no hubiera sido posible. También quiero agradecerte a ti, Manolo, que me hayas facilitado el camino hasta llegar aquí, siempre teniéndome en mente para ofrecerme oportunidades. Y por supuesto, agradeceros también a los dos todos los momentos vividos en el Antxi.

A vosotros aita y ama, Juan Luis y Jaione, que siempre habéis creído en mí más que nadie, y que, con todo vuestro cariño y esfuerzo me habéis dado todas las facilidades que he necesitado para cumplir mis sueños. Sois la brújula que me orienta, mis referentes para todo lo que hago. No puedo imaginar una madre y un padre mejores. Os quiero muchísimo.

A ti Ander, gracias por querer ser la otra mitad del equipo. Gracias por tu apoyo, por tu buen humor, por hacerme mejor persona, por tus consejos, por tu optimismo, por tus ganas de vivir la vida, y, sobre todo, por elegir vivirla conmigo. Tengo muchísima suerte de tenerte en mi vida y, además, tienes los ojos más bonitos que existen. ¿Qué más puedo pedir? 😊 Te quiero.

Gracias también al resto de mi familia, y en especial a osaba Jon, osaba Aitor, izeko Patri, amama Make y aitite Salvi, por acompañarme durante todos estos años, haciendo que mi vida sea mucho más fácil y divertida. Y por supuesto, a mis flamencas preferidas por ser las mejores amigas del mundo mundial, a Jani my favorite phd mamma, y a todos los que veré a las 23:00 en los sofás, por muchos años más junto a vosotros.

Y por último y más importante, querría dedicar esta tesis a Amets y Oihan. Amets, tu sonrisa, tu cariño y tu amor incondicional han alegrado cada día de mi vida desde que llegaste. Eres el hijo que cualquiera desearía, no cambiaría ni un solo detalle de ti. Y a ti Oihan, por todas tus patadas, que me recuerdan cada minuto las ganas que tengo de conocerte y darte todo mi amor. Qué orgullosa me siento de ser vuestra madre. Os quiero más que a nada en el mundo, incluso si decidís no ser ingenieros.

Mila esker bihotz-bihotzez

“Gizonen lana jakintza dugu: ezagutuz aldatzea, naturarekin bat izan eta harremanetan sartzea.”

Mikel Laboa, Izarren hautsa

Contenido

1.	INTRODUCCIÓN	6
1.1.	ANATOMÍA DEL DOLOR Y SU PERCEPCIÓN.....	7
1.2.	ANTECEDENTES EN MEDICIÓN DEL DOLOR	10
1.2.1.	MÉTODOS CUALITATIVOS / SUBJETIVOS	10
1.2.1.1.	Escala de calificación numérica (NRS)	10
1.2.1.2.	Escala de calificación verbal (VRS)	10
1.2.1.3.	Escala analógica visual (VAS)	10
1.2.1.4.	Escala revisada de dolor facial (FPS-R)	10
1.2.2.	MÉTODOS CUANTITATIVOS/OBJETIVOS	11
1.2.2.1.	Basados en cambios del EEG como respuesta al estímulo nociceptivo.....	11
1.2.2.1.1.	Índice compuesto de la variabilidad (BIS+EMG).....	11
1.2.2.1.2.	Entropía espectral (SE)	11
1.2.2.1.3.	Índice qNOX	11
1.2.2.2.	Basados en cambios del Sistema Nervioso Autónomo como respuesta al estímulo nociceptivo ..	11
1.2.2.2.1.	Índice de pletismografía quirúrgica (SPI)	11
1.2.2.2.2.	Conductividad de la piel (GSR).....	12
1.2.2.2.3.	Pupilometría	12
1.2.2.2.4.	Nociception level index (NOL)	12
1.2.2.2.5.	Analgesia Nociception Index (ANI).....	12
1.2.2.3.	Otras alternativas de medición de nocicepción	12
1.2.2.3.1.	Resonancia Magnética Funcional (fMR).....	13
1.3.	ESTIMULACIÓN NOCICEPTIVA.....	13
1.4.	HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	13
2.	GENERADOR DE ESTÍMULOS TÉRMICOS	14
2.1.	EL EFECTO PELTIER	14
2.2.	DISEÑO ELECTRONICO DEL GENERADOR DE ESTÍMULOS	16
2.2.1.	FUENTE DE ALIMENTACION	17
2.2.2.	MODULO DE POTENCIA	18
2.2.2.1.	Selección de componentes del módulo de potencia	18
2.2.3.	MODULO SELECTOR CALOR-FRIO	19
2.2.3.1.	Selección de componentes del módulo selector calor-frío.....	20

2.2.4.	MODULO DE CONTROL	21
2.2.4.1.	Selección de componentes del módulo de control	21
2.3.	TEST DE VERIFICACION DEL DISEÑO DEL MODULO DE POTENCIA Y SIMULACIÓN EN PSIM: SET UP DEL EXPERIMENTO Y RESULTADOS	22
2.4.	TARJETAS ELÉCTRONICAS	25
2.4.1.	LAYOUT DE LAS TARJETAS	25
2.4.2.	TESTS DE LAS TARJETAS	28
2.5.	PROGRAMACION DEL MODULO DE CONTROL.....	30
2.5.1.	PROGRAMACION DEL MICROCONTROLADOR DSPIC30F4012.....	30
2.5.2.	PROGRAMACIÓN DEL INTERFAZ DE CONTROL DEL GENERADOR DE ESTÍMULOS	33
3.	SET UP COMPLETO E INTEGRADO: ESTIMULACIÓN CON CALOR	34
3.1.	PARTICIPANTES Y CONSIDERACIONES ÉTICAS	34
3.2.	CAPTURA Y LIMPIEZA DE SEÑALES FISIOLÓGICAS.....	34
3.3.	SIMULACIÓN DEL PROTOCOLO	35
3.4.	ENTROPÍA ESPECTRAL PARA DETECTAR LA PERCEPCIÓN DEL DOLOR	36
3.5.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	37
3.6.	RESULTADOS	37
4.	SEGUNDA GENERACIÓN DEL SET UP: ESTIMULACIÓN CON FRÍO	41
4.1.	MEJORAS REALIZADAS EN EL GENERADOR DE ESTÍMULOS	41
4.2.	MEJORAS REALIZADAS EN LA RECOGIDA DE LAS SEÑALES FISIOLÓGICAS	42
4.3.	MEJORAS REALIZADAS EN EL MÉTODO DEL EXPERIMENTO	42
4.4.	PARTICIPANTES.....	43
4.5.	RESULTADOS DEL GRUPO PILOTO	43
4.5.1.	DISCRIMINABILIDAD DE ESTADOS DE DOLOR Y NO DOLOR EN LA ESTIMULACIÓN CON FRÍO	43
4.5.2.	RESULTADOS OBTENIDOS GRACIAS AL USO DE LA CÁMARA TERMOGRÁFICA	48
5.	CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS DE FUTURO	50
6.	BIBLIOGRAFÍA	53
7.	ANEXO I: ARTÍCULO PUBLICADO EN IEEE	58
8.	ANEXO II: DIAGRAMA TEMPORAL CON LA SUCESIÓN DE LOS HITOS PRINCIPALES.....	66

Índice de ilustraciones

Figura 1 : Modelo de piel humana que muestra las terminaciones nerviosas libres, los termorreceptores y los nociceptores enterrados debajo de la epidermis como capa de protección. Imagen con Copyright © adaptada de J. Neto et al., 2022 [10]... 7	7
Figura 2: La vía neural sensorial térmica biológica. Imagen con Copyright © adaptada de J. Neto et al., 2022 [10]..... 8	8
Figura 3: Características de las principales fibras involucradas en la transición de la nocicepción. Imagen con Copyright © adaptada de G. I. Lee et al., 2020 [3]..... 8	8
Figura 4: Vías complejas del dolor: la estimulación de las terminaciones nerviosas nociceptivas de las articulaciones, los músculos/tendones y la piel se transmite desde la periferia hasta la médula espinal y la corteza en una vía compleja que implica la transducción, transmisión y modulación de la señal del dolor. Imagen con Copyright © adaptada de G. I. Lee et al., 2020 [3]. 9	9
Figura 5: Vía general de la nocicepción. Vía de transmisión nociceptiva espinotalámica ascendente anterolateral (línea negra) y vía de modulación descendente (línea azul). Lugares de acción de los procesos de nocicepción (transducción, transmisión, modulación y percepción) más destacados. Imagen con Copyright © adaptada de P. Martinez-Vazquez et al., 2022 [14] 9	9
Figura 6: Escala revisada de dolor facial (FPS-R). Imagen con Copyright © de M. A. Ferreira-Valente et al., 2011 [22]. 10	10
Figura 7: Imagen de una célula Peltier..... 14	14
Figura 8: Esquema de funcionamiento de una placa Peltier..... 14	14
Figura 9: Esquema de funcionamiento de una Celula Peltier..... 15	15
Figura 10: Circuito electrónico del efecto Peltier..... 15	15
Figura 11: Diagrama de bloques del equipo completo 16	16
Figura 12: Imagen de las cuatro placas o tarjetas interconectadas..... 17	17
Figura 13: Placa Peltier y su estructura interna junto a un sensor de temperatura. 17	17
Figura 14: Diagrama de bloques del Módulo de Potencia 18	18
Figura 15: Circuito de aplicación IC MAX1771..... 19	19
Figura 16: Módulo de potencia..... 19	19
Figura 17: Diagrama de bloques del módulo selector calor-frío 20	20
Figura 18: Módulo selector calor-frío 20	20
Figura 19: Diagrama de bloques del módulo de control..... 21	21
Figura 20: Diagrama de bloques del test de verificación del módulo de potencia..... 22	22
Figura 21: Esquema del circuito del test de verificación del módulo de potencia..... 22	22
Figura 22: Resultado gráfico de la corriente circulante por las placas Peltier configurando el esquema de simulación de PSIM con un duty-cycle al 75% de 360..... 23	23
Figura 23: Resultado gráfico de la corriente circulante por las placas Peltier configurando el esquema de simulación de PSIM con un duty-cycle al 50% de 360..... 23	23
Figura 24: Resultado gráfico de la corriente circulante por las placas Peltier configurando el esquema de simulación de PSIM con un duty-cycle al 25% de 360..... 24	24
Figura 25: Resultado gráfico de la corriente circulante por las placas Peltier configurando el esquema de simulación de PSIM con un duty-cycle al 75% de 360..... 24	24
Figura 26: Zoom de la Figura 25 25	25
Figura 27: Layout del microcontrolador modelo DSPIC 30F4012 - cara BOTTOM 26	26
Figura 28: Layout del microcontrolador modelo DSPIC 30F4012 - cara TOP 26	26
Figura 29: Layout del Rele de conmutación y bobina de inductancia N2881-AL - cara TOP 26	26
Figura 30: Layout del Rele de conmutacion y bobina de inductancia N2881-AL - cara BOTTOM..... 27	27
Figura 31: Layout Transistor MOSFET canal N IRFB 3806PbF - cara BOTTOM 27	27
Figura 32: Layout Transistor MOSFET canal N IRFB 3806PbF - cara TOP 27	27
Figura 33: Imagen fotográfica real de las cuatro tarjetas 28	28
Figura 34: Señal de osciloscopio del duty-cycle al 75% (CH3 Vmedio 8,56v) 28	28
Figura 35: Señal de osciloscopio del duty-cycle al 50% (CH3 Vmedio 6,46v) 29	29
Figura 36: Señal de osciloscopio del duty-cycle al 25% (CH3 Vmedio 2,32v) 29	29

<i>Figura 37: Entorno de trabajo IDE MPLAB 8.92.....</i>	<i>30</i>
<i>Figura 38: Diagrama de flujo del funcionamiento lógico.....</i>	<i>30</i>
<i>Figura 39: Inicialización de periféricos: Fragmento de código correspondiente al main()</i>	<i>31</i>
<i>Figura 40: Fragmento de código correspondiente a la inicialización del periférico PWN</i>	<i>31</i>
<i>Figura 41: Cálculo y actualización del PWM</i>	<i>32</i>
<i>Figura 42: Rutina de interrupción del PWM.....</i>	<i>32</i>
<i>Figura 43: Lectura del sensor analógico de temperatura</i>	<i>32</i>
<i>Figura 44: Panel control y monitorización del generador de estímulos</i>	<i>33</i>
<i>Figura 45: Fragmento de código donde se recoge el evento de recepción de muestras por el enlace serie asignado a la interfaz bluetooth.....</i>	<i>33</i>
<i>Figura 46: Sistema completo de captación y visualización de señales fisiológicas para estudios de percepción del dolor.</i>	<i>34</i>
<i>Figura 47: Fases de la simulación</i>	<i>36</i>
<i>Figura 48: Histograma HPT de todos los participantes, indicando la media μ y la desviación estándar σ.....</i>	<i>37</i>
<i>Figura 49: Flujo de trabajo de procesamiento de señales y análisis estadístico.</i>	<i>38</i>
<i>Figura 50: Discriminabilidad en función de las diferentes frecuencias sobre las que se compararon las condiciones para los valores de SE1 utilizando un test de Wilcoxon signed-rank.....</i>	<i>39</i>
<i>Figura 51: SE1 en función del tiempo para valores de frecuencia fijos durante 20 seg y la comparación de las condiciones....</i>	<i>40</i>
<i>Figura 52: Discriminabilidad de las condiciones de dolor y no dolor por entropía espectral 2D</i>	<i>40</i>
<i>Figura 53: Nuevo generador de estímulos</i>	<i>41</i>
<i>Figura 54: Interior del nuevo generador de estímulos.....</i>	<i>42</i>
<i>Figura 55: Datos de los participantes en la muestra piloto de n=8.....</i>	<i>43</i>
<i>Figura 56: CPT de los participantes, en la placa Peltier y en la mano.</i>	<i>43</i>
<i>Figura 57: Distribuciones de temperatura de la placa Peltier y de las manos inmediatamente después de la estimulación en frío.....</i>	<i>44</i>
<i>Figura 58: Discriminabilidad en función de las diferentes frecuencias sobre las que se compararon las condiciones de dolor y no dolor con estimulación en frío, para los valores de SE1 utilizando un test de Wilcoxon signed-rank.....</i>	<i>44</i>
<i>Figura 59: Discriminabilidad en función de las diferentes frecuencias sobre las que se compararon las condiciones de dolor y no dolor con estimulación en frío y calor, para los valores de SE1 utilizando un test de Wilcoxon signed-rank.....</i>	<i>45</i>
<i>Figura 60: SE1 en función del tiempo para valores de frecuencia fijos durante 10 seg y la comparación de las condiciones.</i>	<i>46</i>
<i>Figura 61: SE1 en función del tiempo para valores de frecuencia fijos durante 10 seg y la comparación de las condiciones.</i>	<i>46</i>
<i>Figura 62: Discriminabilidad de las condiciones de dolor y no dolor por entropía espectral 2D – estimulación con frío</i>	<i>47</i>
<i>Figura 63: Discriminabilidad de las condiciones de dolor y no dolor por entropía espectral 2D – estimulación con frío/calor..</i>	<i>47</i>
<i>Figura 64: Comparativa de p-valores en una y dos dimensiones en la estimulación con frío.</i>	<i>47</i>
<i>Figura 65: Imagen obtenida de IRSofT mostrando de la región estudiada</i>	<i>48</i>
<i>Figura 66: Termografía mostrando la recuperación de la temperatura de la mano derecha tras el estímulo nociceptivo frío. 48</i>	<i>48</i>
<i>Figura 67: Temperaturas obtenidas en la segunda falange de los dedos 4º (M1) y 3º (M2) de la mano derecha.</i>	<i>49</i>
<i>Figura 68: Termografía mostrando la recuperación de la temperatura de la mano izquierda tras el estímulo doloroso frío....</i>	<i>49</i>
<i>Figura 69: Temperaturas obtenidas en la segunda falange de los dedos 4º (M1) y 3º (M2) de la mano izquierda.....</i>	<i>49</i>

1. INTRODUCCIÓN

¿Es posible que las ondas eléctricas del cerebro (registradas mediante electroencefalografía, EEG) y su interacción con las hemodinámicas (registradas mediante fotopleletismografía, PPG) puedan determinar de alguna manera situaciones de dolor progresivo? La sinergia entre la tecnología electrónica y la instrumentación de última generación, junto con la incorporación del análisis estadístico y la ciencia de datos, ofrece enormes posibilidades en la investigación biomédica, y más concretamente, en la neurociencia [1]. Esta colaboración multidisciplinar ha permitido constantes mejoras en la detección de señales fisiológicas y análisis de datos, y los consecuentes avances en la etiología y diagnóstico de enfermedades e investigación clínica y básica. Entre las respuestas fisiológicas con más incógnitas a la hora de encontrar las causas de su variación, se encuentran las que dependen del sistema nervioso autónomo, por ejemplo, la actividad bioeléctrica cerebral, la sudoración o la variabilidad del ritmo cardíaco. La posibilidad de monitorizar on-line sus variaciones en la percepción del dolor térmico utilizando un dispositivo y algoritmos puede ser de interés para estudiar diferentes patologías que afectan al sistema nervioso periférico, como neuropatías de fibras pequeñas, fibromialgia o neuropatía diabética dolorosa.

Para conocer el estado del arte en este campo, se han estudiado 59 artículos científicos con relación a la generación de estímulos nociceptivos (algunos de ellos enfocados exclusivamente a la estimulación termoalgésica), su medición y los mecanismos involucrados en la anatomía humana. Todos ellos se han obtenido a través de PubMed y Scopus. Se han utilizado diferentes combinaciones de los siguientes términos aparecidos en artículos y reviews de hasta 10 años de antigüedad: "thermal", "pain", "device", "equipment", "instrumentation", "pain measurement", "thermal pain device" y "thermoalgesic device".

En este estudio, haciendo uso del Biopac y software tales como OrCad y Matlab se ha diseñado y desarrollado una plataforma, que por un lado genera un estímulo térmico controlado gracias al aumento o disminución de temperatura de una placa Peltier, llegando a ser "doloroso" y por otro, captura simultáneamente las señales EEG y PPG para posteriormente estudiar los posibles patrones o biomarcadores del dolor a través del análisis estadístico y la ciencia de datos.

1.1. ANATOMÍA DEL DOLOR Y SU PERCEPCIÓN

El dolor a menudo es difícil de medir y evaluar con precisión debido a su subjetividad, donde la sensación experimentada por cada individuo tiene connotaciones tanto físicas como emocionales, sin embargo, es un fenómeno sensorial protector esencial para la supervivencia. Los pacientes con lepra o insensibilidad congénita al dolor son propensos a lesiones repetidas de tejidos y órganos. Generalmente, el dolor es provocado por cualquier estímulo que dañe o potencialmente dañe el tejido y provoca una situación de alerta en el cuerpo que permite evitar el patógeno o estímulo agresor. Sin embargo, cuando la señalización se vuelve crónica, la sensación de dolor se vuelve perjudicial para el individuo tanto física como psicológicamente y actualmente, un número cada vez mayor de personas sufre meses o años de dolor, lo que puede afectar seriamente su calidad de vida [2], [3].

Pero ¿qué es exactamente la percepción del dolor y cómo se puede medir? Hace más de 50 años se formuló una de las primera definiciones de dolor: El dolor es una experiencia desagradable que asociamos principalmente con daño tisular [4]. Desde entonces, los enfoques multidisciplinarios y la aparición de modelos para enfermedades relacionadas con el dolor crónico han producido avances sustanciales en nuestra comprensión del dolor, su evaluación y tratamiento. Como tal, la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor ha propuesto una definición más refinada, según la cual: El dolor es una experiencia sensorial y emocional desagradable asociada con un daño tisular real o potencial, o descrita en términos de dicho daño [5]. En consecuencia, ahora está bien aceptado que el dolor abarca una respuesta sistémica que puede detectarse o percibirse en escalas y sistemas bastante diferentes.

Se cree ampliamente que el dolor emerge de redes cerebrales distribuidas que involucran procesos sensoriales, emocionales y cognitivos [6]. El dolor agudo causado por estímulos nocivos y la consecuente activación fisiológica de las vías neurales se ha explorado en muchos estudios experimentales [7]. Para comprender las vías nociceptivas, se requiere una breve descripción de la anatomía y fisiología normales del sistema sensorial. La vía del dolor comienza en la periferia, en los receptores de la piel, con las terminaciones nerviosas de las neuronas aferentes primarias cuyos axones terminales periféricos responden a diferentes tipos de estímulos (mecánicos, térmicos, químicos) y se produce la transducción [8], [9].

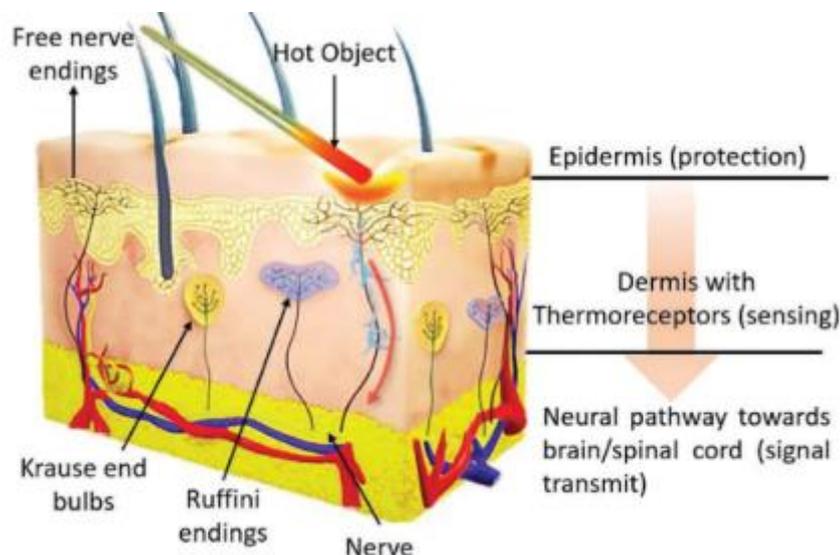


Figura 1 : Modelo de piel humana que muestra las terminaciones nerviosas libres, los termorreceptores y los nociceptores enterrados debajo de la epidermis como capa de protección. Imagen con Copyright © adaptada de J. Neto et al., 2022 [10].

Estas señales luego se procesan a través de vías espinales ascendentes, y finalmente, los impulsos nociceptivos se proyectan a la corteza, produciendo la percepción y modulación del dolor, que será enviada a la médula espinal por vía descendente para inducir la modulación del dolor. Por lo tanto, múltiples vías en el sistema nervioso central están involucradas en el procesamiento del dolor, y distinguir distintas funciones cerebrales se vuelve extremadamente complejo [11], [12]. Dada la complejidad del dolor, el proceso de investigación del dolor es largo y difícil.

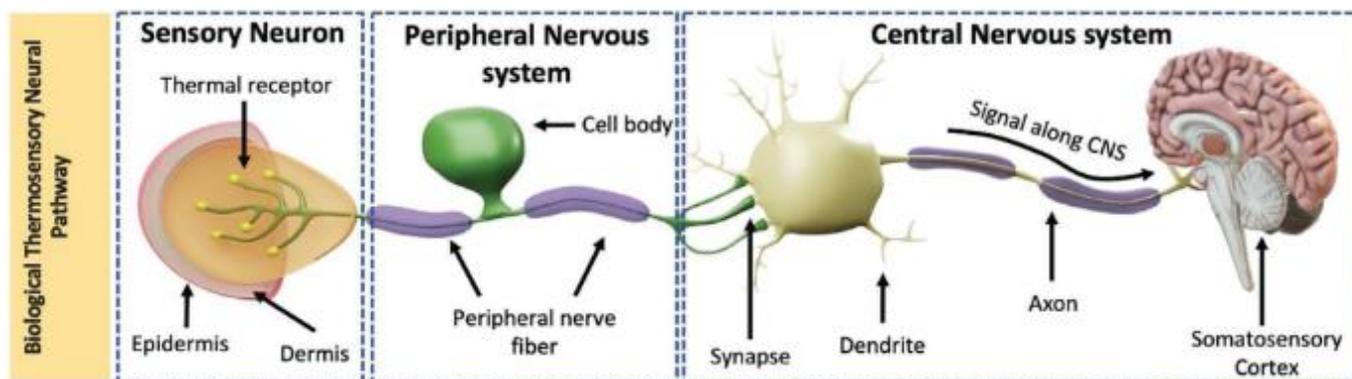


Figura 2: La vía neural sensorial térmica biológica. Imagen con Copyright © adaptada de J. Neto et al., 2022 [10].

Las fibras aferentes primarias se clasifican según su velocidad de conducción y los estímulos que provocan su activación. Las fibras A-beta ($A\beta$) son fibras mielinizadas de gran diámetro que son de conducción rápida (>20 m/s) y se activan y producen la sensación de tacto ligero, presión o movimiento del cabello. Las fibras A-delta ($A\delta$) son fibras finamente mielinizadas que conducen de 2 a 20 m/s. Las fibras C, las fibras aferentes predominantes en los nervios periféricos, son fibras amielínicas que conducen a menos de 2 m/s. Tanto las fibras $A\delta$ como las C pueden responder a estímulos intensos de calor, frío, mecánicos y químicos y, en consecuencia, se denominan "polimodales" [9]. Respecto a los receptores sensibles a los cambios de temperatura dolorosos, cabe mencionar que se activan a los 28°C para el frío y los 37°C para el calor [13].

	Fiber Type		
	$A\delta$	C	$A\beta$
Myelinated	Yes	No	Yes
Diameter	1–5 μm	0.02–1.5 μm	6–12 μm
Conduction speed	2–20 m/s	< 2 m/s	>20 m/s
Thermal sensitivity	Yes/No	Yes/No	No
Function	Nociception/Touch	Nociception/Touch	Proprio/mechanoreceptor
Modality	Mechanothermal and touch from skin	Polymodal (mechanical, thermal, chemical)	Touch and pressure from skin

Figura 3: Características de las principales fibras involucradas en la transición de la nocicepción. Imagen con Copyright © adaptada de G. I. Lee et al., 2020 [3].

La complejidad del procesamiento de la nocicepción proviene de los múltiples sistemas complejos involucrados en el procesamiento de estímulos nocivos, incluidos tanto el sistema nervioso autónomo (ANS) como el sistema nervioso central (CNS) [14]. La nocicepción implica cuatro procesos principales: transducción, transmisión, modulación y percepción. La complejidad de la nocicepción comienza con la naturaleza de los estímulos, donde las diferencias en el procesamiento de la nocicepción dependen del tipo de modalidad sensorial involucrada, es decir, si los estímulos son mecánicos (presión, tono), térmicos (calor) o químicos, y sus receptores específicos o nociceptores. Además, el procesamiento depende de la ubicación de los estímulos, desde los nervios cutáneos hasta los tejidos viscerales o musculoesqueléticos profundos. Estas diferencias en las modalidades y ubicaciones sensoriales en el nivel de transducción influyen en el procesamiento y la percepción nociceptivos.

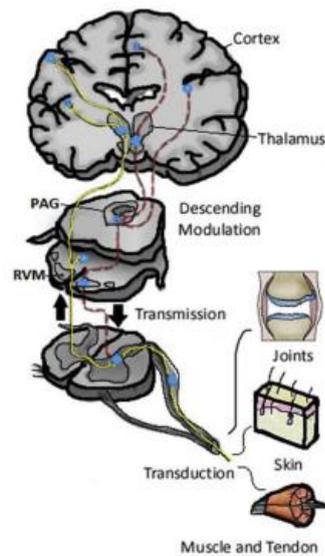


Figura 4: Vías complejas del dolor: la estimulación de las terminaciones nerviosas nociceptivas de las articulaciones, los músculos/tendones y la piel se transmite desde la periferia hasta la médula espinal y la corteza en una vía compleja que implica la transducción, transmisión y modulación de la señal del dolor. Imagen con Copyright © adaptada de G. I. Lee et al., 2020 [3].

Centrándose en la vía ascendente del dolor, el mensaje nociceptivo está codificado en el patrón y la frecuencia de los potenciales de acción desencadenados por diferentes sustancias químicas liberadas por las células lesionadas (por ejemplo, prostaglandinas) y transmitidas a la médula espinal a través del axón del nociceptor primario aferente. Esta neurona tiene su cuerpo celular en el ganglio de la raíz dorsal, con un axón ramificándose hacia la periferia y otro hacia la médula espinal, terminando cerca de las células nerviosas de segundo orden en el asta dorsal de la sustancia gris (sustancia gelatinosa) que se proyecta sobre el cuadrante anterolateral de la médula espinal al tronco encefálico y el tálamo. Los nociceptores aferentes primarios liberan sustancias transmisoras a las terminales espinales, estimulando las células transmisoras del dolor de segundo orden. A pesar de esto, existe una relación variable entre la entrada de los nociceptores y la intensidad del dolor percibido. En general, la intensidad de los estímulos es proporcional a la frecuencia de las descargas nociceptivas a lo largo de la vía ascendente. Una vez que la señalización nociceptiva llega al tálamo, se proyecta a áreas extensas del prosencéfalo a través de neuronas de tercer orden, desde la corteza somatosensorial y el sistema límbico hasta la corteza frontal [14].

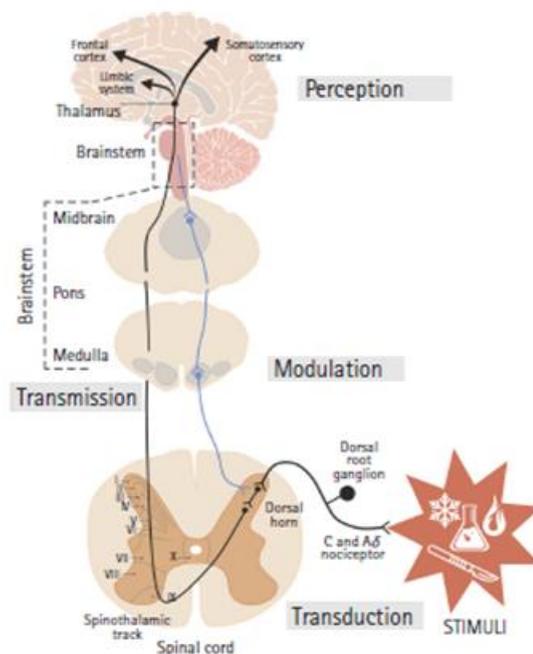


Figura 5: Vía general de la nocicepción. Vía de transmisión nociceptiva espinotalámica ascendente anterolateral (línea negra) y vía de modulación descendente (línea azul). Lugares de acción de los procesos de nocicepción (transducción, transmisión, modulación y percepción) más destacados. Imagen con Copyright © adaptada de P. Martínez-Vazquez et al., 2022 [14]

1.2. ANTECEDENTES EN MEDICIÓN DEL DOLOR

¿Se podría codificar la percepción del dolor a través de diferentes señales fisiológicas y evaluar sus posibles interacciones? La medición del dolor en humanos y animales (algesiometría) ha sido un objetivo de los investigadores del dolor desde finales del siglo XIX, ya que la evaluación válida y fiable del dolor es esencial para una investigación y atención clínica eficaz: por ejemplo, para determinar el tipo de dolor, si el manejo del dolor es adecuado, si se requieren cambios de analgésicos o cambios de dosis de analgésicos, si se justifican intervenciones adicionales, etc. [15]. Hoy en día, ningún sistema práctico por sí solo ha sido capaz de decodificar completa y objetivamente y sobre todo, predecir con éxito el dolor en entornos clínicos [16]. La selección del método adecuado debe tener en cuenta factores como el nivel de desarrollo, la cognición y el nivel de conciencia, el nivel educativo y las posibles diferencias culturales. Actualmente, la evaluación del dolor debe considerarse un proceso, más que una herramienta. No obstante, la incapacidad de algunos pacientes para expresar verbalmente su dolor crea la necesidad de una herramienta que pueda evaluar objetivamente el dolor en estos individuos [17].

1.2.1. MÉTODOS CUALITATIVOS / SUBJETIVOS

La evaluación del dolor es un paso clave en el proceso de regulación que muy frecuentemente, sigue basándose en criterios cualitativos informados por el paciente (escala visual analógica o EVA) [18] y conductas reflejas evocadas en respuesta a estímulos agudos en modelos animales [19], [20].

Las herramientas de evaluación del dolor más comúnmente utilizadas para el dolor agudo en entornos clínicos y de investigación son las escalas de calificación numérica (NRS), las escalas de calificación verbal (VRS), las escalas analógicas visuales (VAS) y la escala revisada de dolor facial (FPS-R). El VAS y el NRS son igualmente sensibles y funcionan mejor para la sensación subjetiva de la intensidad del dolor del paciente [17], pero no están exentos de una variabilidad tal que hace difícil la comparación entre estudios [21].

1.2.1.1. Escala de calificación numérica (NRS)

La NRS es una escala de 11 puntos que consta de números enteros del 0 al 10; 0 representa "Sin dolor" y 10 representa "El peor dolor imaginable". El paciente, selecciona el número único que mejor representa la intensidad de su dolor [22].

1.2.1.2. Escala de calificación verbal (VRS)

La VRS es una escala de 5 puntos que consta de una lista de frases (sin dolor, dolor leve, dolor moderado, dolor intenso, dolor máximo) que describen niveles crecientes de intensidad del dolor. El paciente, selecciona la frase única que mejor caracteriza la intensidad de su dolor [22].

1.2.1.3. Escala analógica visual (VAS)

La VAS consta de una línea horizontal de 100 mm de longitud, con los puntos finales "Sin dolor" y "Peor dolor imaginable" colocados en cada extremo de la línea [21], [22]. Se pide a los pacientes que hagan una marca en la línea que mejor represente el nivel de intensidad del dolor que están experimentando [22].

1.2.1.4. Escala revisada de dolor facial (FPS-R)

La FPS-R [4,21] es una escala de 6 puntos, con 6 caras diferentes que representan niveles crecientes de intensidad del dolor. Se pide a los pacientes que seleccionen la expresión que mejor caracterice la intensidad de su dolor, desde la cara más a la izquierda ("Sin dolor") hasta la cara más a la derecha ("Mucho dolor"). Cada ilustración corresponde a una puntuación numérica (0, 2, 4, 6, 8 o 10) [22].



Figura 6: Escala revisada de dolor facial (FPS-R). Imagen con Copyright © de M. A. Ferreira-Valente et al., 2011 [22].

Aunque el FPS-R se desarrolló inicialmente para su uso con niños, los investigadores también utilizan la medida en muestras de personas con problemas cognitivos y de comunicación.

1.2.2. MÉTODOS CUANTITATIVOS/OBJETIVOS

No existe un estándar de oro para medir la nocicepción dados los muchos mecanismos complejos que están involucrados junto con la variabilidad inherente del sujeto [23]–[25]. Sin embargo, algunos enfoques objetivos para estimar la nocicepción pueden ser suficientemente válidos para ayudar a los médicos en la toma de decisiones clínicas. En las siguientes secciones, se describen las características principales de los sistemas de monitorización de la nocicepción más utilizados actualmente [14].

1.2.2.1. Basados en cambios del EEG como respuesta al estímulo nociceptivo

La electroencefalografía (EEG) es una técnica no invasiva que utiliza electrodos que se colocan sobre el cuero cabelludo para registrar la actividad eléctrica del cerebro. El EEG se ha aplicado para evaluar el funcionamiento del cerebro en varios síndromes de dolor crónico [26]. El procesamiento central y periférico del estímulo doloroso puede reflejarse en las amplitudes de la señal en el EEG, que se a su vez se podrían correlacionar con el estímulo doloroso [18], [27]–[29]. En la actualidad, esta forma de medir la intensidad del dolor a través de EEG se encuentra en investigación y requiere de mayores estudios experimentales.

1.2.2.1.1. Índice compuesto de la variabilidad (BIS+EMG)

El índice biespectral (BIS®) fue el primero en ser aprobado por la Administración Americana de Alimentos y Medicamentos (FDA) para medir el estado de hipnosis de los pacientes; se encontró que el electromiograma (EMG) frontal aumentaba en situaciones de estimulación nociceptiva y que podría ser útil para detectar una analgesia inadecuada [30]. Debido a estos resultados, se desarrolló el índice de variabilidad compuesto basándose en el análisis de un período de tiempo de 3 min del valor BIS® y EMG (así como sus variaciones) con el fin de reflejar el equilibrio dolor/no-dolor, obteniéndose unos valores adimensionales de 0 (bajo nivel nociceptivo) a 10 (alto nivel nociceptivo) [31].

1.2.2.1.2. Entropía espectral (SE)

La entropía espectral (Spectral Entropy®) es otra variable de medición derivada del EEG y las señales de EMG frontales del estado de hipnosis del paciente. El algoritmo calcula la entropía en 2 valores diferentes: la entropía del estado (SE) y la entropía de respuesta (RE). La SE refleja la actividad del EEG en el dominio espectral entre 0 (hipnosis profunda) y 91 (despierto), mientras que la RE refleja una mayor parte del espectro e incluye además las frecuencias más altas procedentes del EMG frontal (ondas y bucles gamma, de 0 a 50 Hz y de 50 a 150 Hz), que muestra los valores hasta 100 [31]. Por lo tanto, la SE es utilizada para medir el estado cortical y el componente hipnótico de la anestesia [32]. La incorporación de señales de EMG en el EEG podría proporcionar un análisis de información adicional importante.

1.2.2.1.3. Índice qNOX

El índice qNOX® fue implementado opcionalmente en los monitores de profundidad anestésica qCON. El índice qNOX proviene de la señal EEG frontal registrada a través de un solo canal [31].

1.2.2.2. Basados en cambios del Sistema Nervioso Autónomo como respuesta al estímulo nociceptivo

1.2.2.2.1. Índice de pletismografía quirúrgica (SPI)

Aunque aún no ha sido aprobado por la FDA, General Electric Healthcare introdujo el índice de pletismografía quirúrgica (SPI) para medir el aumento de la actividad simpática de la señal PPG en respuesta a estímulos dolorosos, señal que también ha sido ampliamente estudiada en relación al dolor [33], [34]. El SPI se basa en un número de 0 a 100 y se considera que existe dolor si los valores son superiores a 50 [35]. Sin embargo, el SPI solo funciona junto con la anestesia general y, por lo tanto, no es válido para la evaluación del dolor en sujetos conscientes [36] pues se ignora gran parte del procesamiento cortical que ocurre cuando se recibe un estímulo doloroso [37]. Además, la relación exacta entre la entropía de las respuestas fisiológicas y la percepción del dolor sigue sin estar clara. Sin embargo, la relación entre las variaciones en la entropía después de la exposición a un estímulo nociceptivo ha sido evaluada previamente, mostrando un aumento en los patrones entrópicos espaciales en respuesta a estímulos dolorosos [38].

1.2.2.2.2. Conductividad de la piel (GSR)

La respuesta galvánica de la piel (GSR) es el cambio de la conductividad eléctrica de la piel. Los estímulos dolorosos activan el sistema nervioso autónomo, lo que provoca la sudoración y disminuye la resistencia eléctrica de la piel y, por lo tanto, aumenta su conductividad. Para medir la GSR, se debe aplicar un pequeño voltaje constante e imperceptible en la piel a través de electrodos autoadhesivos colocados en la palma de la mano o la planta del pie, para finalmente medir la conductividad con la ayuda de la Ley de Ohm. La frecuencia de la conductividad y la amplitud se pueden correlacionar con el estímulo del dolor [39].

1.2.2.2.3. Pupilometría

La pupilometría mide la respuesta simpática de incremento del diámetro pupilar ante un estímulo nociceptivo realizando la medición a través de una cámara de infrarrojos [40]. Es una respuesta rápida y permite predecir el estado analgésico previo al estímulo, siendo la respuesta al estímulo mucho más rápida que los cambios en la frecuencia cardíaca y la presión arterial [40], [41]. En su contra tiene que requiere mediciones repetidas, requiere cuidados sobre la humidificación corneal y las respuestas pupilares podrían verse influenciadas por varios otros factores, como fármacos, iluminación ambiental, edad y otras enfermedades [42], [43]. Sin embargo, estos cambios pupilares podrían ser un marcador muy interesante para analizar el dolor en pacientes no verbales y neonatos.

1.2.2.2.4. Nociception level index (NOL)

El monitor PMD100 (Medasense Biometrics, Israel) incluye el índice de nivel de nocicepción (NOL). El índice NOL es una puntuación que integra diferentes parámetros de múltiples bioseñales como la variabilidad de la frecuencia cardíaca (en la banda de potencia de 0,15 a 0,4 Hz), la amplitud de onda del pletismógrafo y la conductancia de la piel. Todas las bioseñales se recopilan con una sonda de dedo colocada en el dedo índice de la mano derecha que contiene sensores de piel fotopletismográficos y galvánicos, un sensor de temperatura de la piel y un acelerómetro de tres ejes. El NOL es un índice sin unidades, actualizado cada 5 s, que va de 0 a 100, donde valores más bajos indican menor activación simpática o analgesia más profunda (los valores recomendados están entre 10 y 25 para mantenimiento) [44], [45].

1.2.2.2.5. Analgesia Nociception Index (ANI)

El ANI (Metrodoloris, Francia), evalúa la respuesta parasimpática reflejada en el ECG durante la anestesia general. Este índice adimensional basado en la variabilidad de la frecuencia cardíaca mide la influencia del sistema parasimpático en el ritmo cardíaco durante la respiración. Va de 0 (nocicepción máxima) a 100 (analgesia máxima) [46], [47]. Los valores medios normales de ANI fluctúan entre 50 y 70, donde un ANI < 30 durante más de 5 min indica infra-dosificación de analgesia y un ANI > 70 indica sobredosis de analgesia. Tiene la desventaja de trabajar con un retraso de 4 minutos, la limitación de fármacos o arritmias, así como la gran variabilidad interindividual.

1.2.2.3. Otras alternativas de medición de nocicepción

1.2.2.3.1. Resonancia Magnética Funcional (fMR)

La resonancia magnética funcional (fMR), está basada en estudiar la hemodinámica cerebral a través de imágenes. La neuroimagen funcional puede derivar en biomarcadores cerebrales para la evaluación objetiva del nivel de dolor y guiar las decisiones de tratamiento. Sin embargo, los factores contextuales influyen en gran medida sobre la experiencia subjetiva del dolor, lo que puede aumentar significativamente la dificultad de su evaluación objetiva en el contexto clínico [48]. En el estudio de la estimulación térmica del dolor, la respuesta hemodinámica del tálamo puede reflejar la activación del dolor [49].

1.3. ESTIMULACIÓN NOCICEPTIVA

Para permitir la investigación del sistema nociceptivo, como un subsistema del sistema somatosensorial, que es responsable de transducir estímulos nocivos para prevenir el daño tisular, el sistema de estimulación necesita poder entregar un estímulo de suficiente energía [50].

En las primeras décadas del siglo XX, se utilizaron diferentes métodos para establecer curvas de respuesta a la dosis de analgésicos de opioides y aspirina [51], investigar la variabilidad intra e interindividual [52], la ritmicidad circadiana [51], e incluso para demostrar el efecto de factores moduladores como la distracción [52].

Actualmente, se utilizan diferentes modalidades de estimulación para excitar los nociceptores cutáneos. Las modalidades de estimulación más utilizadas incluyen estímulos mecánicos [53] y estímulos térmicos de calor y frío nocivos [52], [54] donde es común utilizar dispositivos de mercado que permiten realizar pruebas sensoriales cuantitativas, como los dispositivos QST (Quantitative Sensory Testing), los predominantes en este campo [55].

Los estímulos mecánicos suelen administrarse mediante estímulos punteados o algómetros de presión como por ejemplo, la prueba de sensibilidad mecánica del filamento de von Frey [56]. La estimulación por calor o frío en cambio, se aplica utilizando una superficie calefactable/enfriable como las placas Peltier [57] que permiten un control preciso del calor/frío aplicado.

1.4. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

La respuesta fisiológica al dolor se ha abordado previamente utilizando enfoques muy diversos y, sin embargo, estas señales generalmente se analizan por separado [37]. Además, el paradigma para producir estimulación dolorosa depende de la intervención humana [58] o de factores ambientales [59], lo que puede comprometer la confiabilidad de estos resultados.

La principal hipótesis de trabajo es que monitorizando simultáneamente las variables de electroencefalografía combinados con fotopletismografía en respuesta a un estímulo doloroso controlado y objetivo, y comparándolas con la respuesta basal, podrían revelarse aspectos novedosos, marcadores fisiológicos o tendencias previamente no identificadas de la excitación y regulación simpática en relación con la percepción del dolor.

Para confirmar la hipótesis y a diferencia de otros estudios, se ha diseñado y utilizado un dispositivo portátil que controla objetivamente el estímulo térmico doloroso generado, mientras se registra y memoriza de forma sincrónica la actividad eléctrica neuronal y algunos parámetros hemodinámicos. El método diseñado para llevar a cabo el experimento ha sido aprobado por del comité de ética de la Universidad del País Vasco.

Una vez desarrollado y validado este nuevo dispositivo en población sana, se pretende validar su utilidad en la evaluación de grupos de pacientes con diferentes patologías asociadas a alteraciones en el Sistema Nervioso Periférico.

2. GENERADOR DE ESTÍMULOS TÉRMICOS

El diseño, fabricación y desarrollo software del generador de estímulos térmicos ha sido realizado en el departamento de ingeniería electrónica de la facultad de ingeniería de la UPV/EHU, bajo la dirección del Dr. Javier Ortiz de Zarate.

2.1. EL EFECTO PELTIER

El generador portátil de estímulos térmicos se basa en varias placas Peltier que controladamente aumentan o disminuyen de temperatura, provocando sensaciones que llegan a ser dolorosas. La tecnología termoeléctrica basada en el principio del efecto Peltier permite el bombeo de calor de un foco frío a un foco caliente (o vice versa) cuando circula una corriente eléctrica.

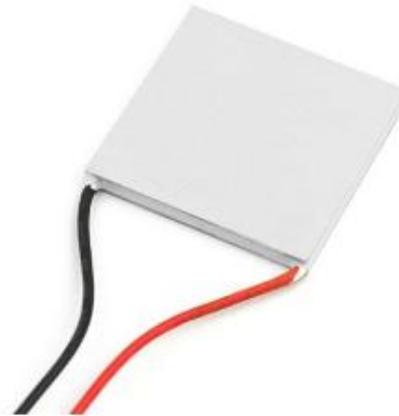


Figura 7: Imagen de una célula Peltier.

El efecto Peltier ocurre cuando una corriente pasa a través de dos materiales semiconductores tipo n y tipo p que están conectados entre sí por puentes eléctricos. La corriente origina una transferencia de calor desde una unión hasta la otra, de tal forma que una unión se enfría mientras que la otra se calienta. Las placas cerámicas que están dispuestas en ambas caras llevan pistas de cobre que permiten unir los semiconductores:

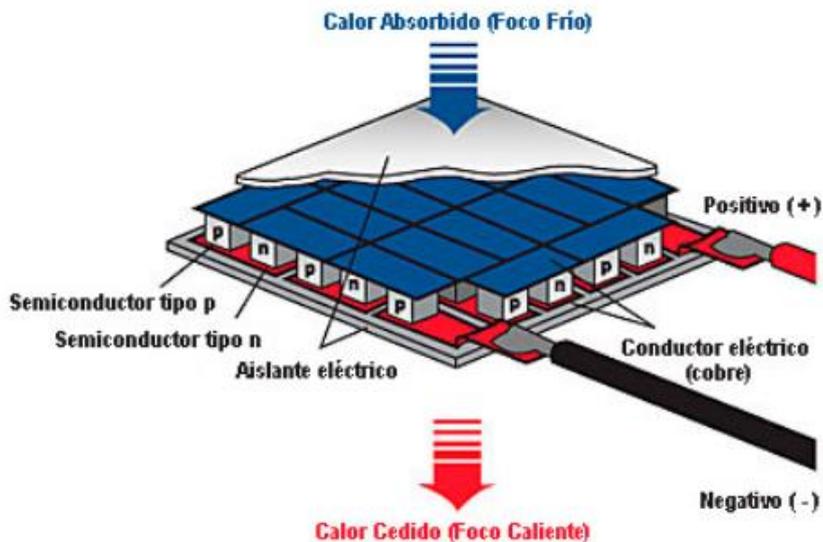


Figura 8: Esquema de funcionamiento de una placa Peltier

Si al semiconductor tipo N se le aplica la polaridad negativa de alimentación y al semiconductor tipo P la polaridad positiva, la placa de cobre de la parte superior calienta, mientras que la inferior enfría. Si se invierte la polaridad de alimentación, se invierte la función de calor / frío: la parte superior enfría y la inferior calienta.



Figura 9: Esquema de funcionamiento de una Celula Peltier

Como se puede ver en la siguiente representación del circuito electrónico, cuando se aplica una tensión V_{in} por la que se hace circular una corriente I a través del circuito, se obtiene una absorción de calor en la unión de los materiales correspondientes al terminal A mientras que se desprende en la unión correspondiente al terminal B. Si la polaridad de la fuente se invirtiera, el terminal que absorbe calor lo desprendería y viceversa. La potencia Q absorbida o generada gracias al efecto de Peltier, donde el coeficiente Peltier existente en una unión (Δy para el material Y o Δx para material X) se puede deducir como la potencia generada o absorbida por esta unión dependiendo de la corriente eléctrica que pase a través de esta misma, se puede expresar de la siguiente manera:

$$Q = (\Delta y - \Delta x) \cdot I \quad \rightarrow \quad Q / I = (\Delta y - \Delta x)$$

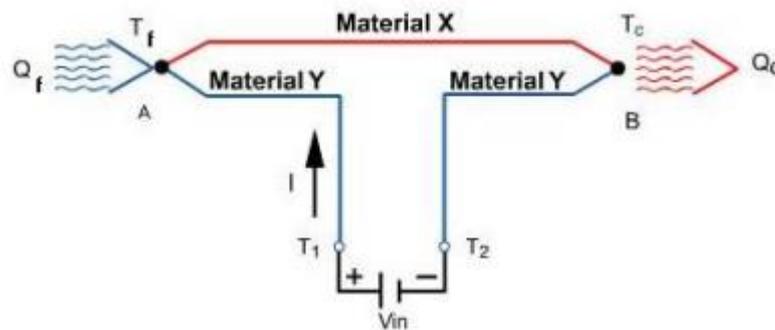


Figura 10: Circuito electrónico del efecto Peltier.

El desarrollo de circuitos de refrigeración basados en placas Peltier, como alternativa a los refrigerantes convencionales de origen orgánico (agua, amoníaco) y de origen inorgánico (CFC`s, HCFC`s) que resultan muy contaminantes, ha ido en aumento en los últimos años. Estos presentan grandes ventajas respecto a los otros sistemas de climatización, a continuación, se indican algunas de ellas, las cuales hacen de sumo interés la investigación en este campo:

- No es necesario el uso de combustibles, la única fuente de alimentación necesaria es la red eléctrica.
- Produce frío o calor con un simple cambio de polaridad de la tensión (corriente) aplicada.
- Se tiene un control preciso de la temperatura.
- Puede funcionar en cualquier posición.
- No provoca un impacto medioambiental.
- Carece de partes móviles, lo que incrementa su fiabilidad y elimina los ruidos y vibraciones.

Fundamental en aplicaciones en las que la temperatura debe ser regulada de forma muy precisa y fiable, por ejemplo, en los contenedores empleados en el transporte de órganos para trasplantes o en aquellas en las que las vibraciones son un inconveniente grave, como, por ejemplo, los sistemas de guía que emplean tecnologías láser, o los circuitos integrados.

Es por todas estas características que la refrigeración termoeléctrica es aplicable en un campo muy amplio. Sin embargo, también tiene inconvenientes:

- Su rendimiento es bajo, ya que la necesidad de energía de entrada depende de muchos factores, como pueden ser la correcta disipación del calor o encontrar la intensidad de corriente óptima a proporcionar a las placas.
- No existe una linealidad entre la temperatura y la intensidad que atraviesa los módulos.
- La refrigeración es un aspecto muy importante a controlar, ya que, dependiendo de la temperatura y la humedad, puede producirse condensación o incluso hielo, llegando a poner en riesgo la circuitería.

Son múltiples las aplicaciones de las placas Peltier y los módulos termoeléctricos: sistemas de enfriamiento para neveras, armarios eléctricos industriales, cuadros electrónicos, equipos médicos, láseres, telecomunicaciones, industria automovilística o ferrocarril...

2.2. DISEÑO ELECTRONICO DEL GENERADOR DE ESTÍMULOS

En lo que respecta al generador de estímulos, el resultado está compuesto por 4 placas interconectadas: la fuente de alimentación por un lado, y los tres módulos diseñados ad-hoc por el otro:

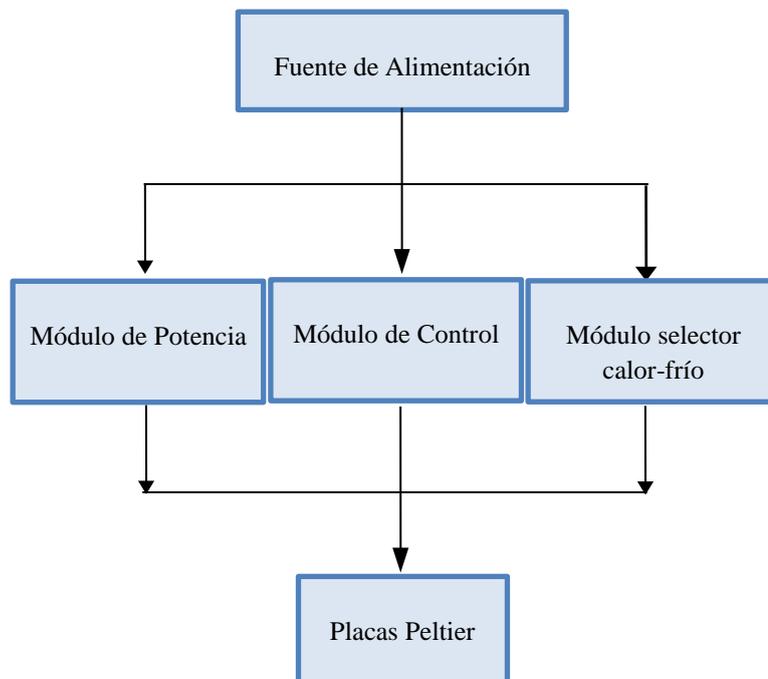


Figura 11: Diagrama de bloques del equipo completo

- El módulo de potencia**, se utiliza para transferir la potencia a las placas Peltier, gracias principalmente a un Transistor MOSFET y un Diodo schotkky.
- El módulo de control**, se utiliza para controlar la temperatura deseada y regular la corriente gracias principalmente a un microcontrolador, un módulo bluetooth para la conexión con el PC y sensores de temperatura.
- El módulo selector calor-frío**, se utiliza para conmutar entre generación de frío y calor en las placas Peltier, gracias principalmente a un relé de 30 A, una bobina de conductancia, un convertidor elevador y transistores en modo conmutación.

Las 4 placas interconectadas tienen la función de regular y controlar unas placas Peltier que cambiarán de temperatura al gusto del usuario.

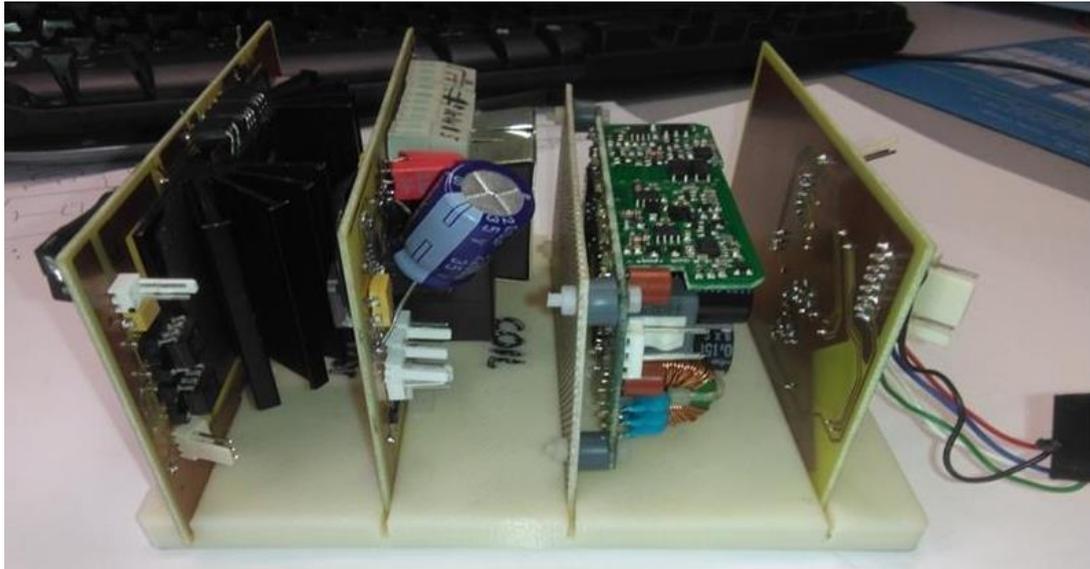


Figura 12: Imagen de las cuatro placas o tarjetas interconectadas

El cuadrado azul de la siguiente figura muestra la estructura interna de la placa Peltier TEC1-12710 cuya estructura interna está formada por capas apiladas con celdas diminutas. El círculo rojo muestra el termistor NTC 1K utilizado como transductor de temperatura adherido a la superficie de la placa Peltier con adhesivo termoconductor (conductividad térmica $> 3 \text{ W/mK}$).

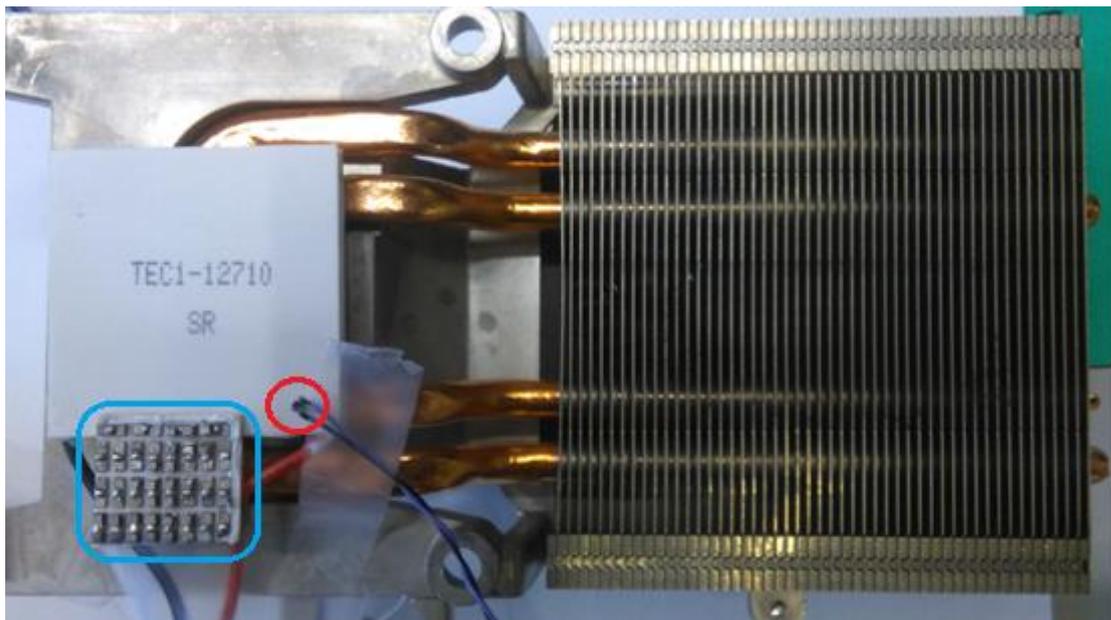


Figura 13: Placa Peltier y su estructura interna junto a un sensor de temperatura.

2.2.1. FUENTE DE ALIMENTACION

La fuente de alimentación es el dispositivo que convierte la corriente alterna, en una o varias corrientes continuas, con lo que se consigue que los distintos circuitos del dispositivo electrónico estén correctamente alimentados. La fuente de alimentación seleccionada para el proyecto es de uso comercial y tiene un Voltaje de salida de 5 Voltios y una capacidad de corriente de 20 Amperios.

En lo que a la potencia se refiere, indica la capacidad para alimentar más dispositivos o de mayor consumo. La capacidad seleccionada por nuestro dispositivo son 100 watts de potencia máxima.

2.2.2. MODULO DE POTENCIA

El módulo de potencia es el encargado de transferir de modo regulado la potencia eléctrica desde la fuente de alimentación a las placas Peltier. El módulo de potencia consta de los siguientes elementos principales:

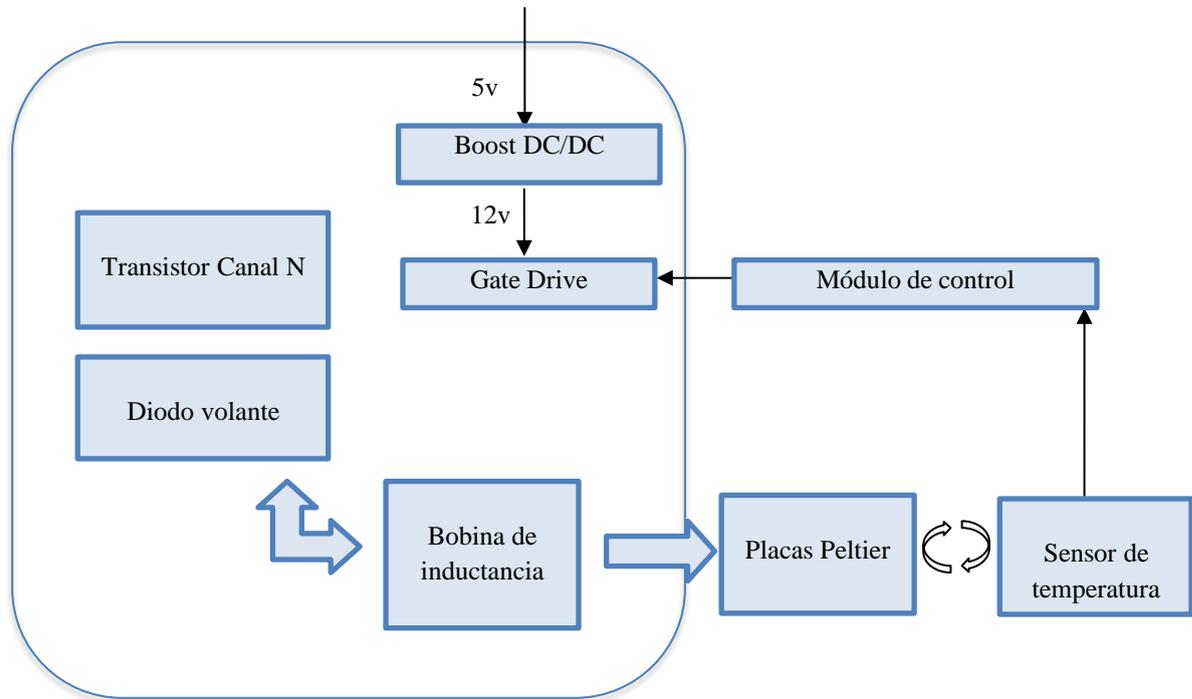


Figura 14: Diagrama de bloques del Módulo de Potencia

Se utiliza un convertidor DC-DC elevador para obtener 12 voltios en los gaterives. El trabajo más crítico es la conmutación de los transistores y el convertidor es conveniente para asegurar el rendimiento de estos.

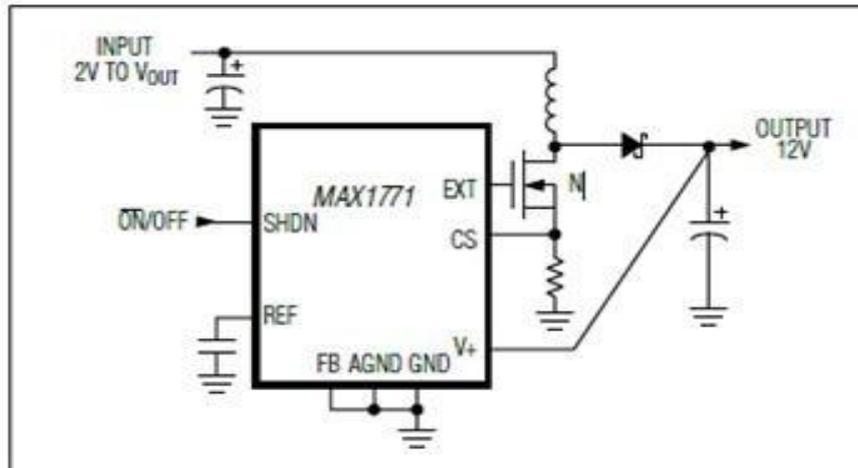
Los transistores se utilizan para dosificar la corriente que circula por las placas Peltier, y así regular su temperatura. El transistor trabaja en modo de conmutación siguiendo la técnica de modulación por ancho de pulsos (PWM). Al trabajar en modo de conmutación a alta frecuencia (60khz) se consigue que la corriente se mantenga aproximadamente constante.

2.2.2.1. Selección de componentes del módulo de potencia

Los componentes seleccionados son:

- d) **Transistor MOSFET** canal N IRFB 3806PbF de 60 voltios de voltaje de ruptura, una corriente nominal de 43 amperios y una $R_{ds(on)}$ baja de 12,6 miliohmios. Para reducir la temperatura de este se opta por colocar dos transistores en paralelo de modo que repartan la corriente total entre ambos. Por otra parte, se reduce la resistencia total de los transistores mejorando el rendimiento de la placa Peltier.
- e) **Diodo SCHOTTKY** de potencia MBR1080G de voltaje máximo inverso 80 V, bajo voltaje directo $V_f=0.5$ voltios y máxima potencia de disipación de 4 W. Actúa como el camino alternativo de la corriente cuando el transistor MOSFET se bloquea.
- f) **IC Gate-Drive** TC4422, para la conmutación de transistores. Alimentación a 15 voltios y corriente de salida máxima 9 A. Hace de interfaz entre los pulsos que transcurren del módulo de control y las entradas de los transistores.
- g) **Radiadores disipadores** de calor de 80x50x40 mm y resistencia térmica $R_{\theta c-a}$ de 4.5 °C/W para los 4 transistores y los dos diodos. Tanto los transistores como los diodos tienen encapsulado TO220 que incorpora una placa metálica en la parte trasera del componente con un agujero para fijarlo al radiador.
- h) **Convertidor DC-DC** elevador basado en el IC MAX1771.

Typical Operating Circuit



Pin Configuration

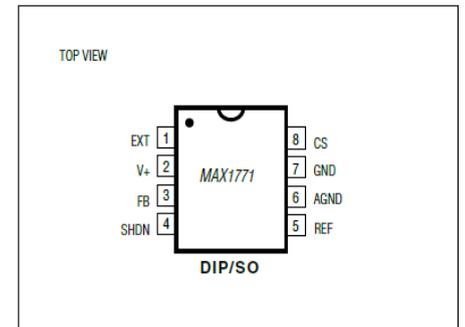


Figura 15: Circuito de aplicación IC MAX1771

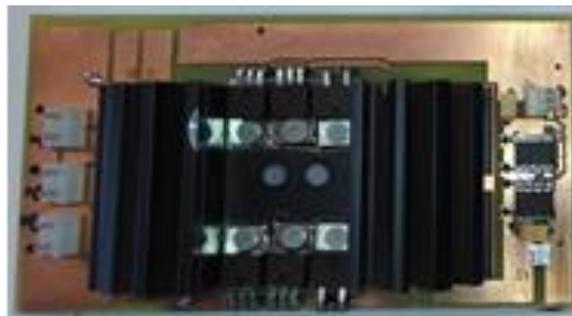


Figura 16: Módulo de potencia

2.2.3. MODULO SELECTOR CALOR-FRIO

La selección del circuito calor o frío se realiza por medio de un relé del tipo SPDT que permite dirigir la tensión de alimentación hacia un polo de salida u otro. En un caso se fuerza a que la corriente circule en un sentido por las placas Peltier y una pareja de transistores, mientras que en el otro caso la corriente circulará por las placas Peltier en sentido opuesto y por la otra pareja de transistores. El relé se activa a través de la bobina interna de entrada a la que se le aplica un voltaje de 5 v.

El Módulo Selector Calor-Frío consta de los siguientes elementos principales:

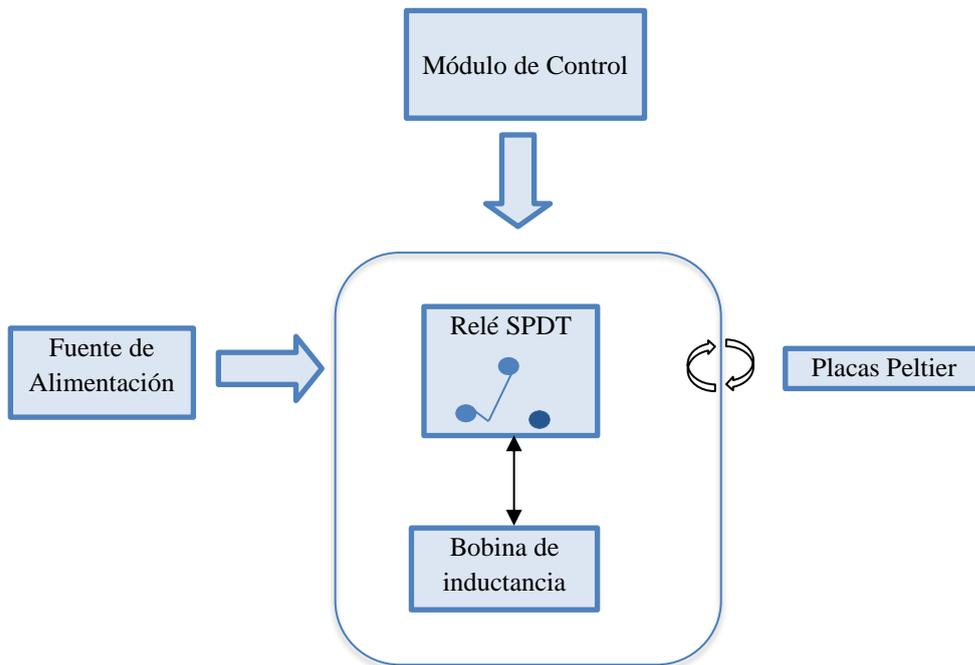


Figura 17: Diagrama de bloques del módulo selector calor-frío

2.2.3.1. Selección de componentes del módulo selector calor-frío

Los componentes seleccionados son:

- a) **Relé** de 30 Amperios
- b) **Bobina de inductancia** N2881-AL de 350/290 microhenrio del fabricante coilcraft con corriente de saturación de 18 Amperios.



Figura 18: Módulo selector calor-frío

2.2.4. MODULO DE CONTROL

El módulo de control permite al usuario seleccionar tanto el modo de funcionamiento, manual (para la realización de pruebas) o automático, como la temperatura deseada. Su funcionamiento se basa en un microcontrolador que adquiere las señales del usuario, y genera los pulsos PWM y señales de salida para el funcionamiento del dispositivo y la monitorización de los resultados. Para ello el modelo de microcontrolador seleccionado, DSPIC30F4012, dispone de los periféricos y módulos necesarios para realizar las tareas de control. Para regular la magnitud y la dirección de la corriente que alimenta al módulo en dichos controladores, se emplea la modulación PWM.

El Módulo de Control consta de los siguientes elementos principales:

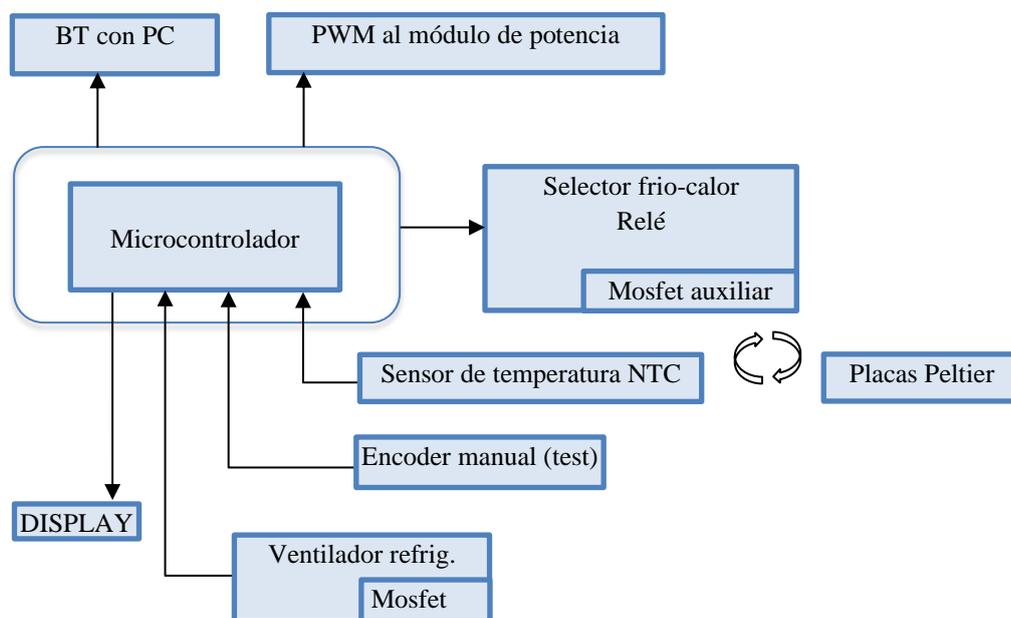


Figura 19: Diagrama de bloques del módulo de control

2.2.4.1. Selección de componentes del módulo de control

Los componentes seleccionados son:

- Microcontrolador** modelo DSPIC 30F4012.
- Transistores auxiliares** MOSFET N para la conmutación de ventilador-refrigeración de las placas Peltier y la conmutación del relé de selección frío-calor.
- Modulo Bluetooth** 2.0 modelo HC05 para la conexión inalámbrica con el PC.
- Sensor** NTC de temperatura.
- Encoder manual** para la selección de modo de funcionamiento manual test/automático.
- Display** de dos filas y 16 caracteres por fila para la visualización de los datos de temperatura.

2.3. TEST DE VERIFICACION DEL DISEÑO DEL MODULO DE POTENCIA Y SIMULACIÓN EN PSIM: SET UP DEL EXPERIMENTO Y RESULTADOS

Para verificar la funcionalidad del módulo de potencia obtenida en las simulaciones es necesario hacer una serie de ensayos con los dispositivos reales. Para ello se dispuso de los siguientes componentes:

- Dos transistores MOSFET canal N montados sobre el radiador seleccionado anteriormente y conectados en paralelo a masa.
- Una bobina de 100 μH .
- Un generador de señal para la creación de pulsos PWM de diferente magnitud y frecuencia.
- Una fuente de alimentación variable. El circuito se alimenta a 5V tal como se requiere en la aplicación.



Figura 20: Diagrama de bloques del test de verificación del módulo de potencia.

Para la verificación funcional del módulo de potencia se realizaron diversas simulaciones con el software PSIM. El esquema del circuito se muestra de forma simplificada en la siguiente figura. Para ello se ha utilizado una única rama con un transistor MOSFET canal N, y un diodo y una resistencia de 1 Ohmio que emulan a la placa Peltier y la bobina de inductancia 100 μH .

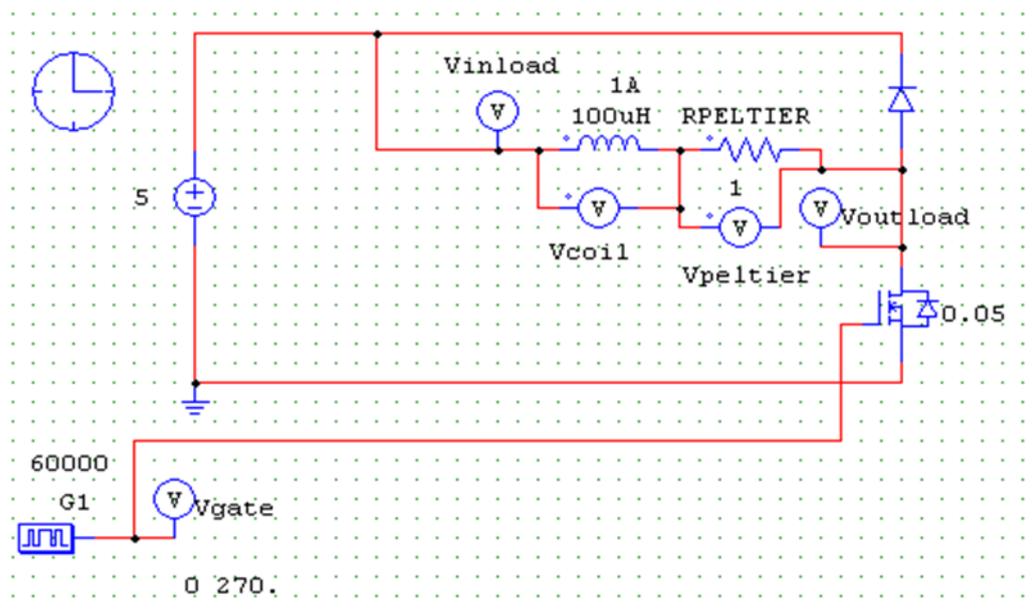


Figura 21: Esquema del circuito del test de verificación del módulo de potencia

Los parámetros a seleccionar para la simulación son:

- La frecuencia de conmutación del PWM
- El duty-cycle, que se selecciona en el bloque generador de los pulsos.

En los siguientes gráficos se puede apreciar la corriente que circula por las placas Peltier a diferentes valores de frecuencia de conmutación PWM y del duty-cycle:

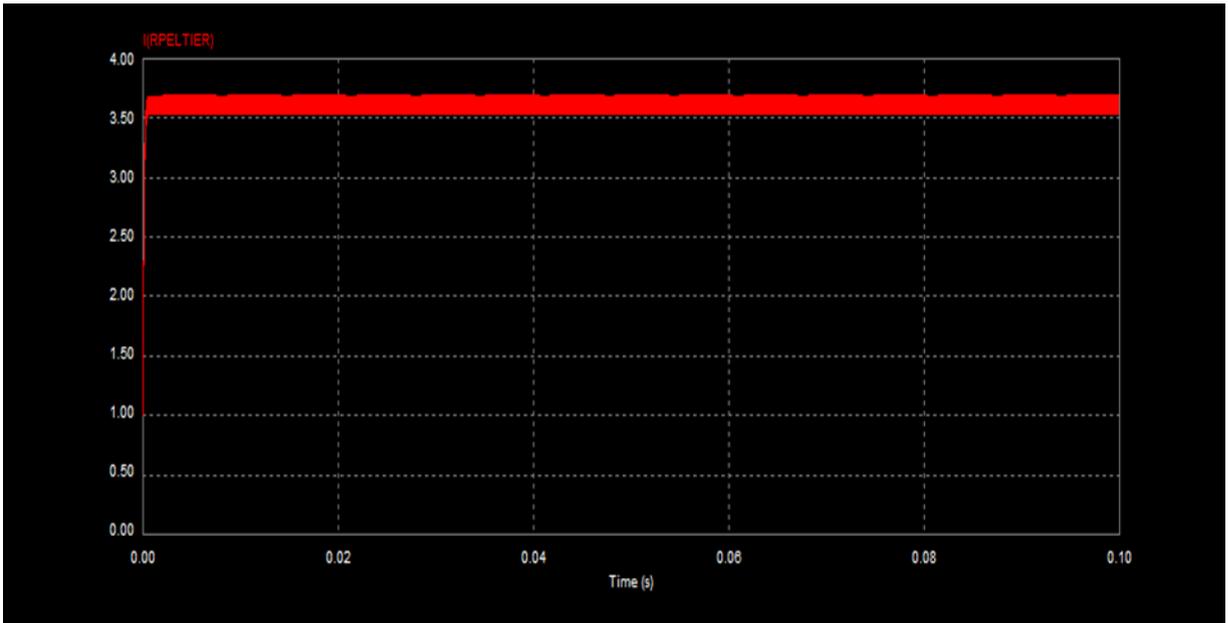


Figura 22: Resultado gráfico de la corriente circulante por las placas Peltier configurando el esquema de simulación de PSIM con un duty-cycle al 75% de 360

- Frecuencia de conmutación del PWM = 60Khz
- Duty- cycle = 270

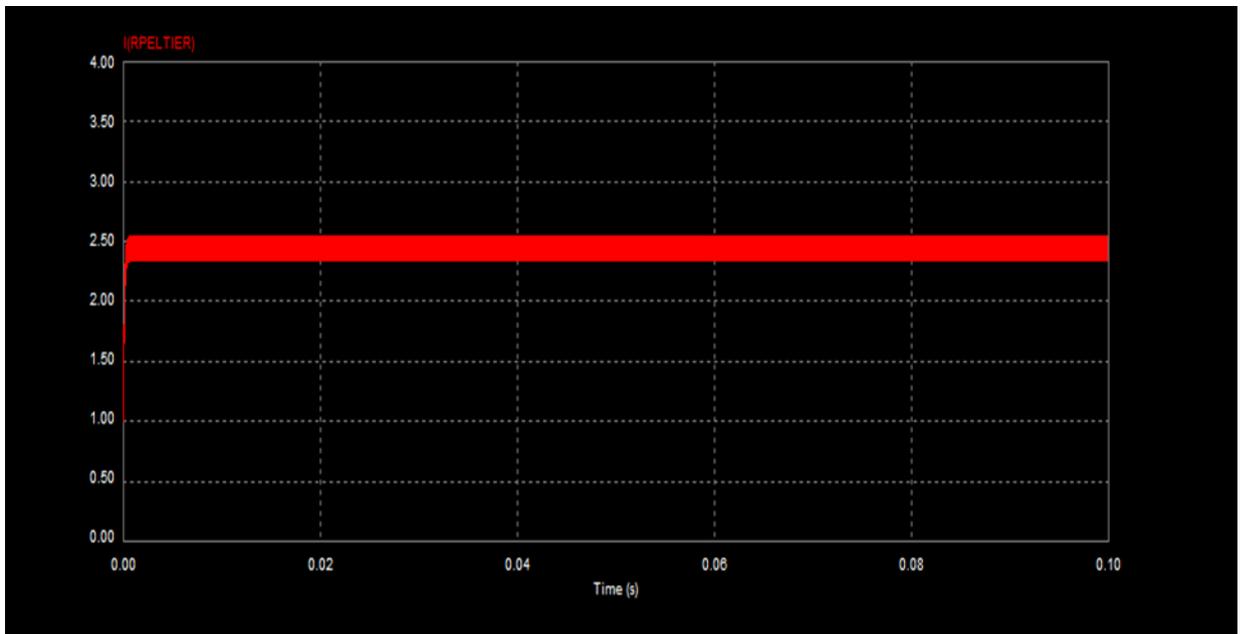


Figura 23: Resultado gráfico de la corriente circulante por las placas Peltier configurando el esquema de simulación de PSIM con un duty-cycle al 50% de 360

- Frecuencia de conmutación del PWM = 60Khz
- Duty- cycle = 180

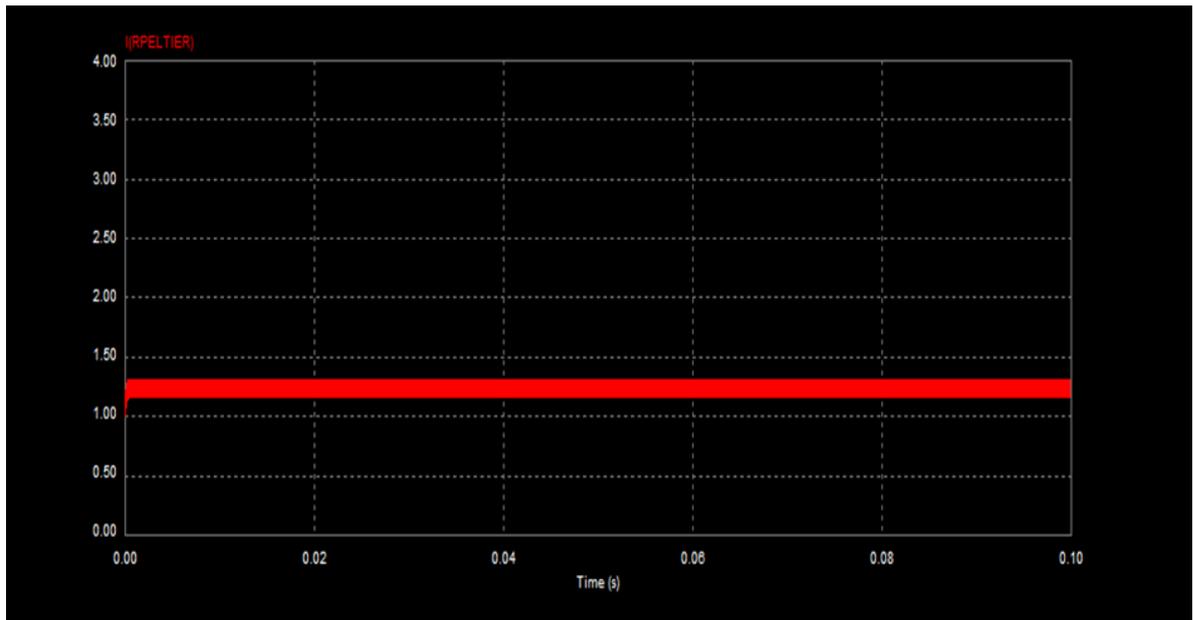


Figura 24: Resultado gráfico de la corriente circulante por las placas Peltier configurando el esquema de simulación de PSIM con un duty-cycle al 25% de 360

- Frecuencia de conmutación del PWM = 60Khz
- Duty- cycle = 90

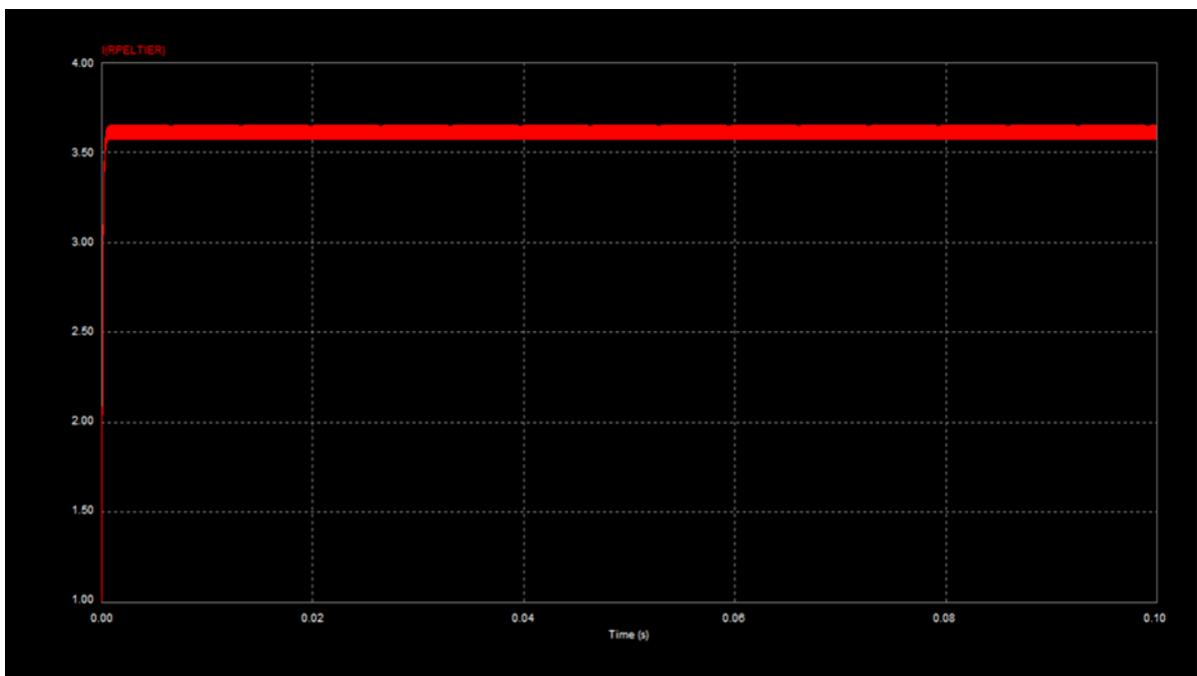


Figura 25: Resultado gráfico de la corriente circulante por las placas Peltier configurando el esquema de simulación de PSIM con un duty-cycle al 75% de 360

- Frecuencia de conmutación del PWM = 120Khz
- Duty- cycle = 270

Si se observan las tres primeras figuras con las curvas de la corriente que circula por la resistencia/placa Peltier, se verifica que la corriente que circula por la placa puede ser controlada de manera adecuada mediante la conmutación PWM del transistor MOSFET solo con ajustar el duty-cycle. También se comprueba en la figura 25 que aumentando la frecuencia de conmutación de 60KHz a 120KHz, el rizado de la corriente disminuye, es decir, la corriente es más constante. Sin embargo, hay que tener en cuenta que aumentarían las pérdidas por conmutación en los transistores MOSFET del módulo de potencia, generando más calor y más ruido electromagnético entre otros efectos indeseados.

En la figura 26 mediante un zoom, se puede apreciar que el rizado de la corriente es mínimo, y que corresponde a las fases de activación y desactivación ON-OFF de los transistores:

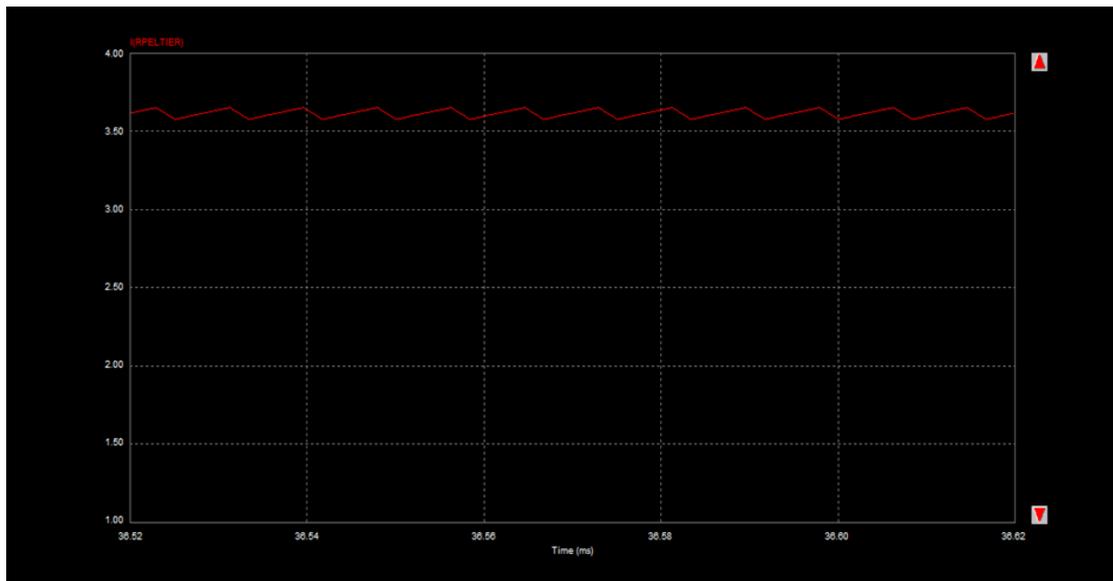


Figura 26: Zoom de la Figura 25

2.4. TARJETAS ELÉCTRONICAS

2.4.1. LAYOUT DE LAS TARJETAS

Para el diseño de las tarjetas electrónicas se ha utilizado el programa ORCAD 10.0 de Cadence. Para simplificar la tarea y teniendo en cuenta que las tarjetas se iban a hacer de modo manual y no ensambladas en fabricación automatizada, se optó por no implementar la fase de realización del esquemático con la herramienta CAPTURE. De este modo se pasó directamente a la fase de diseño con la herramienta LAYOUT.

En primer lugar, se creó y editó una librería de huellas (peltier.lib) con todas las huellas de los componentes a utilizar en las tres tarjetas. Cada una de las tarjetas se diseñaron a doble cara para permitir mayor número de conexiones en un espacio más reducido. Las dimensiones de las tres tarjetas son las mismas pues vienen dadas por las dimensiones de la caja que contiene las placas Peltier junto a sus radiadores y ventiladores. Teniendo en cuenta estas dimensiones se creó el contorno externo o “board outline” de cada tarjeta.

A continuación, se procedió a añadir los componentes necesarios en cada tarjeta, crear las conexiones o nets entre los pines de los mismos y finalmente a hacer las pistas o rutas de cobre manualmente. Por último, se realizó el relleno de cobre asociado a la red de masa de referencia para crear planos de masa lo más amplios posibles en ambas caras. En el caso del módulo de potencia y el módulo selector de frío-calor donde las corrientes a través de las pistas pueden ser superiores a 12 A, se implementaron las pistas con obstáculos rellenos de cobre para alimentar la densidad de corriente admisible.

En las imágenes a continuación se muestran los diseños post-procesados de cada una de las dos caras TOP y BOTTOM. En los primeros dos diseños se puede observar el Layout del módulo de control donde destaca la presencia de las huellas del Microcontrolador modelo DSPIC 30F4012 y del módulo bluetooth HC05 junto a los diversos conectores para los periféricos.

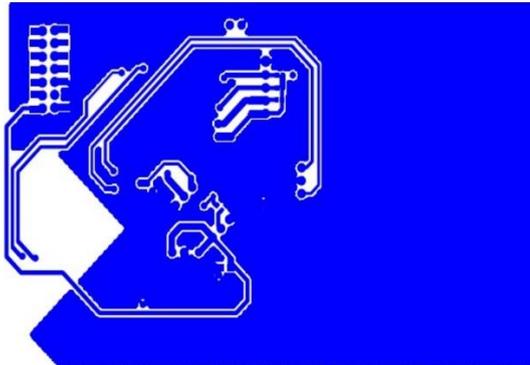


Figura 27: Layout del microcontrolador modelo DSPIC 30F4012 - cara BOTTOM

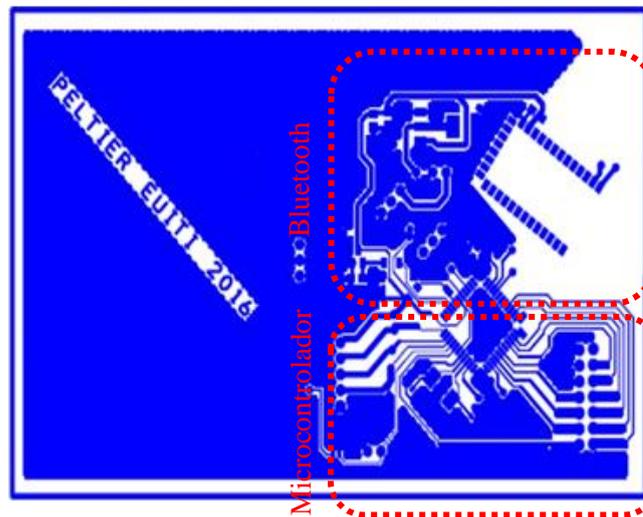


Figura 28: Layout del microcontrolador modelo DSPIC 30F4012 - cara TOP

En los siguientes dos diseños se puede apreciar como los elementos más importantes son el relé de conmutación y la bobina de inductancia N2881-AL. Se observa la importante anchura de las pistas ampliada con la técnica de relleno de cobre.

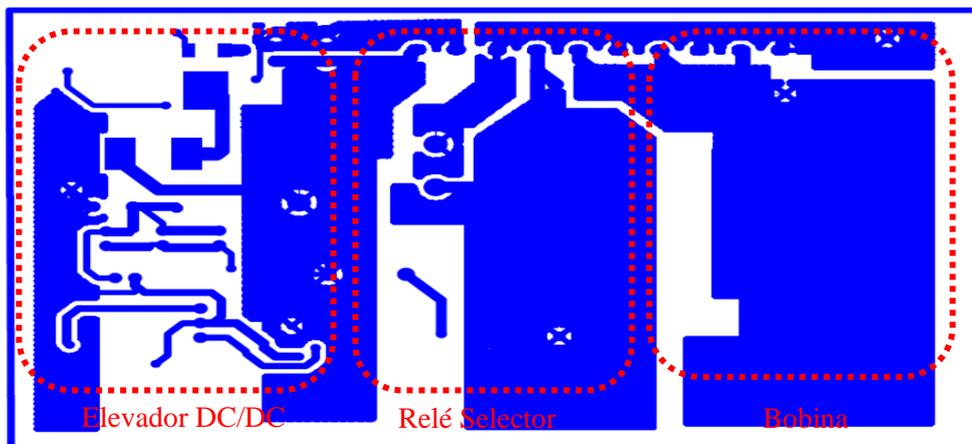


Figura 29: Layout del Relé de conmutación y bobina de inductancia N2881-AL - cara TOP

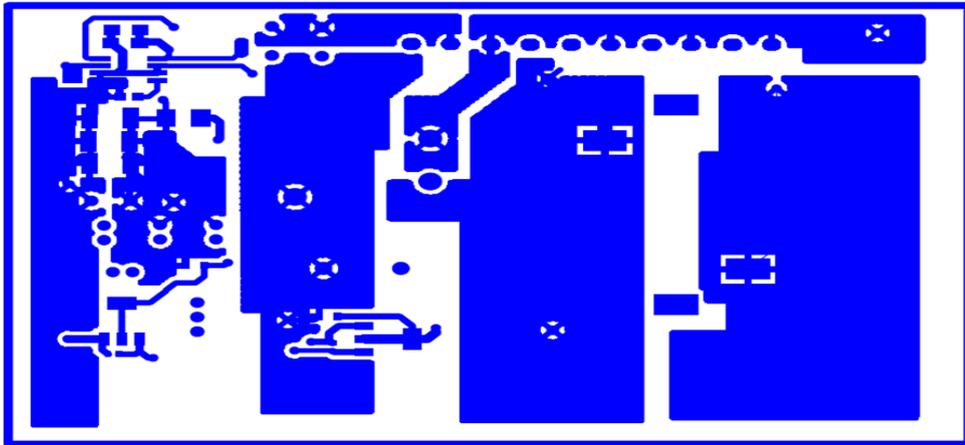


Figura 30: Layout del Rele de conmutacion y bobina de inductancia N2881-AL - cara BOTTOM

Por último, en el diseño del Layout se puede apreciar como los transistores MOSFET están colocados en paralelo, con el objetivo de reducir la temperatura de modo que repartan la corriente total entre ambos. Transistor MOSFET canal N IRFB 3806PbF es la referencia de los transistores que se pueden apreciar en el diseño.

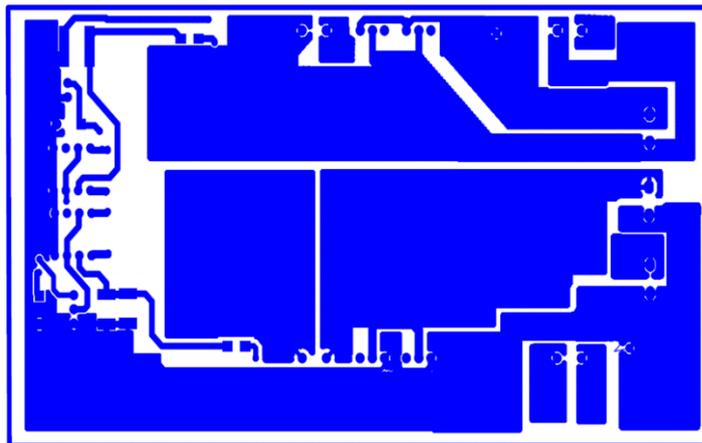


Figura 31: Layout Transistor MOSFET canal N IRFB 3806PbF - cara BOTTOM

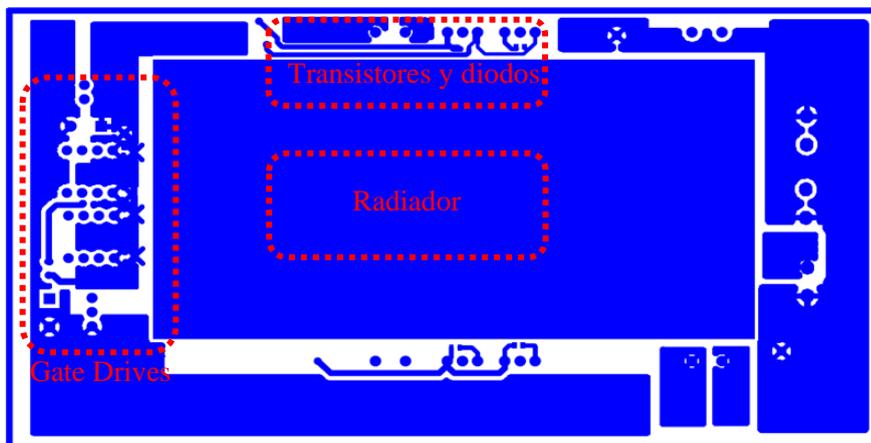


Figura 32: Layout Transistor MOSFET canal N IRFB 3806PbF - cara TOP

Una vez finalizado el diseño se procedió a la fase de post-procesado y fabricación de la PCB (“printed circuit board”), ensamblado y montaje manual de los componentes. El resultado fue el siguiente donde se pueden observar las tarjetas del Módulo de control, la Fuente de alimentación, el Módulo selector calor-frio y la del Módulo de potencia:

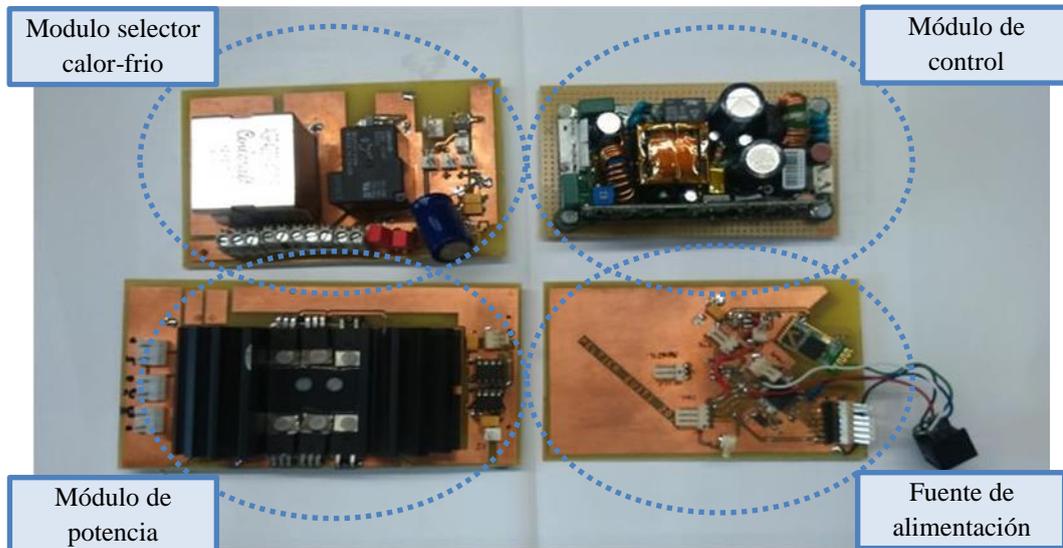


Figura 33: Imagen fotográfica real de las cuatro tarjetas

2.4.2. TESTS DE LAS TARJETAS

Las señales obtenidas de los ensayos realizados con un osciloscopio fueron muy similares a los resultados obtenidos en la simulación en PSIM, por lo que se comprueba que el diseño y su posterior fabricación se han realizado correctamente:

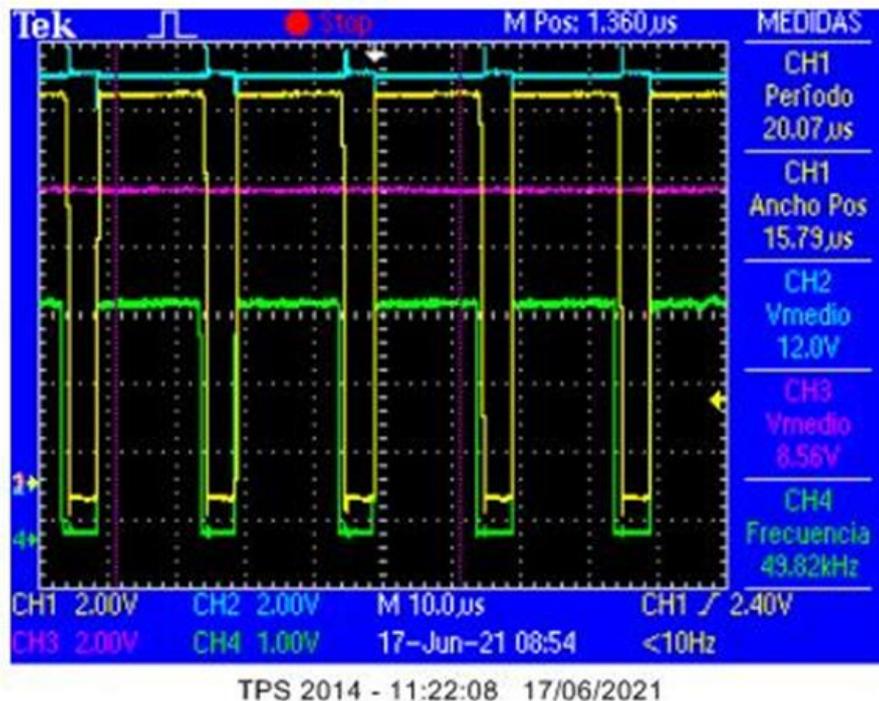
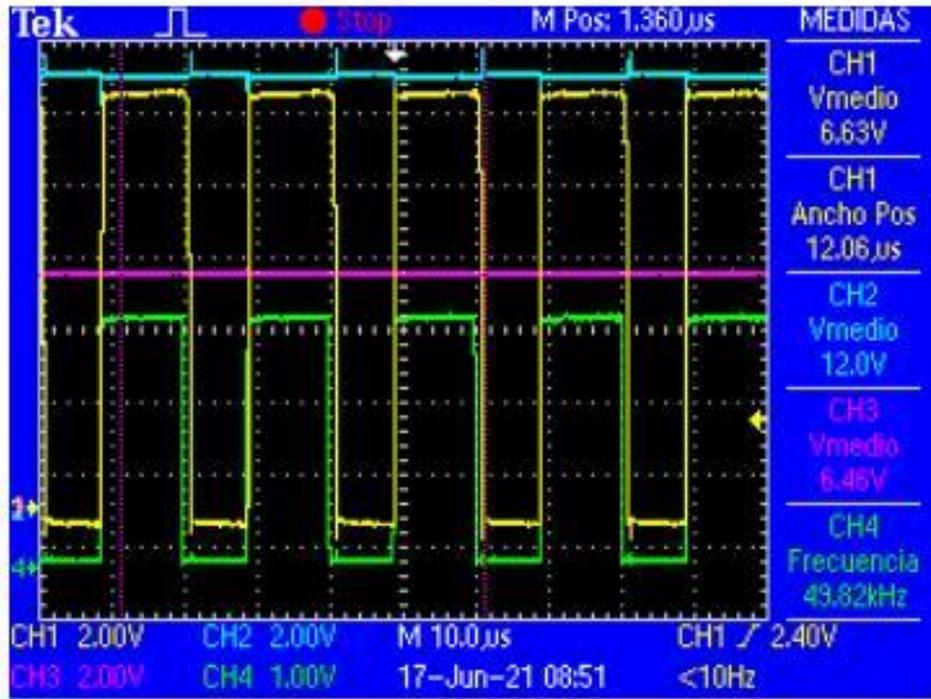
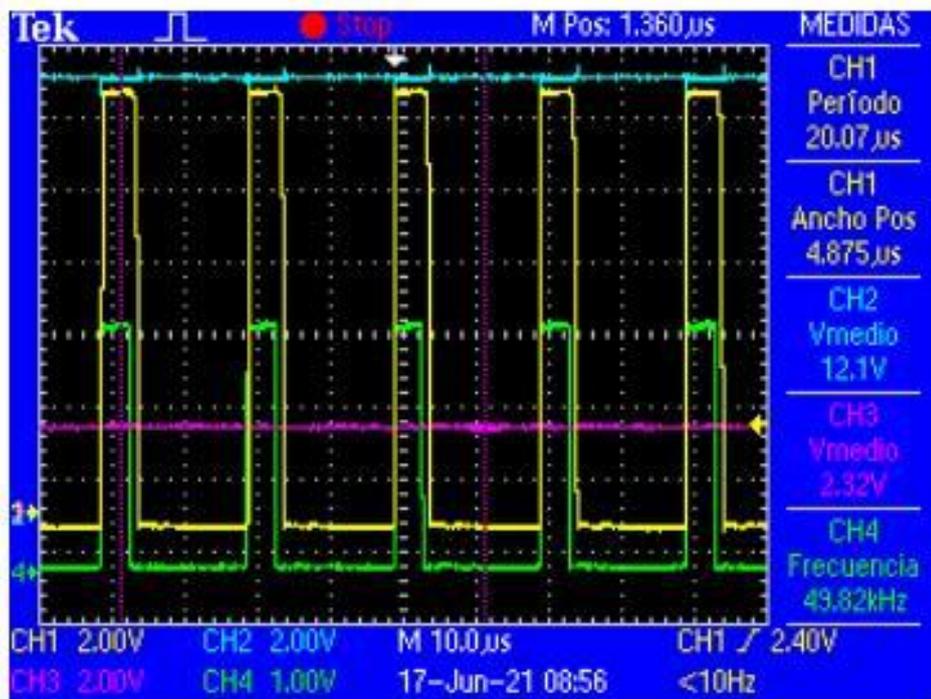


Figura 34: Señal de osciloscopio del duty-cycle al 75% (CH3 Vmedio 8,56v)



TPS 2014 - 11:18:37 17/06/2021

Figura 35: Señal de osciloscopio del duty-cycle al 50% (CH3 Vmedio 6,46v)



TPS 2014 - 11:24:23 17/06/2021

Figura 36: Señal de osciloscopio del duty-cycle al 25% (CH3 Vmedio 2,32v)

2.5. PROGRAMACION DEL MODULO DE CONTROL

La programación se puede diferenciar en dos secciones: La principal, encargada de programar el microcontrolador DSPIC30F4012, y una opcional, que se programa en el PC para comandar el equipo de generación del estímulo térmico doloroso en modo automático mediante el enlace Bluetooth.

2.5.1. PROGRAMACION DEL MICROCONTROLADOR DSPIC30F4012

Para la programación del microcontrolador DSPIC30F4012 se utilizó la herramienta de desarrollo IDE MPLAB (microchip). El programa se editó en lenguaje de alto nivel C. Para ello se empleó el compilador de acceso gratuito C30 versión 3.4. Como paso previo a la escritura del programa, se realizaron los diagramas de flujo que describen el funcionamiento lógico de las operaciones necesarias. La estructura del programa consiste en una primera fase de inicialización o *Set Up* de los módulos internos del microcontrolador, y una segunda fase con un bucle permanente que atiende a los requerimientos del usuario:

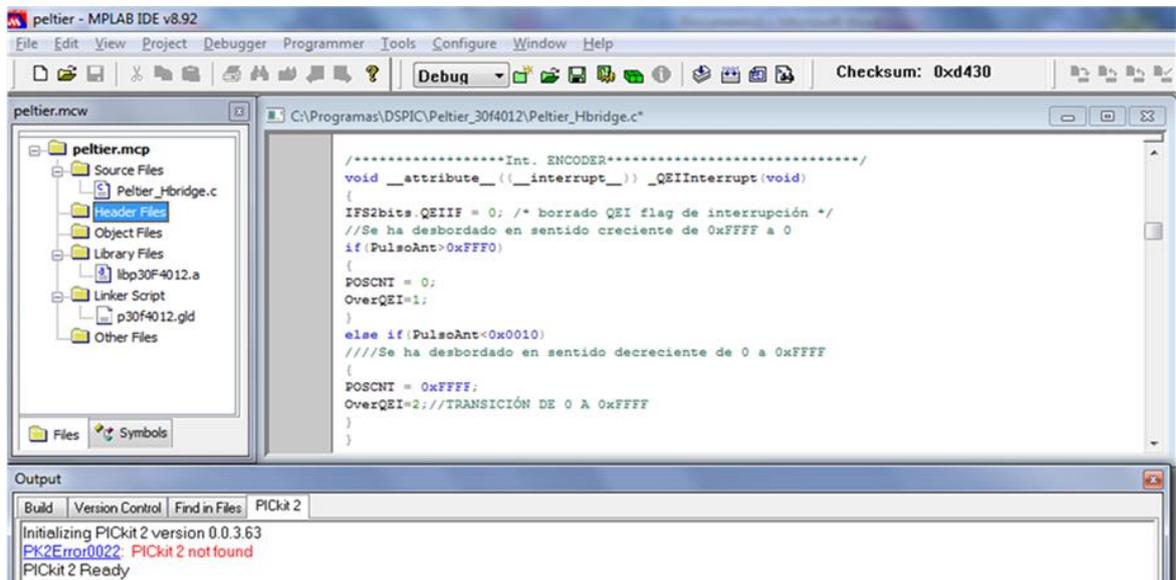


Figura 37: Entorno de trabajo IDE MPLAB 8.92

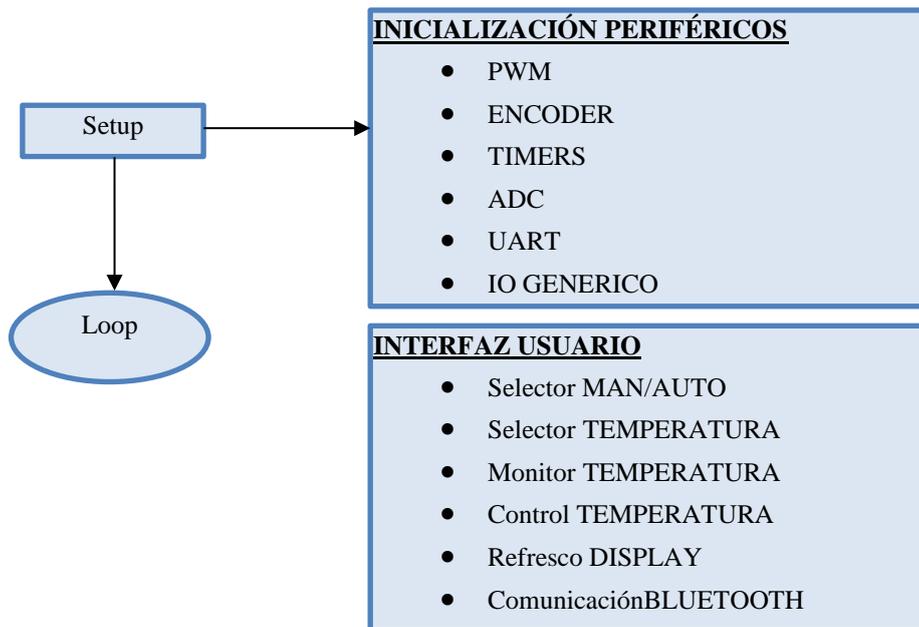


Figura 38: Diagrama de flujo del funcionamiento lógico

A la hora de programar la inicialización de los periféricos, para inicializar y configurar correctamente el PWM se añade la directiva #include <PWM.h> donde se referencian estas funciones, así como los posibles valores de los parámetros a configurar. Además, también se añaden los siguientes “includes”:

```
#include <p30f4012.h> // Tiene todos los registros del microcontrolador accesibles
#include <qei.h> // interfaz del encoder
#include <PWM.h>
#include <adc10.h>
#include <timer.h>
#include <ports.h> //inclusion ficheros de cabecera con las funciones ANSI Standard#include <stdlib.h>
#include <math.h>
```

```
...../
void main(void)
{
  unsigned char c,EstoyenBucle_1,TipoPulso;
  unsigned int r;
  float auxf;

  InitPorts();//Inicialización de los pines de los puertos del microcontrolador
  InitVar();//inicialización de variables diversas
  InitEncoder();//Inicialización del periférico encoder para lectura de la consigna manual de
  temperatura
  EncoderHome();
  InitTim();//Inicialización del timer para generar interrupciones a intervalos fijops de 20
  ms para actualización datos de control
  SetFrio();//Inicialización del PWM por defecto en configuración de frío.
  while(1);//Bucle permanente
  //NOTA: TODAS LAS INICIALIZACIONES DE PERIFÉRICOS TRABAJAN EN BASE A INTERRUPCIONES
  gestionadas por su coirrespondiente ISR (interrupt service routine)
}
.
```

Figura 39: Inicialización de periféricos: Fragmento de código correspondiente al main()

En la siguiente figura, se hace referencia al uso de las APIs para la configuración y arranque del PWM:

```
void InitPWM_Frio()
{
  unsigned int config;
  unsigned int period;
  unsigned int sptime;
  unsigned int config1;
  unsigned int config2;
  unsigned int config3;

  config = (PWM_INT_DIS & PWM_FLTA_DIS_INT & PWM_INT_PR1
  & PWM_FLTA_INT_PRO);
  ConfigIntMCPWM( config );//API para configuración PWM
  period = PWM_per; //762
  sptime = 0x0;
  config1 = (PWM_EN & PWM_OP_SCALE1
  & PWM_IPCLK_SCALE1 & PWM_MOD_FREE);
  config2 = (PWM_MOD1_IND & PWM_MOD2_COMP & PWM_MOD3_COMP & PWM_PDIS1H &
  PWM_PEN2H & PWM_PDIS3H & PWM_PDIS1L & PWM_PEN2L & PWM_PDIS3L);
  config3 = (PWM_SEVOPS1 & PWM_OSYNC_PWM & PWM_UEN);
  OpenMCPWM(period, 0, config1, config2, config3);//API para arranque del PWM
  PWM_MOS_HOT=0;//NMOS CALOR OFF
  SetDCMCPWM(CANALPWM_COLD, dutycycle, 0);//API para escritura valor dutycycle
}
```

Figura 40: Fragmento de código correspondiente a la inicialización del periférico PWN

En la siguiente figura, se muestra la función que actualiza los valores del PWM:

```

/*****
void __attribute__((__interrupt__)) _PWMIInterrupt(void)
{
IFS2bits.PWMIF = 0;
GetPWM();//Llamada a la función que actualiza los valores del PWM
}**//fin interrupción PWM
*****/

```

Figura 41: Cálculo y actualización del PWM

En la siguiente figura, se muestra la interrupción asociada al PWM, es decir, la función que calcula el PWM y hace una función integral proporcional (PI). Además, obtiene y actualiza el dutycycle:

```

////////////////////////////////////
void CalcDuty()
{
int Yp, Yi;

ErrorSP=setpoint-Canal_temp;//Cálculo del error
if (EstadoAuto==FASEFRIC)
Yp=Kp_Fric*ErrorSP;//Salida control Parte proporcional
else
Yp=Kp*ErrorSP;
if (EstadoAuto==FASEFRIC)
auxf=auxf+Ki_Fric*(float)ErrorSP;//Parte Integral
else
auxf=auxf+Ki*(float)ErrorSP;
if (auxf>(PWMPERIODC+PWMPERIODC))
auxf=PWMPERIODC+PWMPERIODC;
if (auxf<2)
auxf=2;
Yi=(int)auxf;
//Resultado dutycycle a insertar en el PWM a través de la función
//SetDCMCPWM(CANALPWM_COLD, dutycycle, 0);
dutycycle=Yi+Yp;
//Límites superior e inferior
if (dutycycle>PWM_DC_MAX)
dutycycle=PWMPERIODC+PWMPERIODC;
if (dutycycle<PWM_DC_MIN)
dutycycle=0;
}

```

Figura 42: Rutina de interrupción del PWM

En la siguiente figura, se muestra la programación relativa a la lectura de la temperatura:

```

void LeeAnalog_Temp()
{
//lectura canal1 temperatura
ADCHS = 0x0001; //Connect RB1 on AN1 as CH0 input
ADCON1bits.SAMP = 1; //set SAMP de forma manual escribiendo en el registro de control
while(!ADCON1bits.SAMP);//Espera a confirmación set
ConvertADC10();//API de conversión
while(ADCON1bits.SAMP);//Espera a confirmación rset
while(BusyADC10());//Entonces espera a bit DONE=1(mientras done 0 esperar)
Canal_temp=ReadADC10(0);//se lee del canal AN_1 en pin RB1
}

```

Figura 43: Lectura del sensor analógico de temperatura

2.5.2. PROGRAMACIÓN DEL INTERFAZ DE CONTROL DEL GENERADOR DE ESTÍMULOS

A continuación, se puede observar el panel de control y monitorización del generador de estímulos térmicos dolorosos. Los elementos que lo componen son:

- Conexión** al equipo mediante **bluetooth** asignando un puerto com virtual al dispositivo.
- Configuración y control**: Se compone de un primer cuadro con dos botones de lógica exclusiva para la selección de proceso frío/calor, y un segundo cuadro con las fases del proceso que se suceden de modo secuencial activadas por la pulsación de un botón de comando. Cada vez que se pulsa el botón se envía un nuevo comando al equipo para que avance una etapa en el proceso del experimento.
- Ventanas de visualización** datos “raw data” de temperatura y “Duty-Cycle” transferidos por el dispositivo y que sirven para hacer seguimiento de los parámetros utilizados por el equipo.
- Botón de stop** para parada inmediata del ensayo.
- Ventana principal de plotado** para visualizar los datos de temperatura registrados.

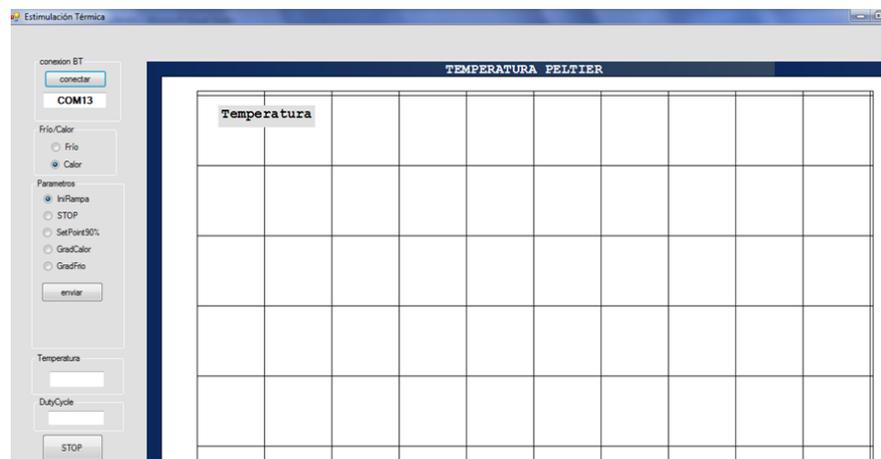
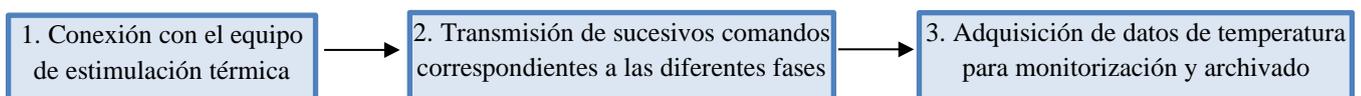


Figura 44: Panel control y monitorización del generador de estímulos

La aplicación se ha realizado en Visual Studio 2017 utilizando el lenguaje de programación C# orientado a clases y objetos. El “workflow” de la aplicación es muy sencillo:



```
private void serialPort1_DataReceived(object sender, System.IO.Ports.SerialDataReceivedEventArgs e)
{
    int i=0;
    try
    {
        numerobytes = serialPort1.BytesToRead;
        serialPort1.Read(recibir_datos, 0, numerobytes);
        if (numerobytes > 0)
        {
            for (i = 0; i < numerobytes; i++)
            {
                procesar_datos[Indice_BufferByte] = recibir_datos[i];
                Indice_BufferByte++;
            }
            Datorecibido = true;
        }
    }
    catch
    {
    }
}
```

Figura 45: Fragmento de código donde se recoge el evento de recepción de muestras por el enlace serie asignado a la interfaz bluetooth.

3. SET UP COMPLETO E INTEGRADO: ESTIMULACIÓN CON CALOR

Siguiendo trabajos previos [60]–[62], se ha diseñado un nuevo dispositivo de hardware compacto que genera estímulos térmicos bien controlados utilizando una célula Peltier controlada por computadora y que junto al resto del *Set Up* es posible medir las respuestas sistémicas del sistema nervioso periférico (SNP), como la percepción del dolor, al aumentar progresivamente la temperatura de una célula Peltier en contacto por con la mano del sujeto. El *Set Up* completo ha permitido recoger muestras del registro simultáneo de la dinámica del cerebro y del corazón mediante la medición de electroencefalografía (EEG) y fotopletismografía (PPG), respectivamente.

3.1. PARTICIPANTES Y CONSIDERACIONES ÉTICAS

El estudio se realizó en 35 voluntarios sanos (20 hombres; 15 mujeres) siempre por parte de la misma evaluadora, reclutados en la Universidad del País Vasco y con una edad media de 30,46 años (DE 4,93 años). Todos los participantes dieron su consentimiento informado firmado y el estudio fue aprobado por el Comité Ético de la Universidad del País Vasco (código de proyecto 2017/092). Los datos fueron adquiridos de acuerdo con las pautas establecidas por El Comité de Ética de la Universidad y los Principios Éticos para la Investigación Médica en Seres Humanos establecidos en la Declaración de Helsinki.

Los criterios de inclusión fueron tener entre 20 y 40 años y haber otorgado consentimiento informado firmado. Se eligió el intervalo de edad de 20 a 40 años por dos razones principales:

1. Para controlar el efecto de la edad y, por lo tanto, eliminar poblaciones pediátricas o de edad avanzada.
2. Por recomendaciones del comité de ética ya que este estudio reclutó participantes en el ámbito universitario, dominando este intervalo de edad.

Los criterios de exclusión fueron cualquier enfermedad diagnosticada, uso de medicamentos o consumo de drogas en el mes anterior a la prueba, la negativa del voluntario a participar en el estudio o el consumo de bebidas energéticas inmediatamente antes de la prueba.

3.2. CAPTURA Y LIMPIEZA DE SEÑALES FISIOLÓGICAS

Antes de comenzar los experimentos, los sujetos se sentaron cerca de una mesa con una computadora encima, escuchando música relajante para que los experimentos comenzaran en un estado tranquilo. Para minimizar los artefactos de parpadeo, se pidió a todos los sujetos que permanecieran en silencio con los ojos cerrados y que permanecieran quietos sin cruzar las piernas durante todo el experimento. Además, se controlaron las condiciones ambientales del laboratorio (temperatura y humedad) de forma que no supusieran un factor diferenciador entre sesiones.

Como se puede observar en la siguiente figura, las variables fisiológicas capturadas fueron las señales de EEG de ambos hemisferios cerebrales y las señales de PPG de la mano contralateral a la que está siendo calentada por la célula de Peltier:

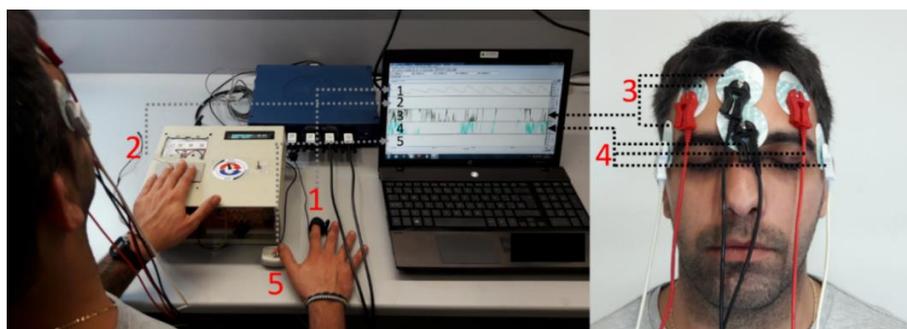


Figura 46: Sistema completo de captación y visualización de señales fisiológicas para estudios de percepción del dolor.

En la figura se puede observar, por un lado, el BioPac™ (sistema flexible y modular dedicado a recoger múltiples datos fisiológicos a tiempo real y que es utilizado tanto para fines educativos como para la investigación biomédica), y por otro, el equipo de generación de estímulos conectado a un equipo portátil donde se visualiza el programa AcqKnowledge® (sistema software nativo de Biopac™ que registra, analiza y filtra los datos en tiempo real) mostrando las señales recogidas por los sensores de PPG, temperatura y EEG así como la referencia introducida por un botón que introduce marcas representativas del punto cercano al umbral del dolor. El sensor PPG (1) es ajustado a la tercera falange de la mano derecha del sujeto, mientras la mano izquierda es colocada en la placa Peltier que gradual y controladamente incrementa su temperatura (2). Los electrodos para la detección de la señal EEG (3,4) se colocan en ambos hemisferios de la frente. Por último, el botón que señaliza el punto cercano al umbral del termoalgésico (5) es colocado para su activación por la mano derecha.

Las señales EEG se obtuvieron a través de seis electrodos situados de acuerdo con la Nomenclatura Combinatoria Modificada por Posición de Electrodos [63], dos en un hemisferio cerebral, otros dos en el otro hemisferio y dos más como puntos de referencia. Los electrodos utilizados fueron del tipo gel de plata/cloruro de plata. Los electrodos de EEG se ubicaron en la frente mediante un arreglo bipolar, midiendo los voltajes diferenciados entre los electrodos FP1 (Frontal Pole) y AF7 (Anterior Frontal) en uno de los canales, y entre los puntos simétricos FP2 y AF8 en el segundo canal. Para los electrodos de referencia, el primer canal utiliza un electrodo en la posición central frontal inferior, mientras que el segundo canal utiliza la posición central frontal superior. Se empleó una distribución diferencial con puntos de referencia separados pero análogos, de modo que las lecturas de los hemisferios izquierdo y derecho son en gran medida comparables. La ubicación de los electrodos de EEG en las posiciones frontales garantiza una mayor amplitud e integridad de las señales adquiridas, lo que resulta en una menor impedancia de la interfaz electrodo-piel. Además, las ubicaciones prefrontales del EEG podrían modular la respuesta autonómica relacionada con el dolor [64].

La señal PPG se adquirió colocando un transductor en la punta del dedo índice, que consiste en un emisor de infrarrojos emparejado y un detector de fotodiodo que transmite los cambios en la reflectancia infrarroja resultantes de la variación en el flujo sanguíneo. Si bien el significado fisiológico de PPG no está claro, ya que se ve afectado por múltiples mecanismos, como la sensibilidad barorrefleja, la presión arterial y la vasodilatación/constricción, en este estudio utilizamos esta señal como indicador de la respuesta hemodinámica. Cuando el transductor PPG se coloca sobre la piel, cerca de los capilares, la reflectancia de la luz infrarroja del emisor al detector cambiará de acuerdo con el volumen de sangre capilar, lo que permitirá registrar la forma de onda del pulso del volumen de sangre. Es importante señalar que la señal PPG es una alternativa eficiente e interesante para medir los intervalos de latidos, ya que es más simple que el electrocardiograma y logra una medición precisa de la variabilidad de la frecuencia cardíaca [65].

Todas las señales se filtraron con un filtro Notch de paso bajo de 38,5 Hz incorporado en los módulos amplificadores en serie de BioPac, eliminando así la interferencia de la red de 50 Hz. Se obtuvieron y filtraron dos señales diferenciadas (FP1 menos AF7 y FP2 menos AF8) utilizando un algoritmo reciente basado en datos que elimina los artefactos oculares y musculares de los datos de un solo canal, denominado método de eliminación de artefactos basados en sustitutos (SuBAR) [66]. El algoritmo realiza brevemente:

1. Puntuación Z de los datos;
2. Transformada Wavelet de Superposición Máxima (MODWT) de los datos, utilizando symlets de orden 5 y con 5 niveles de descomposición;
3. Eliminación de artefactos, definida como los valores de los coeficientes wavelet que son atípicos en relación con la distribución de los valores obtenidos de los sustitutos de datos (para identificar los atípicos, consideramos un nivel de significancia del 5% y los coeficientes atípicos se eliminaron sustituyendo sus valores con los coeficientes medios obtenidos de los sustitutos);
4. Reconstrucción de la señal en el dominio del tiempo utilizando el MODWT inverso y los coeficientes limpios.

3.3. SIMULACIÓN DEL PROTOCOLO

Hay dos elementos principales en el sistema de captura de datos, el BioPac y el equipo para generar el estímulo conectado a una unidad portátil. El programa Acq- Knowledge muestra las señales recibidas del sensor PPG, la temperatura del sensor y el

EEG, así como los puntos de referencia insertados por un pulsador para marcar el punto de calor cuando se alcanza el umbral del dolor, la temperatura máxima que el sujeto puede soportar en términos de exposición al dolor por calor.

La estimulación del dolor se divide en cuatro regiones distintas, la primera dura 2 minutos en ausencia de cualquier estimulación nociceptiva para definir la condición sin dolor. El segundo se enfoca en calcular el umbral de dolor por calor (HPT) de x min, que fue diferente para cada participante. Esta fase se logró aumentando la temperatura en incrementos de $0,5$ °C hasta el HPT, la temperatura máxima que soportaba el sujeto. Después de un período de descanso de 3 min, se logró un régimen final para definir la condición de dolor a la temperatura equivalente al 90% del HPT, con una duración de 2 min.

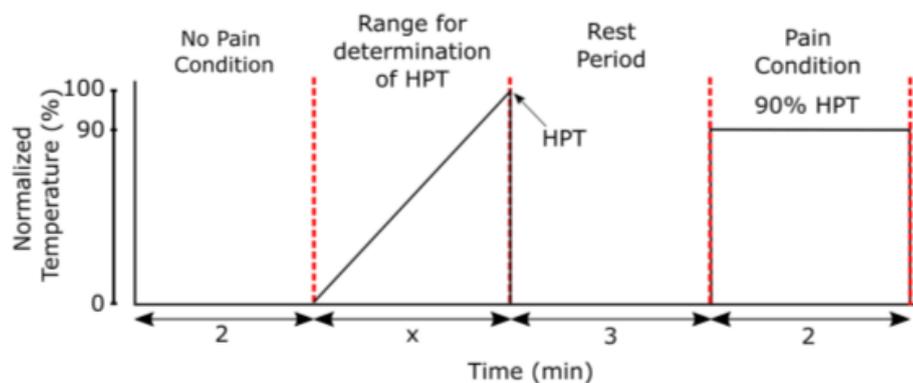


Figura 47: Fases de la simulación

La condición sin dolor (control) se obtuvo en ausencia total de estimulación nociceptiva, midiendo las señales electrofisiológicas mientras se mantenía la mano del participante fuera de la celda de Peltier. Esta condición persistió durante dos minutos. Las señales se registraron durante otros dos o tres minutos para estimar el umbral de dolor por calor (HPT) [67]. Este se calculó mientras el participante colocaba una mano sobre la celda Peltier, registrando las variables mediante el BioPac y aumentando progresivamente la temperatura de la celda de forma controlada, variando en incrementos de $0,5$ °C hasta la temperatura máxima que soportaba el participante, la HPT. Este valor dependía del sujeto.

La estrategia de aumentar progresivamente la temperatura fue crítica en estos experimentos y se realizó de esta manera para lograr la activación dual de los receptores C responsables de la detección de calor y los receptores de fibra A δ que procesan estímulos nocivos [54], [68]. Se obtuvo un registro de 2 minutos durante el estímulo del dolor, definido a una temperatura igual al 90% del HPT y escogida así la máxima posible sin exceder las recomendaciones del Comité Ético. Todos los valores de temperatura se transformaron a valores relativos al HPT y esta normalización permite un análisis comparativo entre sujetos. El estudio solo incluyó un experimento por sujeto.

3.4. ENTROPÍA ESPECTRAL PARA DETECTAR LA PERCEPCIÓN DEL DOLOR

La SE es una generalización de la entropía de Shannon, donde la probabilidad de $p(x)$ se reemplaza por una densidad espectral de potencia normalizada $p(f)$, que representa la función de densidad de probabilidad de la potencia en función de la frecuencia. Aquí, la potencia SE se calculó a través del cuadrado absoluto de la Transformada Rápida de Fourier, calculada con la función `fft` en MATLAB. Después de la normalización, se obtuvo $p(f)$ y, a partir de ahí, la entropía espectral unidimensional se calculó individualmente a las tres señales (EEG1 (hemisferio izquierdo), EEG2 (hemisferio derecho) y PPG) como:

$$SE1 = - \sum_f p(f) \log p(f)$$

Ecuación 1: Entropía espectral unidimensional

Para la SE bidimensional se hizo uso de la transformación bidimensional *Fast Fourier fft2* en MATLAB, y después de la normalización, se definió y aplicó al triplete de variables EEG1, EEG2 y PPG:

$$SE2 = - \sum_{f_1} \sum_{f_2} p(f_1, f_2) \log p(f_1, f_2)$$

Ecuación 2: Entropía espectral bidimensional

Aquí, tanto SE1 como SE2 se calcularon en un 80 % de ventanas superpuestas de 5 Hz, y el código se puede descargar en <https://github.com/compneurobilbao/spectral-entropy-maidier>. La elección de entropía espectral está motivada por el hecho de que se sabe que diferentes funciones cerebrales, como la atención, la consolidación de la memoria, el sueño, el procesamiento sensorial, ocurren en bandas de frecuencia de EEG específicas. Con fines comparativos, también se utilizaron dos conocidas entropías en el dominio del tiempo, como la entropía de permutación y la entropía de muestra multiescala [69]–[72].

3.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Tanto para SE1 como para SE2, se calcularon la FFT utilizando la función de ventana de Blackman (implementada como *blackman* en Matlab) en ventanas de tiempo de 500 puntos de tiempo y con una frecuencia de muestreo de 500 Hz, correspondiente a 1 segundo. Tras deslizar la ventana de tiempo, se obtuvo una serie de tiempo para SE1 y SE2, representando esta última una secuencia temporal de las matrices SE2. Para cada valor de frecuencia, los valores finales de SE1 y SE2 se obtuvieron promediando todos los valores de entropía en la dimensión temporal. Estos valores medios temporales de SE1 y SE2 fueron los que se utilizaron para la comparación estadística entre las condiciones de dolor y no-dolor.

La discriminabilidad entre condiciones se calculó como $D \equiv \log_{10}(pvalue)$, siguiendo las siguientes cuatro etapas:

1. Se calcularon las series de tiempo SE1 y SE2 para cada condición y sujeto
2. Se promediaron las dos métricas en toda la dimensión temporal.
3. Se empleó un test de Wilcoxon signed-rank entre las condiciones, con las diferentes medidas del sujeto consideradas como observaciones. Esta prueba no paramétrica elegida para la comparación es válida para el caso de datos distribuidos no gaussianos.
4. Y por último, para corregir las comparaciones múltiples, se aplicó una tasa de descubrimiento falso (FDR) y correcciones de Bonferroni, esta última utilizando un umbral de significancia igual a $p^* = \frac{0.05}{F}$, donde F corresponde al número de frecuencias diferentes utilizadas para comparar el SE (40 EEG y 10 para PPG).

Todos los análisis estadísticos se realizaron en MATLAB (versión R2019a, MathWorks Inc., Natick, MA, EE. UU.).

3.6. RESULTADOS

Un grupo de 35 sujetos (N=35) participó en el estudio. Se obtuvo un valor de HPT para cada sujeto estimulado con el nuevo dispositivo, con un HPT medio de 42,68 °C (DE 1,36):

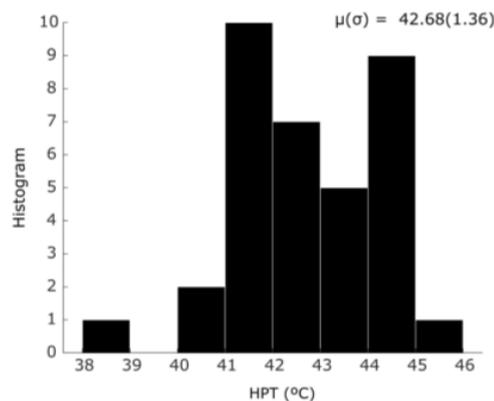


Figura 48: Histograma HPT de todos los participantes, indicando la media μ y la desviación estándar σ .

Aparentemente, no hubo diferencias significativas de género en el HPT, como se observó cuando el HPT de un subgrupo de hombres (N = 15, edad media 30,04 años: prueba $t = -0,46$, valor $p = 0,64$) se comparó con un grupo de mujeres de la misma edad (N=15, edad media 29,23 años: prueba $t = -0,45$, valor $p = 0,63$). Este resultado fue consistente con estudios previos que no mostraron diferencias en un rango de edad similar al escogido en este estudio [73]. Es importante destacar que la normalización de los valores de temperatura al HPT permitió que las dos condiciones de dolor y no-dolor se definieran independientemente del participante, haciendo que las diferentes métricas entre participantes y condiciones fueran comparables.

Los valores de SE obtenidos a partir de las diferentes señales fisiológicas entre las condiciones de dolor y no-dolor se compararon siguiendo el procedimiento explicado en la siguiente figura:

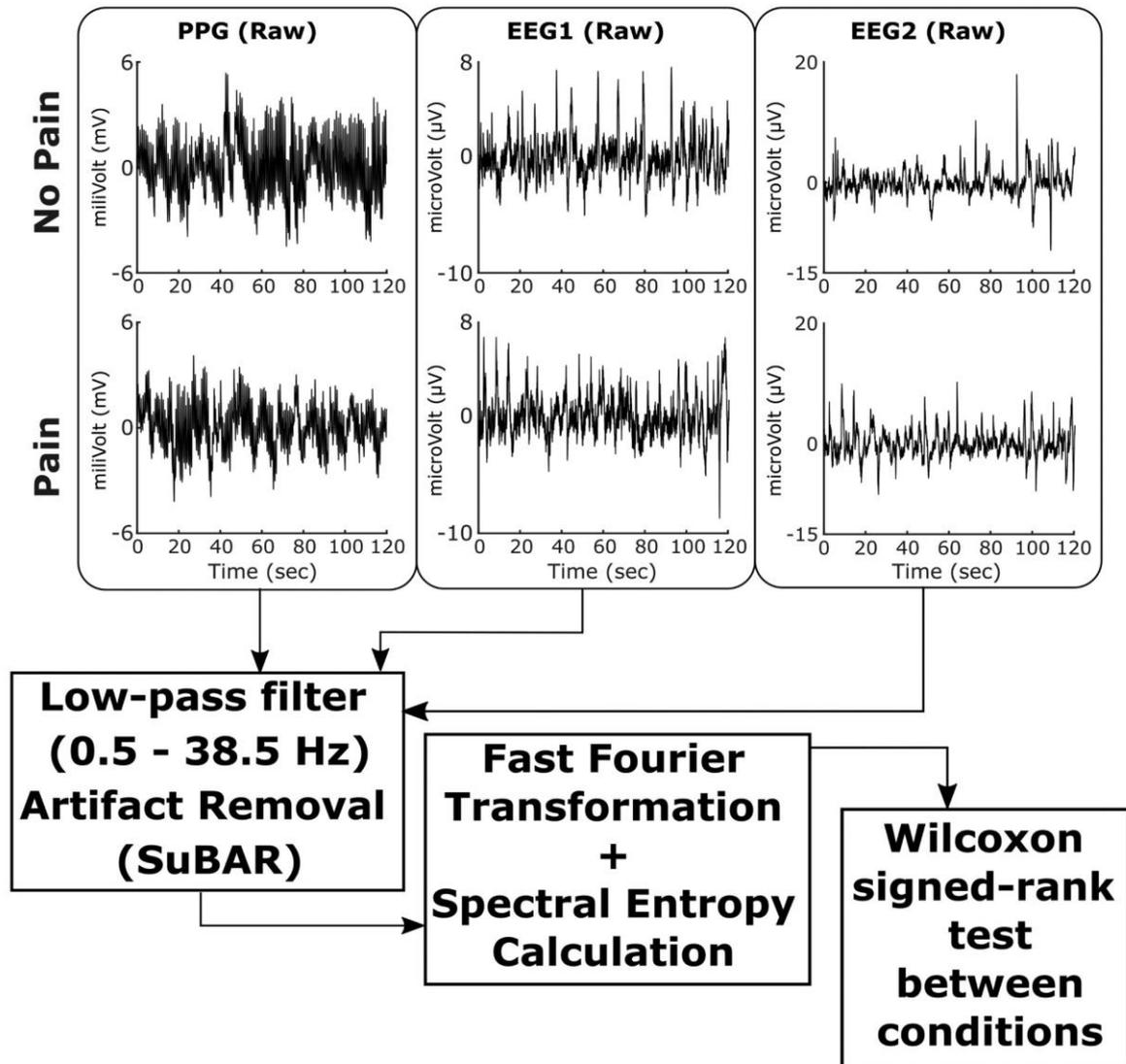


Figura 49: Flujo de trabajo de procesamiento de señales y análisis estadístico.

Para el análisis, primero se separaron las señales pertenecientes a las diferentes condiciones, dolor o no-dolor, aplicando un filtro paso banda y de eliminación de artefactos a cada señal. A continuación, se utilizó la función *fft* de MATLAB para calcular el espectro de potencia, que se utilizó para evaluar la entropía espectral (SE) en diferentes bandas de frecuencia y con ventanas de frecuencia de 5 Hz. Finalmente, se comparó la SE en diferentes condiciones, en diferentes rangos de frecuencia y entre diferentes participantes.

La significancia estadística de todas las comparaciones posibles se evaluó con la discriminabilidad (D) obtenida de los p-valores después de realizar un test de Wilcoxon signed-rank en los datos de las diferentes condiciones. Para cada señal y condición, SE1 se calculó sobre toda la serie temporal. Luego se tomó el promedio temporal y se compararon los valores medios resultantes de SE1 entre las dos condiciones. Las frecuencias van de 1 a 40 Hz para el EEG y de 1 a 10 Hz para el PPG. Para cada valor de frecuencia en el eje x, SE1 se calculó dentro de una ventana de 5 Hz. Así, para el valor de 1 Hz en el eje x, la entropía se calculó en el rango de 1 a 6 Hz y de manera similar, para un valor de 2 Hz está en el rango de 2 a 7 Hz.

Inicialmente, se calculó la serie temporal SE1 para cada condición y participante, y luego se calcularon los promedios temporales. Estos valores se compararon entre condiciones y entre los diferentes sujetos, representando el valor de D en función de las diferentes frecuencias sobre las que se realizaron las comparaciones, es decir, en el rango de 1 a 40 Hz para el EEG y de 1 a 10 Hz para el PPG. Como se explica anteriormente, SE1 se calculó dentro de una ventana de 5 Hz de tamaño para cada valor de frecuencia en el eje x. Así, la entropía se calculó en el rango de 1 a 6 Hz para el valor de 1 Hz en el eje x, y en el rango de 2 a 7 Hz para el valor de 2, etc. Debido a que el EEG y el PPG tenían diferentes límites superiores a lo largo del eje x, el umbral de significancia de Bonferroni también difirió para las dos modalidades, ya que F fue igual a 40 para el EEG y 10 para el PPG.

Como se puede observar en la siguiente imagen, SE1 es capaz de discriminar la condición de dolor para los tres conjuntos de datos sensoriales, EEG1 (línea morada), EEG2 (línea amarilla) y PPG (línea verde), con la mayor discriminabilidad encontrada a 25–30 Hz para el EEG y a 5–10 Hz para el PPG. Además, la región FDR y la importancia de la corrección de Bonferroni están marcadas por rectángulos grises claros y oscuros, respectivamente:

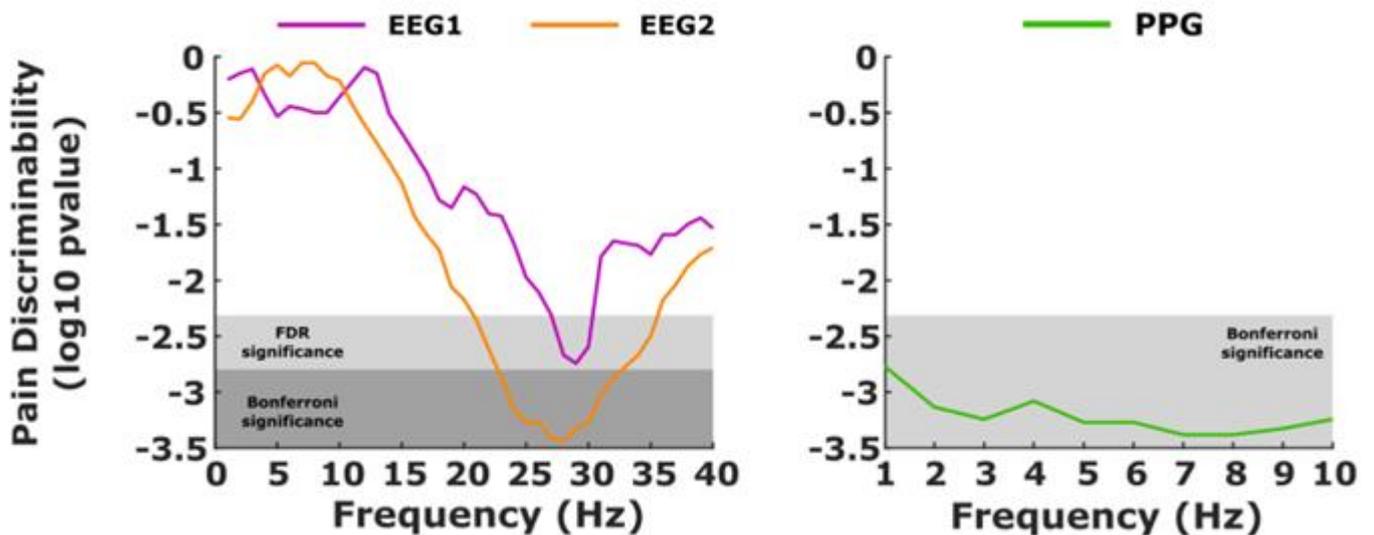


Figura 50: Discriminabilidad en función de las diferentes frecuencias sobre las que se compararon las condiciones para los valores de SE1 utilizando un test de Wilcoxon signed-rank.

Por otro lado, como se puede observar en los tres gráficos izquierdos de la siguiente imagen, la evolución de SE1 en el tiempo se obtuvo a partir de las tres señales durante 20 segundos, que correspondieron a 10000 puntos de tiempo para una frecuencia de muestreo de 500 HZ. Después de tomar el promedio temporal de SE1, la entropía media entre los participantes proporcionó diferencias significativas entre las condiciones, como se ilustra en la columna derecha de la siguiente imagen. Los valores de máxima discriminabilidad de SE1 para las tres clases de señales EEG1, EEG2 y PPG se alcanzaron a 29 Hz ($p < 10^{-2}$), 28 Hz ($p < 10^{-3}$) y 7 Hz ($p < 10^{-3}$), respectivamente. Los rectángulos grises dentro de los violines representan el primer y tercer cuartil, y el punto blanco dentro de esos rectángulos representa la mediana de las distribuciones: *** indica $p < 0,005$.

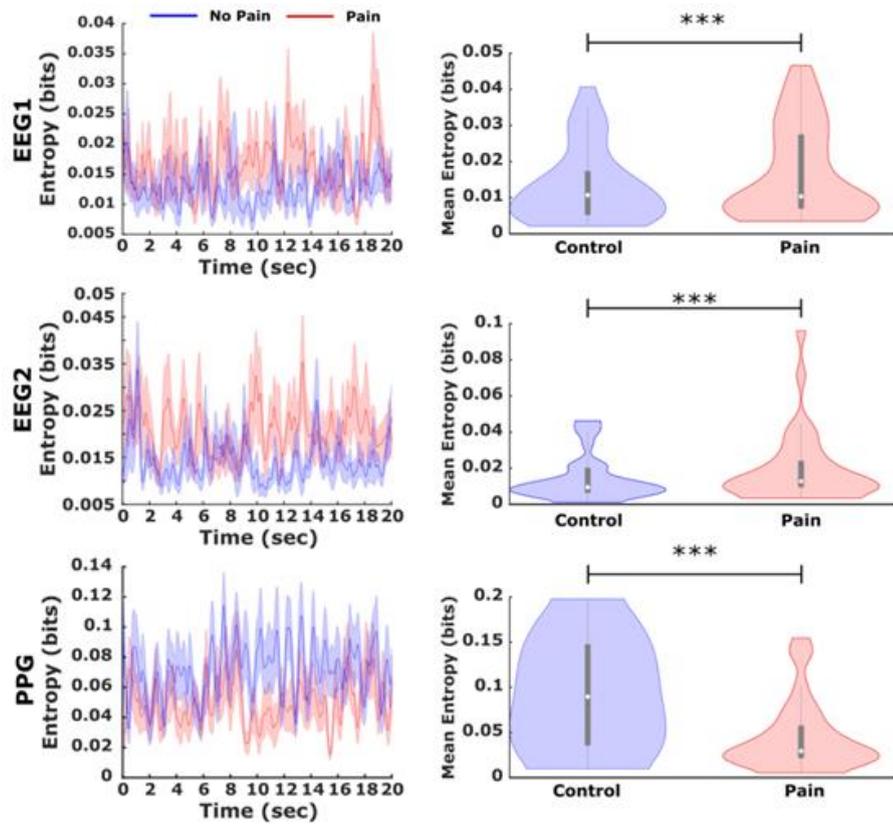


Figura 51: SE1 en función del tiempo para valores de frecuencia fijos durante 20 seg y la comparación de las condiciones

Llama la atención el filtrado de banda de frecuencia de la señal para la discriminación de la estimulación dolorosa vs la de control. Al evaluar la discriminación utilizando entropías en el dominio del tiempo sin señales filtradas, ni la entropía de permutación ni la entropía de muestra multiescala proporcionaron diferencias de condición significativas. Sin embargo, al calcular estas métricas en el dominio del tiempo para la señal del filtro de ventana, tanto el EEG como el PPG encontraron diferencias significativas (EEG1, frecuencia en 25-30 Hz, $p = 0,036$; PPG, frecuencia en 1-10 Hz, $p = 0,001$).

Por último, también se evaluó la discriminabilidad entre las condiciones por entropía espectral en 2D, en diferentes frecuencias para los pares de señales (EEG1, EEG2), (EEG1, PPG) y (EEG2, PPG), así como en diferentes rangos de frecuencia.

Como se puede observar en la siguiente imagen, y al igual que con SE1, SE2 también se calculó en ventanas cuadradas de tamaño $5 \times 5 \text{ Hz}^2$. Ninguna de las comparaciones de SE2 sobrevivió a la corrección de Bonferroni o al FDR y, por lo tanto, solo se informa aquí de los p-valores no corregidos. Los valores de máxima discriminabilidad y los p-valores asociados ocurrieron a (2,5) Hz para (PPG, EEG1: $p < 10^{-2}$) y a (33,31) Hz para (EEG1, EEG2: $p \approx 0,01$), sin embargo, no fueron significativos para PPG, EEG2 ($p = 0,05$).

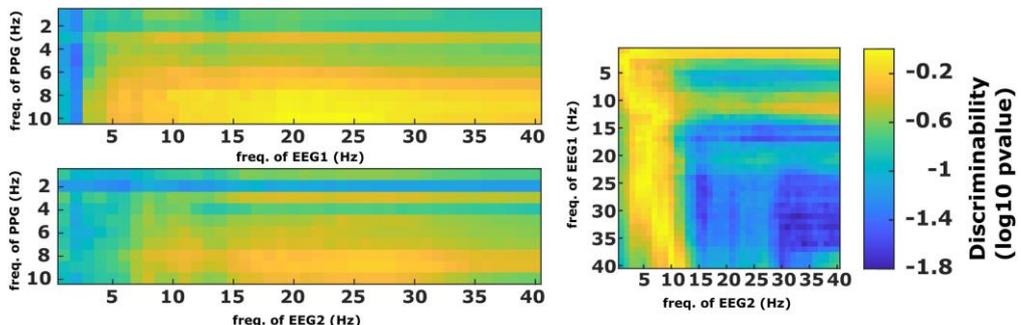


Figura 52: Discriminabilidad de las condiciones de dolor y no dolor por entropía espectral 2D

4. SEGUNDA GENERACIÓN DEL SET UP: ESTIMULACIÓN CON FRÍO

En paralelo a los análisis de los resultados satisfactorios aportados por la primera generación del *Set Up*, se decidió seguir avanzando en el desarrollo SW/HW y realizar diversas mejoras en el generador de estímulos nociceptivos, así como en la metodología del experimento. La mejora principal del último periodo de esta tesis, fue la incorporación de los estímulos nociceptivos provocados por la bajada de temperatura de las placas Peltier, funcionalidad que si bien ya está disponible en otros dispositivos QST, estos habitualmente superan los 15.000€, frente a los menos de 1000€ que vale actualmente fabricar el dispositivo diseñado y fabricado en este estudio [74]. Más adelante en este capítulo, se presentan unos resultados piloto que complementan los ya obtenidos en fases anteriores.

4.1. MEJORAS REALIZADAS EN EL GENERADOR DE ESTÍMULOS

Como se explica en capítulos anteriores, las placas Peltier tienen la desventaja de requerir grandes corrientes para funcionar. Para calentar una placa Peltier se requiere de menos esfuerzo y tecnología auxiliar que para enfriarla, porque la disipación en forma de calor de la energía consumida por la placa hará que la temperatura de la placa se eleve rápidamente.

Para poder estudiar los umbrales termoalérgicos en calor y/o frío, y tras numerosas pruebas, se realizaron diversas mejoras a nivel de hardware. Por un lado, han sido precisas unas placas Peltier más potentes, donde se ha aumentado la potencia máxima de 8w a 13w. De esta manera, se ha permitido un enfriamiento más eficiente y ágil, y además, evitar el efecto contraproducente del calor que la mano del participante aporta al estar en contacto con las mismas.

Por otro lado, para enfriar de manera eficiente una placa Peltier se debe eliminar al máximo el calor generado en la cara caliente, por lo que se debe instalar un sistema de disipación. Por ello, se ha configurado e instalado una placa Peltier secundaria que enfría la principal, y así disipar el calor que la principal desprende cuando en la estimulación en frío, intenta bajar de temperatura y no lo consigue. Esto ocurría, por ejemplo, por el calor retenido en el equipo y el esfuerzo realizado al haber calentado la placa previamente, o incluso por una temperatura corporal del participante o una temperatura ambiental más altas de lo habitual. En consecuencia, ha sido necesario añadir otra fuente de alimentación extra para poder alimentar ambas placas, la principal y la secundaria.

Además, y dado que se requería de más espacio para albergar las nuevas incorporaciones al estimulador, se ha realizado una migración de las placas y circuitos electrónicos a una carcasa más robusta y moderna. Aprovechando el espacio disponible, y dado que la disipación del calor es un factor clave para el buen funcionamiento del equipo en la fase de enfriamiento, se han añadido 3 ventiladores extras.

Por último, se han deshabilitado temporalmente el interruptor y la ruleta, porque el cambio de temperatura manual no se utiliza en las recogidas de muestras y podría cambiarse a modo manual en un descuido al operar con el equipo. A continuación, se muestran algunas imágenes del nuevo generador de estímulos:



Figura 53: Nuevo generador de estímulos

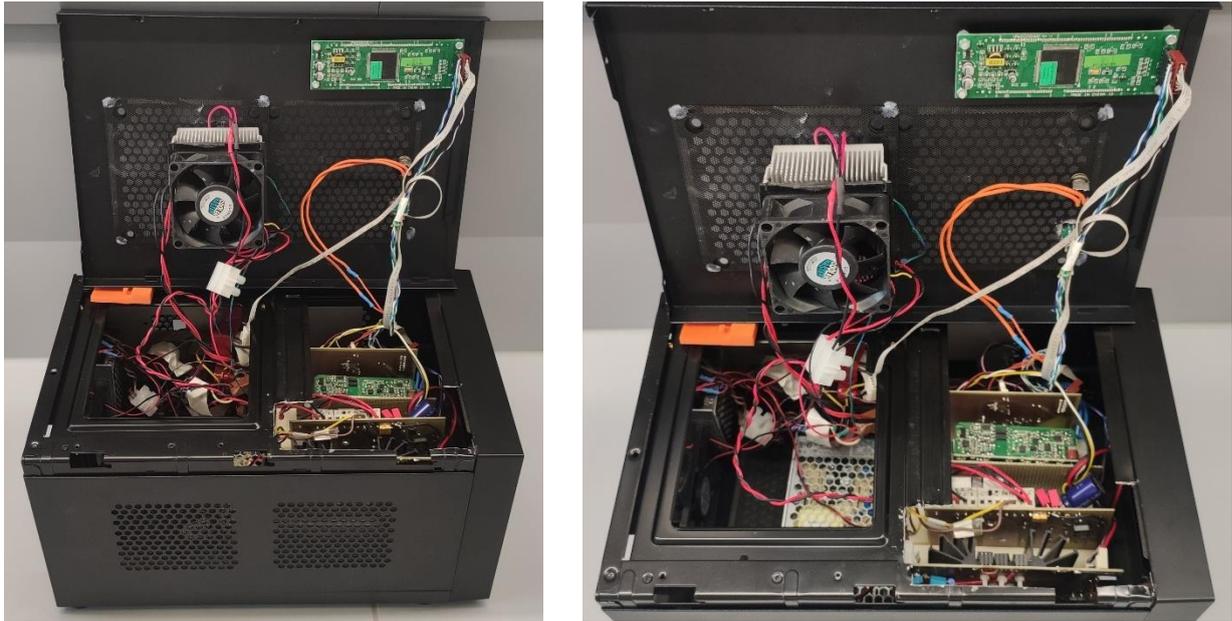


Figura 54: Interior del nuevo generador de estímulos

4.2. MEJORAS REALIZADAS EN LA RECOGIDA DE LAS SEÑALES FISIOLÓGICAS

Por un lado, se ha modificado la frecuencia de muestreo de la señal de EEG de 200 Hz a 500 Hz para un mejor tratamiento y filtrado digital posterior de las señales, y dado que el Biopac solo permite configurar una frecuencia de muestro para todas las variables, las señales de PPG y EDA también han sufrido esta modificación.

Por otro, se ha modificado el filtro paso bajo de 38,5 Hz (filtro configurado por defecto en el equipo) a 250 Hz ya que las señales recogidas en versiones anteriores sufrían un filtrado demasiado restrictivo, que fácilmente se podría aplicar a posteriori si fuera necesario.

4.3. MEJORAS REALIZADAS EN EL MÉTODO DEL EXPERIMENTO

Además de como es obvio, incluir la estimulación en frío entre las muestras a recoger, se han añadido otras mejoras. Por un lado, se ha incluido un paso inicial de prueba donde el participante tiene la oportunidad de conocer la velocidad del cambio de temperatura de las placas con el objetivo de eliminar el factor sorpresa y comenzar el experimento en un mejor estado de relajación.

Por otro lado, se ha ampliado el alcance a la recogida de muestras a ambas manos del participante. De esta manera, se espera poder estudiar la lateralidad motora y la percepción del dolor de manera más amplia, ya que existen múltiples patologías con comportamientos asimétricos entre ambos lados del SNC [75], [76], y en las que además podría haber diferencias según la dominancia cerebral del participante, es decir, diferencias si el participante es zurdo o diestro [77], [78]. Por lo tanto, aunque las fases del experimento siguen siendo las mismas que inicialmente, este se realiza un total de cuatro veces para poder estudiar la estimulación en frío y calor en ambas manos. Además, se han recogido los datos de peso y altura de los participantes ya que el índice de masa corporal (IMC) puede ser un dato relevante en estudios anteriores de la percepción del dolor en disautonomías [79].

Por último, ya que la temperatura de la piel de las extremidades es una medida de la integridad funcional del sistema nervioso autónomo, se ha incluido en el experimento el uso de una cámara termográfica Testo 875 Thermal imager® de forma que se puedan obtener imágenes térmicas infrarrojas de las manos, sobre todo, con el fin de estudiar la velocidad de recuperación de la temperatura basal de la mano ya que existen evidencias de una recuperación más lenta en pacientes con disautonomías [75],

[80]. Para ello, se obtienen fotografías en el estado basal inicial, así como inmediatamente después de los dos minutos de la fase de dolor y cada 30 segundos hasta obtener un mínimo de 5 fotografías.

4.4. PARTICIPANTES

De momento, ya que el estudio sigue en curso, se ha obtenido una muestra de 8 voluntarios sanos (3 hombres; 5 mujeres) reclutados en la Universidad del País Vasco, todos diestros, con una edad media de 35,47 años (DE 3,94 años) y un IMC de 22,98 (DE 3,86). Se espera cuadruplicar la muestra en un futuro cercano.

	Sexo	Edad	IMC
Muestra nº 1	M	34,81	31,89
Muestra nº 2	M	35,99	23,73
Muestra nº 3	M	38,64	21,60
Muestra nº 4	F	33,63	22,66
Muestra nº 5	F	28,30	21,87
Muestra nº 6	F	33,96	20,31
Muestra nº 7	F	36,72	22,49
Muestra nº 8	F	41,73	19,26
Promedio		35,47	22,98
DE		3,94	3,86

Figura 55: Datos de los participantes en la muestra piloto de n=8.

Al igual que en la recogida de muestras anterior, todos los participantes dieron su consentimiento informado firmado y el estudio fue aprobado por el Comité Ético de la Universidad del País Vasco (código de proyecto 2017/092). Los datos fueron adquiridos de acuerdo con las pautas establecidas por El Comité de Ética de la Universidad y los Principios Éticos para la Investigación Médica en Seres Humanos establecidos en la Declaración de Helsinki. Los criterios de inclusión y exclusión no han variado.

4.5. RESULTADOS DEL GRUPO PILOTO

4.5.1. DISCRIMINABILIDAD DE ESTADOS DE DOLOR Y NO DOLOR EN LA ESTIMULACIÓN CON FRÍO

Hasta el momento, el grupo de 8 sujetos que ha participado en el estudio ha obtenido un valor de CPT (umbral de dolor por frío) medio de -5,5 °C (DE 2,33) medidos en la placa Peltier y de 13,87 °C (DE 2) medidos en la segunda falange de los dedos 3° y 4°):

	Cell CPT	Hand CPT
Muestra nº 1	-4	14,50
Muestra nº 2	-2	13,87
Muestra nº 3	-5	11,90
Muestra nº 4	-7	11,20
Muestra nº 5	-5	12,10
Muestra nº 6	-4	16,90
Muestra nº 7	-9	15,70
Muestra nº 8	-8	14,80
Promedio	-5,5	13,87
DE	2,33	2,00

Figura 56: CPT de los participantes, en la placa Peltier y en la mano.

Estos resultados, concuerdan con estudios anteriores donde el valor de CPT medido en la mano, oscila habitualmente entre los 12°C y los 15°C [73], [81], [82].

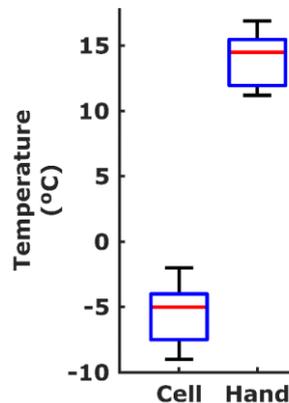


Figura 57: Distribuciones de temperatura de la placa Peltier y de las manos inmediatamente después de la estimulación en frío.

Los valores de entropía espectral (SE) obtenidos a partir de las diferentes señales fisiológicas entre las condiciones de dolor y no-dolor se compararon siguiendo el mismo procedimiento aplicado en la estimulación nociceptiva con calor, explicado en el capítulo 3.6 y en la figura 49.

Hasta el momento y con una muestra piloto, cuando se estudia la discriminabilidad de la estimulación en frío se pueden diferenciar frecuencias con mejor discriminabilidad en EEG1 (línea azul), EEG2 (línea naranja) y PPG (línea verde), con la mayor discriminabilidad encontrada a 30-40 Hz para el EEG y a 10 Hz para el PPG.

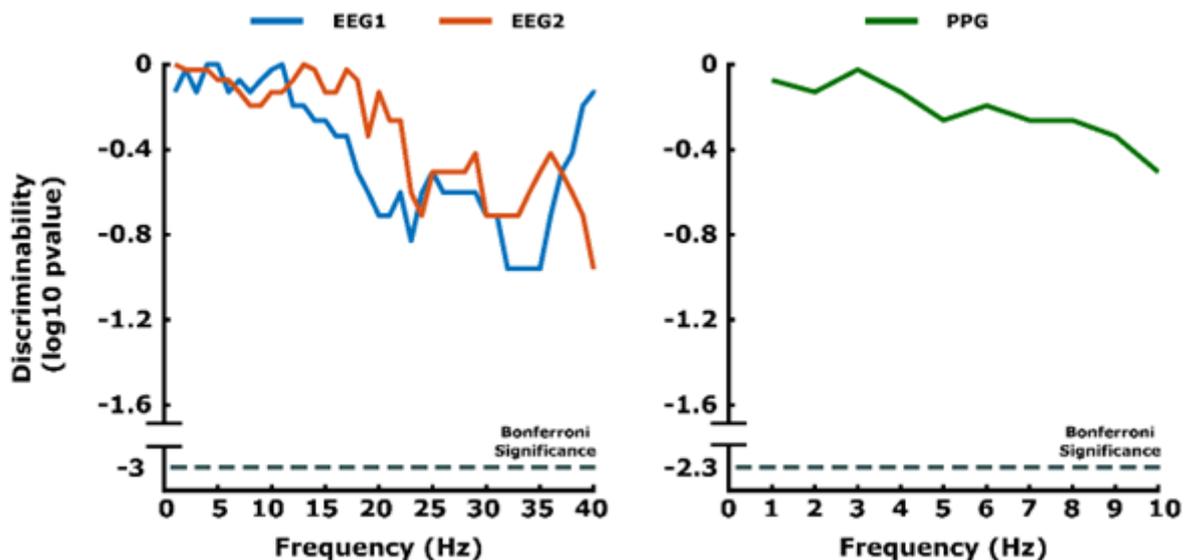


Figura 58: Discriminabilidad en función de las diferentes frecuencias sobre las que se compararon las condiciones de dolor y no dolor con estimulación en frío, para los valores de SE1 utilizando un test de Wilcoxon signed-rank.

Asimismo, cuando se combinan los datos de la estimulación en frío con la estimulación en calor, también se pueden observar frecuencias con mejor discriminabilidad en EEG1 (línea azul), EEG2 (línea naranja) y PPG (línea verde), con la mayor discriminabilidad encontrada a 5-15 Hz para el EEG y a 6-10 Hz para el PPG.

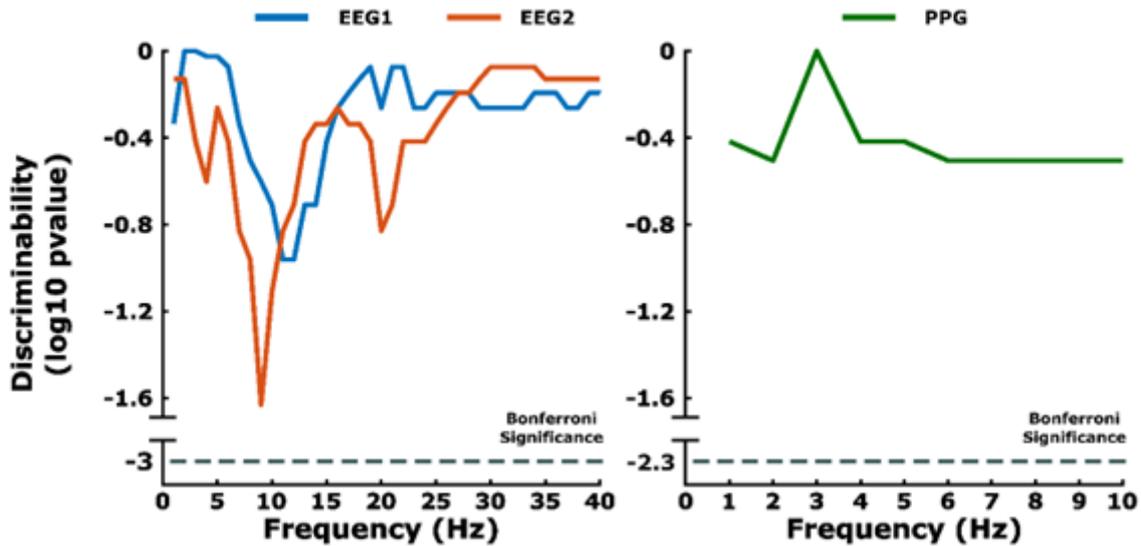


Figura 59: Discriminabilidad en función de las diferentes frecuencias sobre las que se compararon las condiciones de dolor y no dolor con estimulación en frío y calor, para los valores de SE1 utilizando un test de Wilcoxon signed-rank.

Todavía no se puede concluir si se puede discriminar la condición de dolor para los tres conjuntos de datos sensoriales debido principalmente a la falta de muestras. No obstante, cabe destacar lo interesante del comportamiento de EEG2 en la combinación de los datos de la estimulación en frío y calor (línea naranja en la figura 59), ya que se alcanzan p-valores significativos, tal y como ocurre cuando se estudia EEG2 en la estimulación con calor (línea naranja en la figura 50).

Por otro lado, como se puede observar en los tres gráficos izquierdos de las siguientes imágenes, la evolución de SE1 en el tiempo se obtuvo a partir de las tres señales durante 10 segundos, que correspondieron a 5000 puntos de tiempo para una frecuencia de muestreo de 500 Hz. Después de tomar el promedio temporal de SE1 en el estudio de la estimulación con frío, así como el estudio de la estimulación con frío y calor, la entropía media entre los participantes proporcionó diferencias significativas entre las condiciones, como se ilustra en la columna derecha de las siguientes dos imágenes.

En el caso de la estimulación nociceptiva con frío, los valores de máxima discriminabilidad de SE1 para las tres clases de señales EEG1, EEG2 y PPG se alcanzaron a 33 Hz, 40 Hz y 10 Hz, respectivamente. En la combinación de datos entre frío y calor en cambio, los valores de máxima discriminabilidad de SE1 se alcanzaron a 12 Hz, 9 Hz y 7 Hz respectivamente.

Los rectángulos grises dentro de los violines representan el primer y tercer cuartil, y el punto blanco dentro de esos rectángulos representa la mediana de las distribuciones. En la figura 61 * indica $0,05 < p < 0,01$.

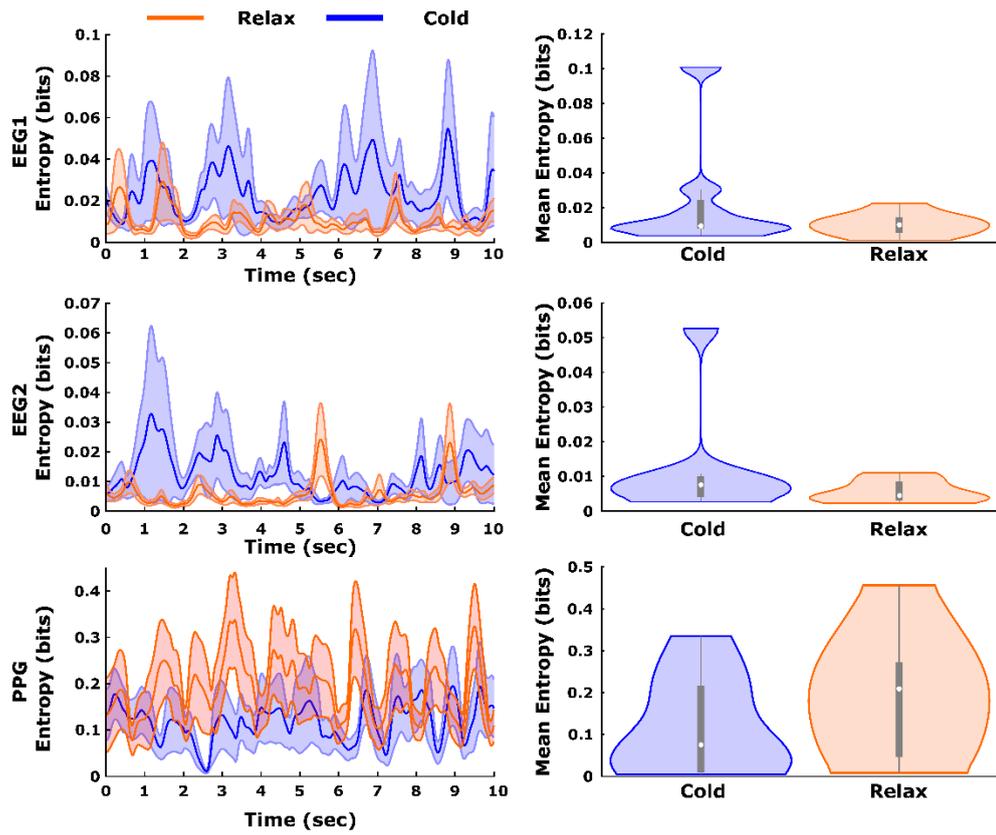


Figura 60: SE1 en función del tiempo para valores de frecuencia fijos durante 10 seg y la comparación de las condiciones.

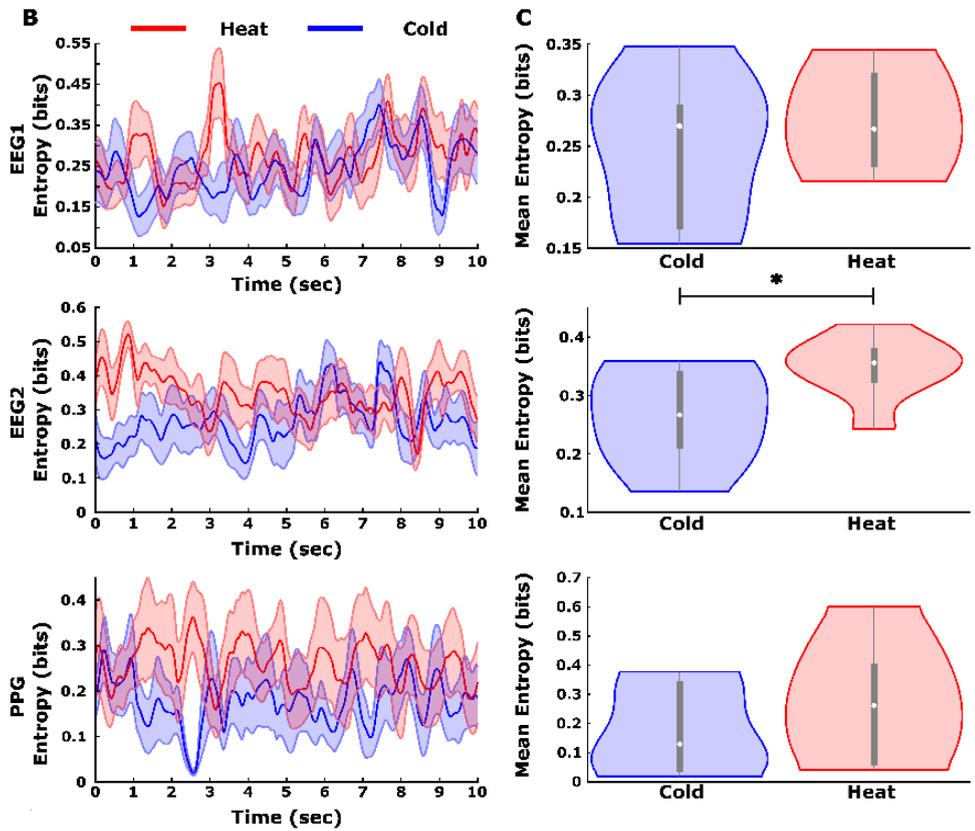


Figura 61: SE1 en función del tiempo para valores de frecuencia fijos durante 10 seg y la comparación de las condiciones.

Por último, tal y como se hizo en el estudio de la estimulación con calor, también se ha evaluado la discriminabilidad entre las condiciones por entropía espectral en dos dimensiones (2D), en diferentes frecuencias para los pares de señales (EEG1, EEG2), (EEG1, PPG) y (EEG2, PPG), así como en diferentes rangos de frecuencia.

Ninguna de las comparaciones de SE2 sobrevivió a la corrección de Bonferroni o al FDR y, por lo tanto, solo se informa aquí de los p-valores no corregidos. En el caso del estudio de la estimulación con frío, los valores de máxima discriminabilidad y los p-valores asociados ocurrieron a (3,15) Hz para PPG, EEG1 ($p = 0,078$), a (24,2) Hz para EEG1, EEG2 ($p = 0,0078$), y a (3,1) para PPG, EEG2 ($p = 0,313$). En la combinación de datos entre frío y calor en cambio, los valores de máxima discriminabilidad y los p-valores asociados ocurrieron a (1,33) Hz para PPG, EEG1 ($p = 0,149$), a (10,3) Hz para EEG1, EEG2 ($p = 0,039$), y a (7,1) para PPG, EEG2 ($p = 0,109$).

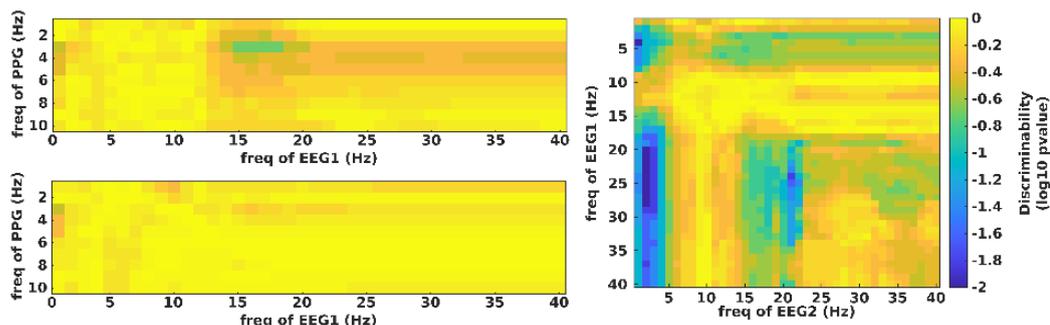


Figura 62: Discriminabilidad de las condiciones de dolor y no dolor por entropía espectral 2D – estimulación con frío

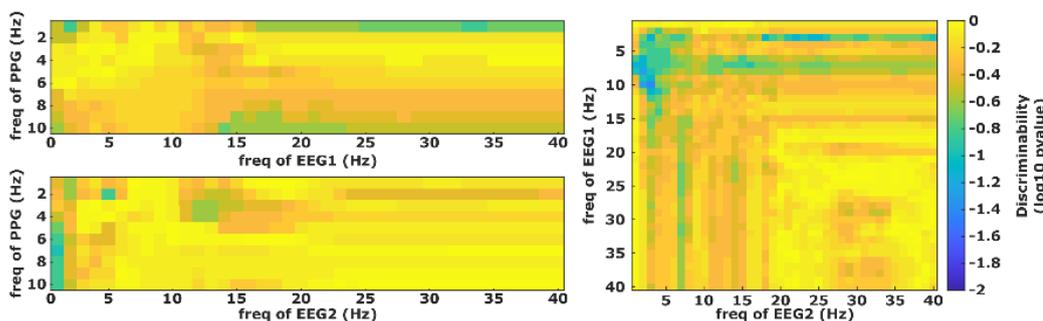


Figura 63: Discriminabilidad de las condiciones de dolor y no dolor por entropía espectral 2D – estimulación con frío/calor

Debido a la escasez de la muestra y la no superación de las correcciones de Bonferroni, no se puede concluir que exista una clara discriminabilidad, pero cabe destacar lo interesante del comportamiento de los pares de señales PPG-EEG1 ($p = 0,078$) y EEG1-EEG2 ($p = 0,0078$) de la estimulación con frío, ya que se alcanzan p-valores muy cercanos a ser significativos. Además, se puede observar como el estudio en dos dimensiones de la estimulación con frío aporta en dos de tres casos unos p-valores más interesantes que el estudio en una sola dimensión:

1D		2D	
EEG1	0,109	PPG+EEG1	0,078
EEG2	0,109	PPG+EEG2	0,313
PPG	0,3125	EEG1+EEG2	0,0078

Figura 64: Comparativa de p-valores en una y dos dimensiones en la estimulación con frío.

4.5.2. RESULTADOS OBTENIDOS GRACIAS AL USO DE LA CÁMARA TERMOGRÁFICA

Como se explica anteriormente, las imágenes térmicas se obtuvieron en dos condiciones: en situación de reposo y en respuesta a la estimulación térmica nociceptiva, inmediatamente posterior a ella, y cada 30 segundos hasta los 2 minutos. La adquisición de las imágenes se realizó siguiendo las directrices de la termografía en la medicina [83], es decir, en una habitación con una temperatura ambiente estable, y se evitó el contacto de las manos con cualquier superficie que pudiera modificar la temperatura. La temperatura de la piel se calculó en la región ubicada en la segunda falange de los dedos 3° y 4° gracias al uso del software propio de la cámara, la versión 5 de IRSoft Version.

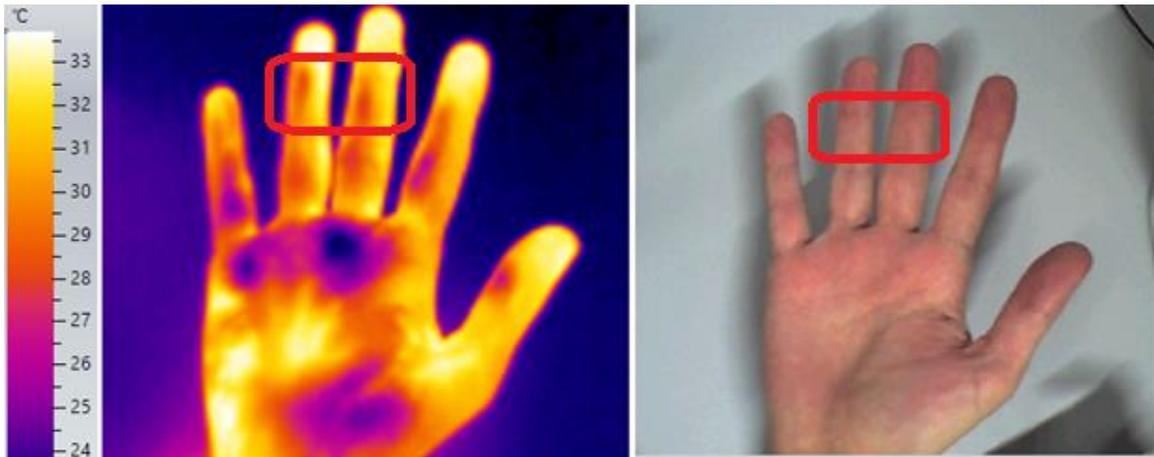


Figura 65: Imagen obtenida de IRSoft mostrando de la región estudiada

Se muestran a continuación los resultados de uno de los participantes, un hombre sano, diestro y de 38 años, con un IMC de 21,6, donde se puede observar que al realizar la termografía después de la exposición al frío, se obtuvo un tiempo de recuperación de la temperatura de la mano que es coherente con los resultados obtenidos en estudios anteriores donde el tiempo de la recuperación térmica se ha demostrado ralentizada en por ejemplo, la enfermedad de Parkinson [76], [84].

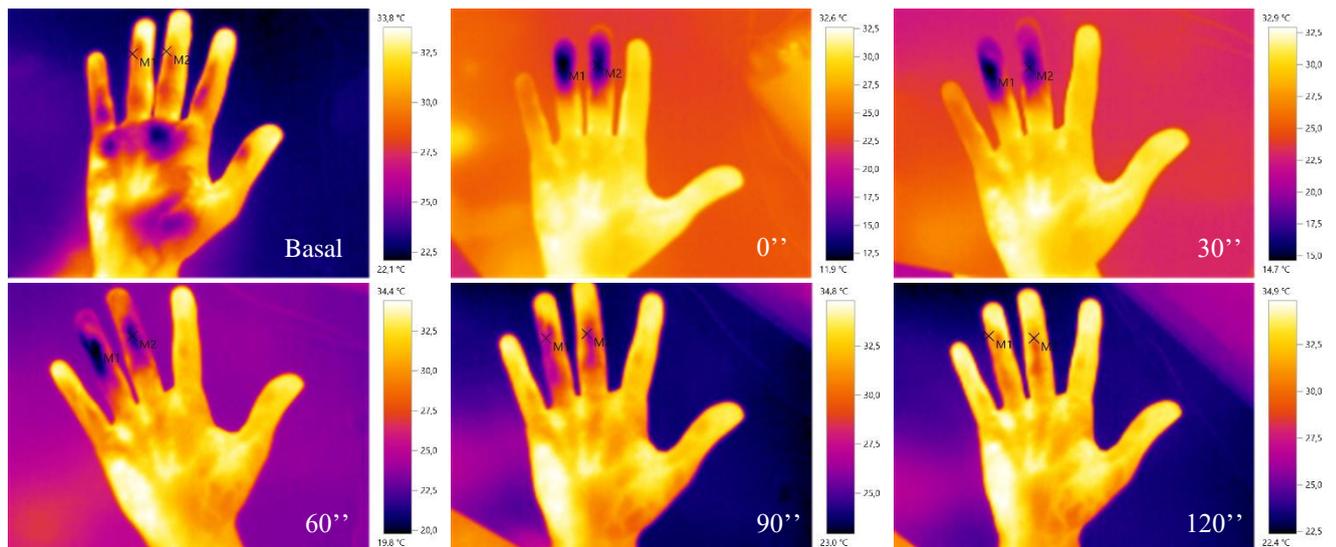


Figura 66: Termografía mostrando la recuperación de la temperatura de la mano derecha tras el estímulo nociceptivo frío.

Tal y como se puede adelantar a simple vista, la temperatura de los puntos elegidos en la segunda falange de los dedos 3° y 4° de la mano derecha entre el estado basal y tras 2 minutos de recuperación del estímulo nociceptivo frío, son muy parecidas. Concretamente, del estado basal al momento inmediatamente posterior al estímulo, se percibe una diferencia promedio de 17,25 °C, terminando 2 minutos después la recuperación en una diferencia promedio de 0,5°C:

	Basal	0''	30''	60''	90''	120''
M1	29,50	12,3	14,8	19,9	26,90	30,8
M2	30,90	13,6	17,2	21,6	28,00	30,6
PROMEDIO	30,20	12,95	16,00	20,75	27,45	30,70

Figura 67: Temperaturas obtenidas en la segunda falange de los dedos 4° (M1) y 3° (M2) de la mano derecha.

Con el fin de estudiar si la lateralidad motora es un factor determinante, se muestran a continuación los datos equivalentes obtenidos en la mano izquierda:

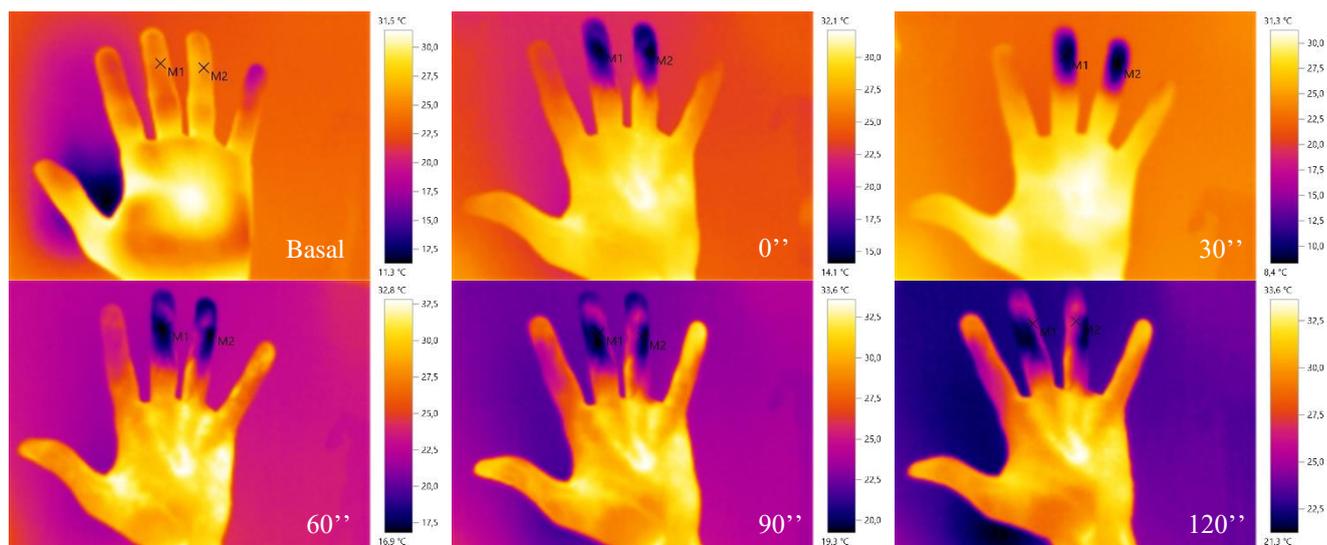


Figura 68: Termografía mostrando la recuperación de la temperatura de la mano izquierda tras el estímulo doloroso frío.

	Basal	0''	30''	60''	90''	120''
M1	24,60	9,4	14,3	17,2	20,10	24,1
M2	25,70	8,4	14,4	17	20,50	25,1
PROMEDIO	25,15	8,90	14,35	17,10	20,30	24,60

Figura 69: Temperaturas obtenidas en la segunda falange de los dedos 4° (M1) y 3° (M2) de la mano izquierda.

Como se puede observar, del estado basal al momento inmediatamente posterior al estímulo, se percibe una diferencia promedio de 16,25 °C, terminando 2 minutos después la recuperación en una diferencia promedio de 0,55°C.

Dado que el comportamiento ante el mismo estímulo entre ambas manos es equivalente y la velocidad media de recuperación de la temperatura inicial es muy parecida (0,15 °C/s en la mano derecha y 0,13 °C/s en la izquierda), en este caso concreto se puede concluir que la lateralidad motora no ha supuesto diferencias significativas en el comportamiento de la recuperación térmica. En trabajos futuros, se espera también poder estudiar el comportamiento de la mano contralateral a la estimulada dado que estudios anteriores lo consideran otro factor más de predictibilidad en disautonomías [76], [84], [85].

5. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS DE FUTURO

La percepción del dolor es un ejemplo de una respuesta sistémica bien orquestada. Aquí, hemos desarrollado un dispositivo compacto para registrar simultáneamente parámetros fisiológicos del cerebro y del corazón en respuesta a un estímulo térmico nociceptivo bien controlado. El dispositivo consta de una celda Peltier que permite variar con precisión la temperatura bajo el control de una computadora externa, dos electrodos frontales de EEG (unidos a los hemisferios izquierdo y derecho), un sensor PPG ubicado en un dedo de la mano opuesta a ese sobre el que se coloca la celda de Peltier y una cámara termográfica. Esta plataforma puede proporcionar información muy precisa sobre los umbrales de máxima tolerancia térmica al calor (en un futuro se espera conseguir unos resultados equivalentes con el frío) así como la velocidad de recuperación ante el estímulo, lo que potencialmente puede servir para evaluar estrategias novedosas tanto para el diagnóstico como para el seguimiento de diferentes condiciones patológicas.

Varios estudios han evaluado la respuesta del cerebro al dolor inducido por calor usando EEG [86]–[88], sin embargo, la novedad de este estudio es que se ha desarrollado una configuración compacta para registrar las respuestas fisiológicas del corazón y el cerebro mientras un el sujeto recibe un estímulo térmico nociceptivo. Este dispositivo permitió evaluar el umbral medio de dolor por calor del conjunto de personas, definiendo un umbral de 42,68 °C en una población con una edad media de 30 años. Este resultado fue consistente con estudios previos que utilizaron pruebas sensoriales cuantitativas (QST) [67], [73], validando así la confiabilidad de nuestro dispositivo para medir los umbrales de dolor por calor. Respecto al umbral medio de dolor por frío, sigue en estudio, y la muestra recogida pretende servir como estudio piloto para una serie futura más amplia.

Las diferencias en la percepción del dolor por calor entre las manos derecha e izquierda se evaluaron antes [77], [89]. En nuestra muestra, calentamos la mano derecha en 23 sujetos y la mano izquierda en los 12 participantes restantes y los datos no mostraron diferencias entre las manos calentadas izquierda y derecha (prueba $t = 1,58$, valor $p = 0,129$). Además, es importante señalar que estos valores se obtuvieron al calentar por primera vez una de las manos del sujeto. Cuando repetimos el mismo procedimiento por segunda vez en la mano contralateral poco después de calentar la primera mano, la respuesta fisiológica del PPG difirió de la reportada aquí. Por lo tanto, el calentamiento de una mano afectó en la respuesta fisiológica del posterior calentamiento de la mano contralateral. En consecuencia, se necesitarán más estudios para aclarar completamente estas relaciones, ya que aquí nos enfocamos en las señales del calentamiento inicial de una de las manos.

Nuestro estudio muestra que el dolor térmico se caracteriza por una reducción en la entropía de la respuesta del corazón medida por PPG, lo que sugiere que además de la respuesta del sistema nervioso autónomo, la exposición a un estímulo de dolor térmico disminuye la imprevisibilidad de los sistemas fisiológicos medida por su SE. De acuerdo con estudios previos, proponemos que los centros supraespinales superiores podrían cumplir un papel crítico en este proceso fisiológico [90]. Además, el núcleo ventral posterior del tálamo también podría coordinar la sensibilidad visceral, ya que es activada por estímulos mecánicos y térmicos en un rango nociceptivo [91]. Por otro lado, también sugerimos que la corteza somatosensorial primaria y secundaria, además de la corteza cingulada anterior, podrían estar involucradas en este mecanismo fisiológico [92], [93].

La adquisición simultánea de respuestas fisiológicas y el análisis de sus interacciones han permitido la creación de un nuevo campo de investigación llamado “Medicina de redes” [94], que intenta entender la comunicación e interacción entre diferentes órganos para cooperar a un nivel sistémico. Su campo de aplicación puede permitir el diagnóstico cada vez más temprano y fiable de enfermedades, así como el control de su evolución y síntomas, gracias a la determinación precisa y cuantitativa de las respuestas fisiológicas y su interacción en poblaciones patológicas con respecto a la población sana.

La simultaneidad es clave en este estudio. La novedad de estos biomarcadores de percepción del dolor se basa en una combinación de diferentes aspectos: una respuesta fisiológica del cerebro medida por el EEG mientras se registra simultáneamente la hemodinámica medida por el PPG. Además, se ha expuesto a los sujetos a un estímulo térmico de calor y/o frío variable bien controlado utilizando una nueva configuración que permite la discriminación del dolor frente a las condiciones de control dentro de un rango específico de frecuencias. Hasta donde sabemos, aún no se han informado estudios previos que incorporen todos estos ingredientes.

Se han introducido otros algoritmos basados en SE en diferentes bandas de frecuencia para monitorizar estados fisiológicos. El más conocido es el índice bispectral (BIS), que se utiliza en la práctica clínica diaria para monitorear la profundidad de la anestesia durante las intervenciones quirúrgicas en tiempo real [95], [96]. A través de un dispositivo que usa cuatro electrodos EEG ubicados en la frente del paciente para medir la actividad eléctrica del cerebro, BIS calcula las SE en diferentes bandas de frecuencia y los combina usando un algoritmo patentado para producir un índice numérico entre 100 (sin anestesia) y 0 (máxima anestesia, donde el nivel de conciencia medido por la actividad del EEG frontal es cero). La FDA ha validado que los niveles de BIS entre 40 y 60 son adecuados para la anestesia general durante las intervenciones quirúrgicas. Para la percepción del dolor, tales índices aprobados por la FDA no existen hasta la fecha.

Es bien sabido que varios síndromes de dolor crónico están asociados con alteraciones en la actividad del Sistema Inhibidor Nociceptivo Descendente (DNIS), como la fibromialgia, la neuropatía diabética dolorosa y el dolor lumbar [97]–[99]. El DNIS se compone de una red de áreas cerebrales corticales y subcorticales, que incluyen la ínsula anterior, las circunvoluciones frontales medias y la amígdala, y la médula ventromedial rostral y las regiones del tronco cerebral gris periacueductal, que pueden inhibir la entrada cerebral aferente nociceptiva [100], [101]. Se ha demostrado una relación entre el DNIS y la Variabilidad de la Frecuencia Cardíaca (HRV), por lo que los pacientes con un DNIS alterado tienen un HRV en reposo más bajo [102], consistente con la entropía reducida encontrada aquí [103], [104]. Además, se detectó una HRV anormalmente baja en un grupo de personas con síndrome de fatiga crónica, lo que indica que podrían tener una modulación parasimpática más débil de su frecuencia cardíaca [105]. En otros síndromes de dolor crónico como la fibromialgia, se pensaba que una HRV reducida reflejaba una adaptabilidad emocional y una resistencia al estrés más débiles [106].

Además, el uso de la termografía cutánea en la respuesta al dolor térmico en frío, ha permitido mostrar su potencial aplicabilidad como biomarcador de los mecanismos subyacentes a las anomalías en la adaptabilidad de la microvasculatura en el síndrome de dolor regional complejo (CPRS), que en condiciones saludables está regulada por la inervación noradrenérgica, y puede ser especialmente útil para estratificar la fase de la enfermedad y la comprensión de los procesos patológicos subyacentes a las diferentes fases de la enfermedad [75].

Nuestros hallazgos revelan una estrecha relación entre la percepción del dolor y la entropía fisiológica del cerebro en diferentes frecuencias, de acuerdo con estudios previos que muestran que el dolor está asociado con una red espacialmente extendida de áreas cerebrales reclutadas dinámicamente, lo que resulta en patrones temporales-espectrales complejos de actividad cerebral. [107]. En particular, el dolor produce variaciones individuales en el SE tanto del EEG como del PPG a diferentes frecuencias (medido por SE1), así como en su interacción bidimensional (medido por SE2). Anteriormente se observaron oscilaciones neuronales relacionadas con el dolor en las frecuencias theta (4 a 7 Hz), alfa (8 a 13 Hz), beta (14 a 29 Hz) y gamma (30 a 200 Hz) [108]–[111]. Aquí, encontramos que tanto el EEG del hemisferio izquierdo como el del hemisferio derecho tienen la mejor discriminación del estímulo doloroso en las bandas Beta y Theta, y luego en las bandas Alfa y Gamma, como se ve en otros estudios [107], [108], [112].

Nuestro trabajo es un primer paso para avanzar en la elaboración y análisis de la respuesta sistémica a la estimulación termoalgésica, pero también tiene algunas limitaciones:

En primer lugar, aunque intentamos mantener la calma de los voluntarios poniendo música relajante y permitiendo que experimenten la velocidad de cambio de temperatura antes de iniciar la recogida de datos, no controlamos la activación, las expectativas, la atención o la prominencia, ni analizamos la evaluación cognitiva antes o durante el experimento.

En segundo lugar, centramos este estudio en la estimulación termoalgésica, pero se podrían incorporar diferentes estímulos nociceptivos a nuestro dispositivo para futuros estudios, por ejemplo, el dolor mecánico, proporcionando una mayor sensibilidad y especificidad para discriminar diferentes clases de estimulación nociceptiva. Además, en el estudio de la estimulación termoalgésica con calor se han encontrado diferencias significativas entre los estados de dolor y no-dolor, y no así en el estudio piloto con frío. Esto puede deberse al pequeño tamaño muestral hasta el momento, o quizás también a motivos de diseño del *Set Up* que podría estar ignorando mecanismos fisiológicos, biológicos o anatómicos que se comportan de manera diferente en la estimulación termoalgésica con calor y frío. El trabajo futuro debería poder dar una respuesta a esta cuestión.

En tercer lugar, a diferencia de lo que normalmente se realiza en los experimentos de EEG donde se registran múltiples ensayos de estímulo-respuesta, no repetimos la estimulación nociceptiva en la misma mano de los sujetos, ya que la adaptación

fisiológica o el acondicionamiento de las fibras nerviosas podrían cambiar los resultados. Se necesitan estudios futuros que evalúen la repetibilidad de los estímulos nociceptivos para comprender mejor estas complejas interacciones.

En cuarto lugar, se varió la temperatura de la célula de Peltier en incrementos de 0,5 °C para lograr la activación de los receptores C (responsables del procesamiento térmico) junto con la de los receptores de fibra A δ (responsables del procesamiento nocivo de los estímulos) [54], [68], una restricción crítica para nuestro diseño. Además, no evaluamos las variaciones sistemáticas en los intervalos de aumento de temperatura, pero los estudios futuros también deberían explorar diferentes protocolos para aumentar la temperatura.

En quinto lugar, nuestro protocolo no permitió aleatorizar la exposición termoalgésica al calor, lo que posiblemente podría incorporarse al protocolo de estimulación en estudios futuros.

Finalmente, la población adulta joven sana reclutada aquí no mostró diferencias entre las manos izquierda y derecha. Sin embargo, es intrigante si pueden existir diferencias significativas en algunas condiciones patológicas y debe aclararse en otros estudios, ya que esto está más allá del alcance del presente trabajo.

En resumen, nuestro dispositivo compacto permite registrar simultáneamente señales fisiológicas cerebrales y cardíacas en respuesta a estímulos nociceptivos térmicos bien controlados. Mostramos que el SE de las señales fisiológicas puede discriminar estados de dolor. El trabajo futuro debería validar métricas similares basadas en SE para la variación en línea de estímulos nociceptivos, o la interacción dinámica en línea entre las señales PPG y EEG (e incluso la resistencia electro-dérmica (EDR) o resistencia galvánica de la piel (GSR)), por ejemplo, usando la causalidad de Granger [113]–[116] o la entropía de transferencia [117], [118], como se usó previamente para establecer diferentes mecanismos cerebrales dinámicos en condiciones relacionadas con el dolor como la migraña [119], [120]. Por último, pero no menos importante, los estudios futuros deben evaluar si nuestro sistema dual de EEG y PPG junto con el uso de la termografía es útil para estudiar algunas condiciones patológicas en las que el sistema nervioso autónomo funciona de manera anormal, como las neuropatías de fibras pequeñas, la fibromialgia o la neuropatía diabética dolorosa.

6. BIBLIOGRAFÍA

- [1] A. Chiarotto, L. J. Maxwell, R. W. Ostelo, M. Boers, P. Tugwell, and C. B. Terwee, “Measurement Properties of Visual Analogue Scale, Numeric Rating Scale, and Pain Severity Subscale of the Brief Pain Inventory in Patients With Low Back Pain: A Systematic Review,” *Journal of Pain*, vol. 20, no. 3. Churchill Livingstone Inc., pp. 245–263, Mar. 01, 2019. doi: 10.1016/j.jpain.2018.07.009.
- [2] H. Breivik, B. Collett, V. Ventafridda, R. Cohen, and D. Gallacher, “Survey of chronic pain in Europe: Prevalence, impact on daily life, and treatment,” *Eur. J. Pain*, vol. 10, no. 4, p. 287, 2006, doi: 10.1016/j.ejpain.2005.06.009.
- [3] G. I. Lee and M. W. Neumeister, “Pain: Pathways and Physiology,” *Clin. Plast. Surg.*, vol. 47, no. 2, pp. 173–180, Apr. 2019, doi: 10.1016/j.cps.2019.11.001.
- [4] R. B. Fillingim, J. D. Loeser, R. Baron, and R. R. Edwards, “Assessment of Chronic Pain: Domains, Methods, and Mechanisms,” *Journal of Pain*, vol. 17, no. 9. Churchill Livingstone Inc., pp. T10–T20, Sep. 01, 2016. doi: 10.1016/j.jpain.2015.08.010.
- [5] Raja S, Carr D, Cohen M, Finnerup N, Flor H, and Gibson S, “The Revised IASP definition of pain: concepts, challenges, and compromises. Pain [revista en Internet] 2021 [acceso 4 de marzo de 2022]; 161(9): 1-16.” *Pain*, vol. 161, no. 9, pp. 1976–1982, 2021, doi: 10.1097/j.pain.0000000000001939.The.
- [6] R. Melzack, “From the gate to the neuromatrix,” *Pain*, vol. 7, no. 3, pp. 149–156, 1999.
- [7] E. Leung, “Pain Management and Palliative Care,” *Pain Manag. Palliat. Care*, pp. 3–6, 2015, doi: 10.1007/978-1-4939-2462-2.
- [8] L. U. Sneddon, “Comparative physiology of nociception and pain,” *Physiology*, vol. 33, no. 1, pp. 63–73, 2018, doi: 10.1152/physiol.00022.2017.
- [9] M. F. Yam, Y. C. Loh, C. S. Tan, S. K. Adam, N. A. Manan, and R. Basir, “General pathways of pain sensation and the major neurotransmitters involved in pain regulation,” *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 19, no. 8, 2018, doi: 10.3390/ijms19082164.
- [10] J. Neto, R. Chirila, A. S. Dahiya, A. Christou, D. Shakhthivel, and R. Dahiya, “Skin-Inspired Thermoreceptors-Based Electronic Skin for Biomimicking Thermal Pain Reflexes,” *Adv. Sci.*, Sep. 2022, doi: 10.1002/adv.202201525.
- [11] V. Das, *An introduction to pain pathways and pain “targets,”* 1st ed., vol. 131. Elsevier Inc., 2015. doi: 10.1016/bs.pmbts.2015.01.003.
- [12] R. D. Treede, D. R. Kenshalo, R. H. Gracely, and A. K. P. Jones, “The cortical representation of pain,” *Pain*, vol. 79, no. 2–3, pp. 105–111, 1999, doi: 10.1016/S0304-3959(98)00184-5.
- [13] B. G. Green and C. Akirav, “Threshold and rate sensitivity of low-threshold thermal nociception,” *Eur. J. Neurosci.*, vol. 31, no. 9, pp. 1637–1645, 2010, doi: 10.1111/j.1460-9568.2010.07201.x.
- [14] P. Martinez-Vazquez and E. W. Jensen, “Different perspectives for monitoring nociception during general anesthesia,” *Korean Journal of Anesthesiology*, vol. 75, no. 2. Korean Society of Anesthesiologists, pp. 112–123, Apr. 01, 2022. doi: 10.4097/kja.22002.
- [15] J. S. Mogil, “The history of pain measurement in humans and animals,” *Front. Pain Res.*, vol. 3, Sep. 2022, doi: 10.3389/fpain.2022.1031058.
- [16] C. Savignac, D. D. Ocay, Y. Mahdid, S. Blain-Moraes, and C. E. Ferland, “Clinical use of Electroencephalography in the Assessment of Acute Thermal Pain: A Narrative Review Based on Articles From 2009 to 2019,” *Clin. EEG Neurosci.*, vol. 53, no. 2, pp. 124–132, Mar. 2021, doi: 10.1177/15500594211026280.
- [17] D. B. Gordon, “Acute pain assessment tools: Let us move beyond simple pain ratings,” *Current Opinion in Anaesthesiology*, vol. 28, no. 5. Lippincott Williams and Wilkins, pp. 565–569, Oct. 01, 2015. doi: 10.1097/ACO.0000000000000225.
- [18] S. Koyama *et al.*, “An Electroencephalography Bioassay for Preclinical Testing of Analgesic Efficacy,” *Sci. Rep.*, vol. 8, no. 1, Dec. 2018, doi: 10.1038/s41598-018-34594-2.
- [19] E. Cobos and E. Portillo-Salido, “‘Bedside-to-Bench’ Behavioral Outcomes in Animal Models of Pain: Beyond the Evaluation of Reflexes,” *Curr. Neuropharmacol.*, vol. 11, no. 6, pp. 560–591, 2013, doi: 10.2174/1570159x113119990041.
- [20] J. R. Deuis, L. S. Dvorakova, and I. Vetter, “Methods used to evaluate pain behaviors in rodents,” *Front. Mol. Neurosci.*, vol. 10, no. September, pp. 1–17, 2017, doi: 10.3389/fnmol.2017.00284.
- [21] M. Åström, Z. M. Thet Lwin, F. S. Teni, K. Burström, and J. Berg, “Use of the visual analogue scale for health state valuation: a scoping review,” *Qual. Life Res.*, vol. 32, no. 10, pp. 2719–2729, 2023, doi: 10.1007/s11136-023-03411-3.
- [22] M. A. Ferreira-Valente, J. L. Pais-Ribeiro, and M. P. Jensen, “Validity of four pain intensity rating scales,” *Pain*, vol. 152, no. 10, pp. 2399–2404, 2011, doi: 10.1016/j.pain.2011.07.005.
- [23] A. E. Dubin and A. Patapoutian, “Nociceptors: The sensors of the pain pathway,” *J. Clin. Invest.*, vol. 120, no. 11, pp. 3760–3772, 2010, doi: 10.1172/JCI42843.
- [24] H. L. Fields and M. M. Heinricher, “Anatomy and physiology of a nociceptive modulatory system.” *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.*, vol. 308, no. 1136, pp. 361–374, 1985, doi: 10.1098/rstb.1985.0037.
- [25] W. Riedel and G. Neeck, “Nociception, pain, and antinociception: Current concepts,” *Z. Rheumatol.*, vol. 60, no. 6, pp. 404–415, 2001, doi: 10.1007/s003930170003.

- [26] J. Stern, D. Jeanmonod, and J. Sarnthein, "Persistent EEG overactivation in the cortical pain matrix of neurogenic pain patients," *Neuroimage*, vol. 31, no. 2, pp. 721–731, 2006, doi: 10.1016/j.neuroimage.2005.12.042.
- [27] E. R. J. Seitonen *et al.*, "EEG spectral entropy, heart rate, photoplethysmography and motor responses to skin incision during sevoflurane anaesthesia," *Acta Anaesthesiol. Scand.*, vol. 49, no. 3, pp. 284–292, 2005, doi: 10.1111/j.1399-6576.2005.00654.x.
- [28] M. de Tommaso, *An update on EEG in migraine*, vol. 19, no. 8. Taylor & Francis, 2019. doi: 10.1080/14737175.2019.1586534.
- [29] V. Shekhar, N. Choudhary, P. Rathore, S. P. Singh, and S. Bhatnagar, "Non-Invasive Objective Markers to Measure Pain: A Direction to Develop a Pain Device - A Narrative Review," *Indian J. Palliat. Care*, vol. 29, no. 2, pp. 217–222, 2023, doi: 10.25259/ijpc_257_2022.
- [30] P. Wheeler, W. E. Hoffman, V. L. Baughman, and H. Koenig, "Response entropy increases during painful stimulation," *J. Neurosurg. Anesthesiol.*, vol. 17, no. 2, pp. 86–90, 2005, doi: 10.1097/01.ana.0000151408.62650.b5.
- [31] A. Abad-Gurumeta, J. Ripollés-Melchor, R. Casans-Francés, and J. M. Calvo-Vecino, "Monitorización de la nocicepción, ¿realidad o ficción?," *Rev. Esp. Anestesiología. Reanim.*, vol. 64, no. 7, pp. 406–414, Aug. 2017, doi: 10.1016/j.redar.2017.01.009.
- [32] P. M. H. VIERTIÖ-OJA, V. MAJA, M. SÄRKELÄ, P. TALJA, N. TENKANEN, H. TOLVANEN-LAAKSO, M. PALOHEIMO, A. VAKKURI, A. YLI-HANKALA, "Description of entropy™ algorithm as applied in the Datex-Ohmeda S/5™ Entropy Module," *ACTA Anaesthesiol. Scand.*, no. 8, pp. 1–8, 2004, [Online]. Available: papers2://publication/uuid/DE7DCB7F-91A8-4B48-83F8-B8E3C013B908
- [33] H. Lim, B. Kim, G. J. Noh, and S. K. Yoo, "A deep neural network-based pain classifier using a photoplethysmography signal," *Sensors (Switzerland)*, vol. 19, no. 2, 2019, doi: 10.3390/s19020384.
- [34] K. Hamunen, V. Kontinen, E. Hakala, P. Talke, M. Paloheimo, and E. Kalso, "Effect of pain on autonomic nervous system indices derived from photoplethysmography in healthy volunteers," *Br. J. Anaesth.*, vol. 108, no. 5, pp. 838–844, 2012, doi: 10.1093/bja/aes001.
- [35] M. Huiku *et al.*, "Assessment of surgical stress during general anaesthesia," *Br. J. Anaesth.*, vol. 98, no. 4, pp. 447–455, 2007, doi: 10.1093/bja/aem004.
- [36] T. Ledowski, B. Ang, T. Schmarbeck, and J. Rhodes, "Monitoring of sympathetic tone to assess postoperative pain: Skin conductance vs surgical stress index," *Anaesthesia*, vol. 64, no. 7, pp. 727–731, 2009, doi: 10.1111/j.1365-2044.2008.05834.x.
- [37] M. Nunez-Ibero *et al.*, "A Controlled Thermoalgesic Stimulation Device for Exploring Novel Pain Perception Biomarkers," *IEEE J. Biomed. Heal. Informatics*, vol. 25, no. 8, pp. 2948–2957, Aug. 2021, doi: 10.1109/JBHI.2021.3080935.
- [38] E. Castrillon *et al.*, "Entropy of Masseter Muscle Pain Sensitivity: A New Technique for Pain Assessment," *J. Oral Facial Pain Headache*, vol. 31, no. 1, pp. 87–94, 2017, doi: 10.11607/ofph.1756.
- [39] H. Storm, "Changes in skin conductance as a tool to monitor nociceptive stimulation and pain," *Curr. Opin. Anaesthesiol.*, vol. 21, no. 6, pp. 796–804, 2008, doi: 10.1097/ACO.0b013e3283183fe4.
- [40] M. D. Larson, "Mechanism of opioid-induced pupillary effects," *Clin. Neurophysiol.*, vol. 119, no. 6, pp. 1358–1364, 2008, doi: 10.1016/j.clinph.2008.01.106.
- [41] M. Aissou, A. Snauwaert, C. Dupuis, A. Atchabahian, F. Aubrun, and M. Beaussier, "Objective assessment of the immediate postoperative analgesia using pupillary reflex measurement: A prospective and observational study," *Anesthesiology*, vol. 116, no. 5, pp. 1006–1012, 2012, doi: 10.1097/ALN.0b013e318251d1fb.
- [42] H. Eilers and M. D. Larson, "The effect of ketamine and nitrous oxide on the human pupillary light reflex during general anesthesia," *Auton. Neurosci. Basic Clin.*, vol. 152, no. 1–2, pp. 108–114, 2010, doi: 10.1016/j.autneu.2009.10.004.
- [43] O. Rouche *et al.*, "Evaluation of the depth of sedation in an intensive care unit based on the photo motor reflex variations measured by video pupillometry," *Ann. Intensive Care*, vol. 3, no. 1, pp. 1–4, 2013, doi: 10.1186/2110-5820-3-5.
- [44] N. Ben-Israel, M. Kliger, G. Zuckerman, Y. Katz, and R. Edry, "Monitoring the nociception level: A multi-parameter approach," *J. Clin. Monit. Comput.*, vol. 27, no. 6, pp. 659–668, 2013, doi: 10.1007/s10877-013-9487-9.
- [45] P. D. Chris H. Martini, M.D., Martijn Boon, M.D., Suzanne J. L. Broens, M.D., Evelien F. Hekkelman, M.D., Lisanne A. Oudhoff, M.D., Anna Willemijn Buddeke, M.D., Albert Dahan, M.D., "Ability of the Nociception Level, a Multiparameter Composite of Autonomic Signals, to Detect Noxious Stimuli during Propofol–Remifentanyl Anesthesia," *Anesthesiology*, no. 3, pp. 524–534, 2015.
- [46] M. Jeanne, C. Clément, J. De Jonckheere, R. Logier, and B. Tavernier, "Variations of the analgesia nociception index during general anaesthesia for laparoscopic abdominal surgery," *J. Clin. Monit. Comput.*, vol. 26, no. 4, pp. 289–294, 2012, doi: 10.1007/s10877-012-9354-0.
- [47] E. Boselli *et al.*, "Prediction of immediate postoperative pain using the analgesia/nociception index: A prospective observational study," *Br. J. Anaesth.*, vol. 112, no. 4, pp. 715–721, 2014, doi: 10.1093/bja/aet407.
- [48] J. Luo, H. Q. Zhu, B. Gou, and X. Q. Wang, "Neuroimaging Assessment of Pain," *Neurotherapeutics*, Sep. 2022, doi: 10.1007/s13311-022-01274-z.
- [49] A. K. P. Jones, W. D. Brown, K. J. Friston, L. Y. Qi, and R. S. J. Frackowiak, "Cortical and subcortical localization of

- response to pain in man using positron emission tomography,” *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.*, vol. 244, no. 1309, pp. 39–44, 1991, doi: 10.1098/rspb.1991.0048.
- [50] R. J. P. and H. B., *Wall and Melzack’s Textbook of Pain, 5th Edition Anesth. Analg.* 2006.
- [51] E. G. Martin, “A quantitative study of faradic stimulation. - II. The calibration of the inductorium for break shocks,” *Harvard Med. Sch.*, 1908.
- [52] J. D. Hardy, H. G. Wolff, and H. Goodell, “Studies on Pain. a New Method for Measuring Pain Threshold: Observations on Spatial Summation of Pain,” *J. Clin. Invest.*, vol. 19, no. 4, pp. 649–657, 1940, doi: 10.1172/jci101168.
- [53] M. Frey, “VerspKtete Schmerzempfindungeng.,” no. 14, 1922.
- [54] L. Plaghki and A. Mouraux, “How do we selectively activate skin nociceptors with a high power infrared laser? Physiology and biophysics of laser stimulation,” *Neurophysiol. Clin.*, vol. 33, no. 6, pp. 269–277, 2003, doi: 10.1016/j.neucli.2003.10.003.
- [55] N. I. Spielholz, P. J. Dyck, P. C. O’Brien, M. E. Shy, and E. M. Frohman, “Quantitative sensory testing: Report of the Therapeutics and Technology Assessment Subcommittee of the American Academy of Neurology [1] (multiple letters),” *Neurology*, vol. 61, no. 11, pp. 1628–1630, 2003, doi: 10.1212/WNL.61.11.1628.
- [56] R. P. Bonin, C. Bories, and Y. De Koninck, “A simplified up-down method (SUDO) for measuring mechanical nociception in rodents using von Frey filaments,” *Mol. Pain*, vol. 10, no. 1, 2014, doi: 10.1186/1744-8069-10-26.
- [57] J. E. Letzen *et al.*, “Test-retest reliability of pain-related brain activity in healthy controls undergoing experimental thermal pain,” *J. Pain*, vol. 15, no. 10, pp. 1008–1014, Oct. 2014, doi: 10.1016/j.jpain.2014.06.011.
- [58] H. Fruhstorfer, W. Gross, and O. Selbmann, “Von Frey hairs: New materials for a new design,” *Eur. J. Pain*, vol. 5, no. 3, pp. 341–342, 2001, doi: 10.1053/eujp.2001.0250.
- [59] S. Cathcart and D. Pritchard, “Reliability of pain threshold measurement in young adults,” *J. Headache Pain*, vol. 7, no. 1, pp. 21–26, 2006, doi: 10.1007/s10194-006-0265-7.
- [60] A. M. Carek and O. T. Inan, “A temperature-controlled glove with non-invasive arterial pulse sensing for active neurovascular assessment,” *Proc. Annu. Int. Conf. IEEE Eng. Med. Biol. Soc. EMBS*, vol. 2016-October, pp. 619–622, 2016, doi: 10.1109/EMBC.2016.7590778.
- [61] D. Ward, N. Z. Gurel, O. T. Inan, and F. L. Hammond, “A Soft Thermal Modulation and Physiological Sensing System for Neuro-Vascular Assessment,” *2018 IEEE Int. Conf. Robot. Biomimetics, ROBIO 2018*, pp. 991–998, 2018, doi: 10.1109/ROBIO.2018.8664788.
- [62] N. Z. Gurel, D. Ward, F. L. Hammond, and O. T. Inan, “Live Demonstration: A Soft Thermal Modulation System with Embedded Fluid Channels for Neuro-Vascular Assessment,” *2018 IEEE Biomed. Circuits Syst. Conf. BioCAS 2018 - Proc.*, p. 1, 2018, doi: 10.1109/BIOCAS.2018.8584838.
- [63] J. N. Acharya, A. Hani, J. Cheek, P. Thirumala, and T. N. Tsuchida, “American Clinical Neurophysiology Society Guideline 2: Guidelines for Standard Electrode Position Nomenclature,” *J. Clin. Neurophysiol.*, vol. 33, no. 4, pp. 308–311, 2016, doi: 10.1097/WNP.0000000000000316.
- [64] G. Perlaki *et al.*, “Pain-related autonomic response is modulated by the medial prefrontal cortex: An ECG-fMRI study in men,” *J. Neurol. Sci.*, vol. 349, no. 1–2, pp. 202–208, 2015, doi: 10.1016/j.jns.2015.01.019.
- [65] S. Lu *et al.*, “Can photoplethysmography variability serve as an alternative approach to obtain heart rate variability information?,” *J. Clin. Monit. Comput.*, vol. 22, no. 1, pp. 23–29, 2008, doi: 10.1007/s10877-007-9103-y.
- [66] M. Chavez, F. Grosselin, A. Bussalib, F. De Vico Fallani, and X. Navarro-Sune, “Surrogate-based artifact removal from single-channel EEG,” *IEEE Trans. Neural Syst. Rehabil. Eng.*, vol. 26, no. 3, pp. 540–550, 2018, doi: 10.1109/TNSRE.2018.2794184.
- [67] R. Rolke *et al.*, “Quantitative sensory testing: A comprehensive protocol for clinical trials,” *Eur. J. Pain*, vol. 10, no. 1, p. 77, 2006, doi: 10.1016/j.ejpain.2005.02.003.
- [68] A. Cervera, M. Veciana, and J. Valls-Solé, “Sympathetic sudomotor skin responses induced by laser stimuli in normal human subjects,” *Neurosci. Lett.*, vol. 334, no. 2, pp. 115–118, 2002, doi: 10.1016/S0304-3940(02)01117-5.
- [69] C. W. Woo *et al.*, “Quantifying cerebral contributions to pain beyond nociception,” *Nat. Commun.*, vol. 8, pp. 1–14, 2017, doi: 10.1038/ncomms14211.
- [70] N. Mammone, C. Ieracitano, H. Adeli, A. Bramanti, and F. C. Morabito, “Permutation Jaccard Distance-Based Hierarchical Clustering to Estimate EEG Network Density Modifications in MCI Subjects,” *IEEE Trans. Neural Networks Learn. Syst.*, vol. 29, no. 10, pp. 5122–5135, 2018, doi: 10.1109/TNNLS.2018.2791644.
- [71] X. Li, G. Ouyang, and D. A. Richards, “Predictability analysis of absence seizures with permutation entropy,” *Epilepsy Res.*, vol. 77, no. 1, pp. 70–74, 2007, doi: 10.1016/j.eplepsyres.2007.08.002.
- [72] M. Costa, A. L. Goldberger, and C. K. Peng, “Multiscale entropy analysis of biological signals,” *Phys. Rev. E - Stat. Nonlinear, Soft Matter Phys.*, vol. 71, no. 2, p. 21906, 2005, doi: 10.1103/PhysRevE.71.021906.
- [73] W. Magerl, E. K. Krümová, R. Baron, T. Tölle, R. D. Treede, and C. Maier, “Reference data for quantitative sensory testing (QST): Refined stratification for age and a novel method for statistical comparison of group data,” *Pain*, vol. 151, no. 3, pp. 598–605, 2010, doi: 10.1016/j.pain.2010.07.026.
- [74] M. Avellanal, I. Riquelme, and G. Díaz-Regañón, “Quantitative Sensory Testing in pain assessment and treatment. Brief review and algorithmic management proposal,” *Rev. Esp. Anestesiología Reanim.*, vol. 67, no. 4, pp. 187–194, 2020, doi: 10.1016/j.redar.2020.01.006.

- [75] J. C. G.-E. T. Pérez-Concha, B. Tijero, M. Acera, T. Fernández, I. Gabilondob, “Usefulness of thermography in the diagnosis and classification of complex regional pain syndrome,” *Neurología*, vol. 1, no. 1, pp. 1–11, 2020.
- [76] I. Antonio-Rubio *et al.*, “Abnormal thermography in Parkinson’s disease,” *Park. Relat. Disord.*, vol. 21, no. 8, pp. 852–857, 2015, doi: 10.1016/j.parkreldis.2015.05.006.
- [77] D. Pud, Y. Golan, and R. Pesta, “Hand dominance-A feature affecting sensitivity to pain,” *Neurosci. Lett.*, vol. 467, no. 3, pp. 237–240, 2009, doi: 10.1016/j.neulet.2009.10.048.
- [78] P. Pauli, G. Wiedemann, and M. Nickola, “Pressure pain thresholds asymmetry in left-and right-handers: Associations with behavioural measures of cerebral laterality,” *Eur. J. Pain*, vol. 3, no. 2, pp. 151–156, 1999, doi: 10.1053/eujp.1999.0108.
- [79] P. M. Nilsson, A. Kandell-Collén, and H. I. Andersson, “Blood pressure and metabolic factors in relation to chronic pain,” *Blood Press.*, vol. 6, no. 5, pp. 294–298, 1997, doi: 10.3109/08037059709062085.
- [80] M. Bharara, V. Viswanathan, and J. E. Cobb, “Cold immersion recovery responses in the diabetic foot with neuropathy,” *Int. Wound J.*, vol. 5, no. 4, pp. 562–569, 2008, doi: 10.1111/j.1742-481X.2008.00454.x.
- [81] R. Rolke *et al.*, “Quantitative sensory testing in the German Research Network on Neuropathic Pain (DFNS): Standardized protocol and reference values,” *Pain*, vol. 123, no. 3, pp. 231–243, 2006, doi: 10.1016/j.pain.2006.01.041.
- [82] N. A. Moloney, T. M. Hall, T. C. O’Sullivan, and C. M. Doody, “Reliability of thermal quantitative sensory testing of the hand in a cohort of young, healthy adults,” *Muscle and Nerve*, vol. 44, no. 4, pp. 547–552, 2011, doi: 10.1002/mus.22121.
- [83] E. F. J. Ring and K. Ammer, “Infrared thermal imaging in medicine,” *Physiol. Meas.*, vol. 33, no. 3, 2012, doi: 10.1088/0967-3334/33/3/R33.
- [84] M. M. Purup, K. Knudsen, P. Karlsson, A. J. Terkelsen, and P. Borghammer, “Skin Temperature in Parkinson’s Disease Measured by Infrared Thermography,” *Parkinsons. Dis.*, vol. 2020, 2020, doi: 10.1155/2020/2349469.
- [85] Y. Isii, K. Matsukawa, H. Tsuchimochi, and T. Nakamoto, “Ice-water hand immersion causes a reflex decrease in skin temperature in the contralateral hand,” *J. Physiol. Sci.*, vol. 57, no. 4, pp. 241–248, 2007, doi: 10.2170/physiolsci.RP007707.
- [86] G. Liberati, M. Algoet, S. F. Santos, J. G. Ribeiro-Vaz, C. Raftopoulos, and A. Mouraux, “Tonic thermanociceptive stimulation selectively modulates ongoing neural oscillations in the human posterior insula: Evidence from intracerebral EEG,” *Neuroimage*, vol. 188, pp. 70–83, 2019, doi: 10.1016/j.neuroimage.2018.11.059.
- [87] A. M. Elisabeth Colon, Valéry Legrain, “EEG frequency-tagging to dissociate the cortical responses to nociceptive and non-nociceptive stimuli,” *J Cogn Neurosci.*, vol. 26, no. 10, p. 139, 2014, doi: 10.1162/jocn.
- [88] J. H. Kim, J. H. Chien, C. C. Liu, and F. A. Lenz, “Painful cutaneous laser stimuli induce event-related gamma-band activity in the lateral thalamus of humans,” *J. Neurophysiol.*, vol. 113, no. 5, pp. 1564–1573, 2015, doi: 10.1152/jn.00778.2014.
- [89] A. Eken, M. Kara, B. Baskak, A. Baltacı, and D. Gökçay, “Differential efficiency of transcutaneous electrical nerve stimulation in dominant versus nondominant hands in fibromyalgia: placebo-controlled functional near-infrared spectroscopy study,” *Neurophotonics*, vol. 5, no. 01, p. 1, 2017, doi: 10.1117/1.nph.5.1.011005.
- [90] M. J. Millan, “Descending control of pain,” *Prog. Neurobiol.*, vol. 28, no. 9, pp. 3907–3911, 2002.
- [91] A. May, “Chronic pain may change the structure of the brain,” *Pain*, vol. 137, no. 1, pp. 7–15, 2008, doi: 10.1016/j.pain.2008.02.034.
- [92] J. A. G. Pérez, J. Mario, and H. González, *Neuroanatomía Humana*.
- [93] A. Mouraux and G. D. Iannetti, “The search for pain biomarkers in the human brain,” *Brain*, vol. 141, no. 12, pp. 3290–3307, 2018, doi: 10.1093/brain/awy281.
- [94] A. Bashan, R. P. Bartsch, J. W. Kantelhardt, S. Havlin, and P. C. Ivanov, “Network physiology reveals relations between network topology and physiological function,” *Nat. Commun.*, vol. 3, 2012, doi: 10.1038/ncomms1705.
- [95] P. S. Myles, K. Leslie, J. McNeil, A. Forbes, and M. T. V. Chan, “Bispectral index monitoring to prevent awareness during anaesthesia: The B-Aware randomised controlled trial,” *Lancet*, vol. 363, no. 9423, pp. 1757–1763, 2004, doi: 10.1016/S0140-6736(04)16300-9.
- [96] S. S. Liu, “Effects of bispectral index monitoring on ambulatory anesthesia: A meta-analysis of randomized controlled trials and a cost analysis,” *Anesthesiology*, vol. 101, no. 2, pp. 311–315, 2004, doi: 10.1097/0000542-200408000-00010.
- [97] A. P. Brietzke *et al.*, “Potency of descending pain modulatory system is linked with peripheral sensory dysfunction in fibromyalgia,” *Med. (United States)*, vol. 98, no. 3, 2019, doi: 10.1097/MD.00000000000013477.
- [98] J. T. Kong *et al.*, “Central mechanisms of real and sham electroacupuncture in the treatment of chronic low back pain: Study protocol for a randomized, placebo-controlled clinical trial,” *Trials*, vol. 19, no. 1, pp. 1–13, 2018, doi: 10.1186/s13063-018-3044-2.
- [99] A. R. Segerdahl, A. C. Themistocleous, D. Fido, D. L. Bennett, and I. Tracey, “A brain-based pain facilitation mechanism contributes to painful diabetic polyneuropathy,” *Brain*, vol. 141, no. 2, pp. 357–364, 2018, doi: 10.1093/brain/awx337.
- [100] M. H. Ossipov, G. O. Dussor, and F. Porreca, “Review series Central modulation of pain,” *J. Clin. Invest.*, vol. 120, no. 11, pp. 3779–3787, 2010, doi: 10.1172/JCI43766.reduced.

- [101] P. Schweinhardt and M. C. Bushnell, "Pain imaging in health and disease - How far have we come?," *J. Clin. Invest.*, vol. 120, no. 11, pp. 3788–3797, 2010, doi: 10.1172/JCI43498.
- [102] P. Rodrigues, L. Corrêa, M. Ribeiro, B. Silva, F. Reis, and L. Nogueira, "Patients with impaired descending nociceptive inhibitory system present altered cardiac vagal control at rest," *Pain Physician*, vol. 21, no. 4, pp. E409–E418, 2018, doi: 10.36076/ppj.2018.4.e409.
- [103] J. S. Richman and J. R. Moorman, "Physiological time-series analysis using approximate entropy and sample entropy maturity in premature infants Physiological time-series analysis using approximate entropy and sample entropy," *Am. J. Physiol. Hear. Circ. Physiol.*, vol. 278, pp. H2039–H2049, 2000.
- [104] M. D. Costa and J. A. Healey, "Multiscale entropy analysis of complex heart rate dynamics: Discrimination of age and heart failure effects," *Comput. Cardiol.*, vol. 30, pp. 705–708, 2003, doi: 10.1109/cic.2003.1291253.
- [105] K. A. Rimes, K. Lievesley, and T. Chalder, "Stress vulnerability in adolescents with chronic fatigue syndrome: experimental study investigating heart rate variability and skin conductance responses," *J. Child Psychol. Psychiatry Allied Discip.*, vol. 58, no. 7, pp. 851–858, 2017, doi: 10.1111/jcpp.12711.
- [106] M. Reneau, "Heart Rate Variability Biofeedback to Treat Fibromyalgia: An Integrative Literature Review," *Pain Manag. Nurs.*, vol. 21, no. 3, pp. 225–232, 2020, doi: 10.1016/j.pmn.2019.08.001.
- [107] M. Ploner, C. Sorg, and J. Gross, "Brain Rhythms of Pain," *Trends Cogn. Sci.*, vol. 21, no. 2, pp. 100–110, 2017, doi: 10.1016/j.tics.2016.12.001.
- [108] Y. Huang, H. Luo, A. L. Green, T. Z. Aziz, and S. Wang, "Characteristics of local field potentials correlate with pain relief by deep brain stimulation," *Clin. Neurophysiol.*, vol. 127, no. 7, pp. 2573–2580, 2016, doi: 10.1016/j.clinph.2016.04.011.
- [109] R. G. Whittaker *et al.*, "Urine heteroplasmy is the best predictor of clinical outcome in the m.3243A>G mtDNA mutation," *Neurology*, pp. 568–573, 2009.
- [110] M. N. Baliki, A. T. Baria, and A. Vania Apkarian, "The Cortical Rhythms of Chronic Back Pain," *J. Neurosci.*, vol. 31, no. 39, pp. 13981–13990, 2011, doi: 10.1523/JNEUROSCI.1984-11.2011.
- [111] Z. G. Zhang, L. Hu, Y. S. Hung, A. Mouraux, and G. D. Iannetti, "Gamma-band oscillations in the primary somatosensory cortex-A direct and obligatory correlate of subjective pain intensity," *J. Neurosci.*, vol. 32, no. 22, pp. 7429–7438, 2012, doi: 10.1523/JNEUROSCI.5877-11.2012.
- [112] K. Walton and R. Llin^os, "Central Pain as a Thalamocortical Dysrhythmia," 2009, doi: 10.1201/9781439812105-c13.
- [113] L. Faes, G. Nollo, S. Stramaglia, and D. Marinazzo, "Multiscale Granger causality," *Phys. Rev. E*, vol. 96, no. 4, pp. 1–7, 2017, doi: 10.1103/PhysRevE.96.042150.
- [114] S. Stramaglia, L. Angelini, G. Wu, J. M. Cortes, L. Faes, and D. Marinazzo, "Synergetic and Redundant Information Flow Detected by Unnormalized Granger Causality: Application to Resting State fMRI," *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol. 63, no. 12, pp. 2518–2524, 2016, doi: 10.1109/TBME.2016.2559578.
- [115] C. Alonso-Montes *et al.*, "Lagged and instantaneous dynamical influences related to brain structural connectivity," *Front. Psychol.*, vol. 6, no. July, pp. 1–12, 2015, doi: 10.3389/fpsyg.2015.01024.
- [116] D. Marinazzo, M. Pellicoro, and S. Stramaglia, "Kernel method for nonlinear Granger causality," *Phys. Rev. Lett.*, vol. 100, no. 14, pp. 1–4, 2008, doi: 10.1103/PhysRevLett.100.144103.
- [117] A. Erramuzpe *et al.*, "Identification of redundant and synergetic circuits in triplets of electrophysiological data," *J. Neural Eng.*, vol. 12, no. 6, 2015, doi: 10.1088/1741-2560/12/6/066007.
- [118] I. Diez *et al.*, "Information Flow between Resting-State Networks," *Brain Connect.*, vol. 5, no. 9, pp. 554–564, 2015, doi: 10.1089/brain.2014.0337.
- [119] M. De Tommaso *et al.*, "Altered processing of sensory stimuli in patients with migraine," *Nat. Rev. Neurol.*, vol. 10, no. 3, pp. 144–155, 2014, doi: 10.1038/nrneurol.2014.14.
- [120] M. de Tommaso, G. Trotta, E. Vecchio, K. Ricci, R. Siugzdaite, and S. Stramaglia, "Brain networking analysis in migraine with and without aura," *J. Headache Pain*, vol. 18, no. 1, 2017, doi: 10.1186/s10194-017-0803-5.

7. ANEXO I: ARTÍCULO PUBLICADO EN IEEE

A continuación, se anexa el artículo “A Controlled Thermoalgesic Stimulation Device for Exploring Novel Pain Perception Biomarkers” publicado en la revista *IEEE Journal of biomedical and health informatics* el 8 de agosto del 2021, con un índice de impacto de 7,021 y posicionado en el cuartil Q1 según Journal Citation Reports (JCR), que se puede consultar en Pubmed con el DOI 10.1109/JBHI.2021.3080935.

2948

IEEE JOURNAL OF BIOMEDICAL AND HEALTH INFORMATICS, VOL. 25, NO. 8, AUGUST 2021



A Controlled Thermoalgesic Stimulation Device for Exploring Novel Pain Perception Biomarkers

Maidier Nuñez-Ibero ¹, Borja Camino-Pontes ¹, Ibai Diez ¹, Asier Erramuzpe ¹, Endika Martínez-Gutiérrez ¹, Sebastiano Stramaglia ², Javier O. Álvarez-Cienfuegos ¹, and Jesus M. Cortes ¹

Abstract—Objective: To develop a new device for identifying physiological markers of pain perception by reading

the brain's electrical activity and hemodynamic interactions while applying thermoalgesic stimulation. **Methods:** We designed a compact prototype that generates well-controlled thermal stimuli using a computer-driven Peltier cell while simultaneously capturing electroencephalography (EEG) and photoplethysmography (PPG) signals. The study was performed on 35 healthy subjects (mean age 30.46 years, SD 4.93 years; 20 males, 15 females). We first determined the heat pain threshold (HPT) for each subject, defined as the maximum temperature that the subject can withstand when the Peltier cell gradually increased the temperature. Next, we defined the painful condition as the one occurring at temperature equal to 90% of the HPT, comparing this to the no-pain state (control) in the absence of thermoalgesic stimulation. **Results:** Both the one-dimensional and the two-dimensional spectral entropy (SE) obtained from both the EEG and PPG signals differentiated the condition of pain. In particular, the SE for PPG was significantly reduced in association with pain, while the SE for EEG increased slightly. Moreover, significant discrimination occurred within a specific range of frequencies, 26-30 Hz for EEG and about 5-10 Hz for PPG. **Conclusion:** Hemodynamics, brain dynamics and their interactions can discriminate thermal pain perception. **Significance:** The possibility of monitoring on-line variations in thermal pain perception using a similar device and algorithms may be of interest to study different pathologies that affect the peripheral nervous system, such as small fiber neuropathies, fibromyalgia or painful diabetic neuropathy.

Manuscript received August 6, 2020; revised March 26, 2021; accepted May 8, 2021. Date of publication May 17, 2021; date of current version August 5, 2021. This work was supported in part by the JMC, funded by Ikerbasque: The Basque Foundation for Science, Ministerio Economía, Industria y Competitividad, Spain, and FEDER under Grant DPI2016-79874-R, and in part by the Department of Economic Development and Infrastructure of the Basque Country (Elkartek Program) under Grants KK-2018/00032, KK-2018/00090, and KK-2021/00009. The work of Borja Camino-Pontes was supported by the Department of Education of the Basque Country Predoctoral Program under Grant PRE-2020-1-0187. The work of Asier Erramuzpe was supported in part by the ELSC and in part by the Department of Education of the Basque Country Postdoctoral Program under Grant POS-2019-2-0020. The work of Endika Martínez-Gutiérrez was supported by the Department of Education of the Basque Country postdoctoral program under Grant POS-2019-1-0034. (Maidier Nuñez-Ibero and Borja Camino-Pontes contributed equally to this work and are co-first authors.) (Javier O. Álvarez-Cienfuegos and Jesus M. Cortes contributed equally to this work and are co-senior authors.) (Corresponding author: Jesus M. Cortes.)

Maidier Nuñez-Ibero is with Biomedical Research Doctorate Program, University of the Basque Country, 48940 Leioa, Spain (e-mail: maidernunezibero@gmail.com).

Borja Camino-Pontes is with Biomedical Research Doctorate Program, University of the Basque Country, 48940 Leioa, Spain, with the Biocruces-Bizkaia Health Research Institute, 48903 Barakaldo, Spain (e-mail: caminopontes@gmail.com).

Ibai Diez is with the Gordon Center for Medical Imaging, Department of Radiology, Massachusetts General Hospital and Harvard Medical School, Boston, MA 02115 USA and with the Athinoula A. Martinos Center for Biomedical Imaging, Massachusetts General Hospital, Harvard Medical School, Boston, MA 02115 USA (e-mail: ibaidiez85@gmail.com).

Asier Erramuzpe is with Biocruces-Bizkaia Health Research Institute, 48903 Barakaldo, Spain, with The Edmond & Lily Safra Center for Brain Sciences, Hebrew University of Jerusalem, Jerusalem, Israel and also with Biomedical Engineering Department, Faculty of Engineering, Mondragon University, Mondragon, Spain (e-mail: asier.erramuzpe@gmail.com).

Endika Martínez-Gutiérrez is with the Biocruces-Bizkaia Health Research Institute, 48903 Barakaldo, Spain, with the Dipartimento Interateneo di Fisica, Università degli Studi di Bari Aldo Moro, and also with INFN, Sezione di Bari, Italy (e-mail: emargu92@gmail.com).

Sebastiano Stramaglia is with the Dipartimento Interateneo di Fisica, Università degli Studi di Bari Aldo Moro, and INFN, Sezione di Bari, Italy (e-mail: Sebastiano.Stramaglia@ba.infn.it).

Javier O. Álvarez-Cienfuegos is with the Department of Electronic Technology, University of the Basque Country, 48940 Bilbao, Spain (e-mail: javier.ortiza@ehu.eus).

Jesus M. Cortes is with Biocruces-Bizkaia Health Research Institute, 48903 Barakaldo, Spain, with the IKERBASQUE: The Basque Foundation for Science, Bilbao, Spain, and also with the Department of Cell Biology and Histology, University of the Basque Country, 48940 Leioa, Spain (e-mail: jesus.m.cortes@gmail.com).

Digital Object Identifier 10.1109/JBHI.2021.3080935

Index Terms—Thermoalgesic stimulation, heat pain threshold, spectral entropy, pain perception, photoplethysmography, electroencephalography, biopac.

I. INTRODUCTION

THE synergy between electronic technology and state-of-the-art instrumentation, together with the incorporation of statistical analysis and data science, provides tremendous possibilities in neuroscience research [1]. Here, following previous works [2]–[4] we have designed a new, compact hardware-device to measure systemic responses of the peripheral nervous system (PNS), such as the perception of pain, by progressively increasing a Peltier cell's temperature in contact by with the subject skin or hand. The device allows simultaneously recording of brain and heart dynamics by measuring electroencephalography (EEG) and photoplethysmography (PPG),¹ respectively.

¹While the physiological meaning of PPG is unclear as it is affected by multiple mechanisms such as baroreflex sensitivity, blood pressure, and vasodilation/constriction, here in this study, we used this signal as a proxy for the hemodynamic response.

Therefore, our device can be used to quantitatively measure systemic physiological responses to thermal stimulation, allowing the underlying structural and functional changes to be elucidated, and offering an insight into the physiological interactions provoked, the so-called *physiolome* [5]–[7].

But what exactly is pain perception and how can it be measured? A definition of pain was formulated more than 50 years ago [8]: *Pain is an unpleasant experience that we primarily associate with tissue damage or describe in terms of tissue damage or both.* Since then, multidisciplinary approaches and the emergence of models for chronic pain-related disease have produced substantial advances in our understanding of pain, its assessment and treatment. As such, a more refined definition has been proposed by the International Association for the Study of Pain, whereby: *Pain is an unpleasant sensory and emotional experience associated with actual or potential tissue damage, or described in terms of such damage.* Accordingly, it is now well-accepted that pain encompasses a systemic response that can be detected or perceived over quite different scales and systems.

Here we have asked whether pain perception might be encoded through different physiological signals and we sought to assess their possible interactions. The physiological response to pain has been addressed previously using approaches like near-infrared spectroscopy (fNIRS) [9], laser Evoked Potential (LEPs) [10], EEG [11]–[13] and PPG [14], [15], yet these signals are typically analyzed separately. Moreover, the paradigm to produce painful stimulation relies on human intervention [16] or environmental factors [17], which may compromise the reliability of these results. By contrast, the device we have designed produces well-controlled painful stimulation. Although not yet approved by the Food and Drug Administration (FDA), General Electric Healthcare introduced the Surgical Pleth Index (SPI) to measure the increase in sympathetic activity from the PPG signal in response to painful (nociceptive) stimuli [18]. However, the SPI only works in conjunction with general anesthesia and thus, much of the cortical processing that occurs when a painful stimulus is received is also ignored. Moreover, the precise relationship between the entropy of physiological responses and pain perception remains unclear. Nevertheless, the relationship between variations in entropy following exposure to a nociceptive stimulus has been assessed previously [19], showing an increase in the spatial entropic patterns in response to painful stimuli.

Here we have studied the dynamic physiological interactions that are produced in response to a painful stimulus in an attempt to advance the perception of pain. In contrast to other studies, we have designed and used a device that objectively controls the painful thermal stimulus generated, whilst synchronously recording electrical neuronal activity and some hemodynamic parameters. The main working hypothesis is that by simultaneously monitoring these variables in response to a painful stimulus and comparing them to the basal response, novel aspects of sympathetic excitation and regulation might be revealed in relation to the perception of pain. From the data obtained, we intend to validate the usefulness of our system to evaluate groups of patients with different pathologies associated with abnormalities in the PNS.

II. METHODS

A. Hardware

To design and manufacture an electronic device to generate the stimuli, we used OrCAD (version 16.6 Lite) to automate the production of the printed circuit, the board design and photolithography, and for the chemical etching to finally manufacture the boards. Once the circuit boards were designed and manufactured, the electronic components were inserted and soldered onto them at the Electronic Technology laboratory in the Bilbao School of Engineering. Very briefly, the platform is composed by a brand-new thermal stimulus generator and a Biopac (BioPac Systems, Inc, Student Lab MP36), a registered device that captures EEG and PPG signals simultaneously through silver/silver chloride gel type sensors. The thermal stimulus generator is made up of 4 electronic interconnected boards, one for the power supply, and the three following more:

- A temperature controlling board to generate the pulse-width modulation to the power board to regulate the electric current through the Peltier modules.
- A heat-cool selector board to switch between hot and cold generation in Peltier plates, mainly due to a 30 A relay.
- A power board to transfer power to the Peltier plates implemented by a full-bridge N-channel power MOSFET, followed by a LC output filter to smooth the output current.

The Hot-Cold spots of the thermal stimulus generator are regulated using a 120 Watt Peltier module (40x40 mm, TEC1-12710), with internal structure formed by stacked layers of very small cells which assure a smooth homogeneous heat distribution. The module is built on top of a 120 Watt capacity air cooler and covered by a thermal pad (conductivity >4 W/mK, Laird Technologies, 110x100x2.5 mm) on which the hand palm is placed always in the same position.

We used MATLAB (version R2017a, MathWorks Inc., Natick, MA, USA) to create the user interface, connecting it to the hardware device that generates the stimuli, to process the physiological signals, run the spectral entropy (SE) algorithms, present the results and prepare the final images. The Biopac system was configured to read the physiological variables and the data obtained was processed using the AcqKnowledge software (version BSL PRO 3.7), which records, analyses and filters the data in real-time, presenting it as a continuous record, an X-Y chart or a histogram.

B. Participants and Ethical Considerations

The study was carried out on 35 healthy volunteers (20 men; 15 women) recruited at the University of the Basque Country and with a mean age of 30.46 years (SD 4.93 years). For demographic details see Table I. All the participants provided their signed informed consent and the study was approved by the Ethical Committee of the University of the Basque Country (project code 2017/092). The data were acquired according to the guidelines laid down by the University's Ethical Committee and the Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects set out in the Helsinki Declaration. The inclusion criteria were to be aged between 20 and 40 years-old and to

TABLE I
SEX, AGE, HAND STIMULATED AND HEAT PAIN THRESHOLD (HPT) (°C) FOR ALL PARTICIPANTS (N = 35, 20 MEN; 15 WOMEN.)

Subject I	Sex	Age	Hand Heated	HPT
" 2	M	32	Right	43.23
" 3	F	28	Right	45.02
" 4	M	24	Right	41.23
" 5	F	30	Right	44.12
" 6	M	30	Right	43.00
" 7	M	33	Right	42.75
" 8	M	36	Right	38.80
" 9	M	33	Right	41.89
" 10	F	36	Right	42.13
" 11	F	31	Right	41.60
" 12	F	31	Right	44.42
" 13	M	23	Right	44.03
" 14	F	30	Right	43.47
" 15	M	31	Right	40.98
" 16	F	40	Left	42.82
" 17	F	20	Right	42.60
" 18	M	20	Right	44.67
" 19	M	38	Right	41.22
" 20	M	26	Right	42.32
" 21	F	25	Right	42.49
" 22	F	31	Right	43.07
" 23	M	30	Right	42.89
" 24	M	36	Right	44.10
" 25	M	36	Right	44.23
" 26	M	31	Left	44.10
" 27	M	31	Left	41.52
" 28	F	24	Left	43.10
" 29	F	30	Left	41.35
" 30	M	33	Left	41.56
" 31	F	27	Left	41.84
" 32	M	33	Left	44.10
" 33	M	28	Left	44.3
" 34	F	22	Left	40.95
" 35	M	35	Left	41.83
" 36	F	26	Left	41.91

have provided signed informed consent. The age interval of 20-40 years old was chosen due to two major reasons: 1. To control the effect of age, and therefore eliminating paediatric or old populations. 2. For ethical committee recommendations as this study recruited participants in the university environment, dominating this interval of age. The exclusion criteria were any diagnosed illness, medication use or drug consumption in the month prior to testing, the refusal of the volunteer to participate in the study or the consumption of energetic drinks immediately prior to testing.

C. Capture and Cleaning of Physiological Signals

Before starting the experiments, the subjects were seated near a table with a computer on it, listening to relaxing music so that the experiments commenced in a calm and emotional state. In order to minimize eye-blinking artifacts, all subjects were asked to remain silent with their eyes closed, and to stay still without crossing their legs throughout the experiment.

The physiological variables captured were the EEG signals from both cerebral hemispheres and the PPG signals from the contralateral hand to that being heated by the Peltier cell (see Fig. 1(a)).

The EEG signals were obtained through six electrodes situated in accordance with the Electrode Position Modified Combinatorial Nomenclature [20], two on one cerebral hemisphere, another two on the other hemisphere and two more as reference points. The electrodes used were silver/silver chloride gel types. The EEG electrodes were located on the forehead using a bipolar arrangement, measuring the differentiated voltages between the FP1 (Frontal Pole) and AF7 (Anterior Frontal) electrodes in one of the channels, and between the symmetrical FP2 and AF8 points in the second channel. For the reference electrodes, the first channel uses an electrode in the lower front central position, while the second channel uses the upper front central position. A differential distribution was employed with separate but analogous reference points, such that the readings from the left and right hemispheres are largely comparable. The EEG electrode location at the frontal positions guarantees a superior amplitude and integrity of the signals acquired, resulting in a lower impedance of the electrode-skin interface. Moreover, the prefrontal locations of the EEG might modulate the pain-related autonomic response [21].

The PPG signal was acquired by attaching a transducer to the tip of the index finger, consisting of a matched infrared emitter and a photodiode detector that transmits the changes in infrared reflectance resulting from the variation in blood flow. When the PPG transducer is placed on the skin, close to the capillaries, the reflectance of the infrared light from the emitter to the detector will change in accordance with the capillary blood volume, enabling the blood volume pulse waveform to be recorded. It is important to note that the PPG signal is an efficient and interesting alternative to measure heartbeat intervals, since it is simpler than the electrocardiogram while achieving a precise measurement for heart rate variability [22].

All the signals were filtered with a 38.5 Hz Low Pass Notch Filter incorporated into the series amplifier modules of BioPac, thereby eliminating the 50 Hz mains interference. Two differentiated signals (FP1 minus AF7 and FP2 minus AF8) were obtained and filtered using a recent data-driven algorithm that removes ocular and muscle artifacts from the single-channel data, referred as the surrogate-based artifact removal (SuBAR) method [23]. Although the full details are given elsewhere [23], the algorithm briefly performs: 1. Z-score of the data; 2. Maximal Overlap Wavelet Transform (MODWT) of the data, using symlets of order 5 and with 5 levels of decomposition; 3. Removal of artifacts, defined as the values of the wavelet coefficients that are outliers relative to the distribution of the values obtained from the data surrogates (to identify outliers, we considered a 5% significance level and the outlier coefficients were eliminated by substituting their values with the average coefficients obtained from the surrogates); 4. Reconstruction of the time-domain signal using the inverse MODWT and the cleaned coefficients. All the calculations were implemented in MATLAB (version R2019a, MathWorks Inc., Natick, MA, USA).

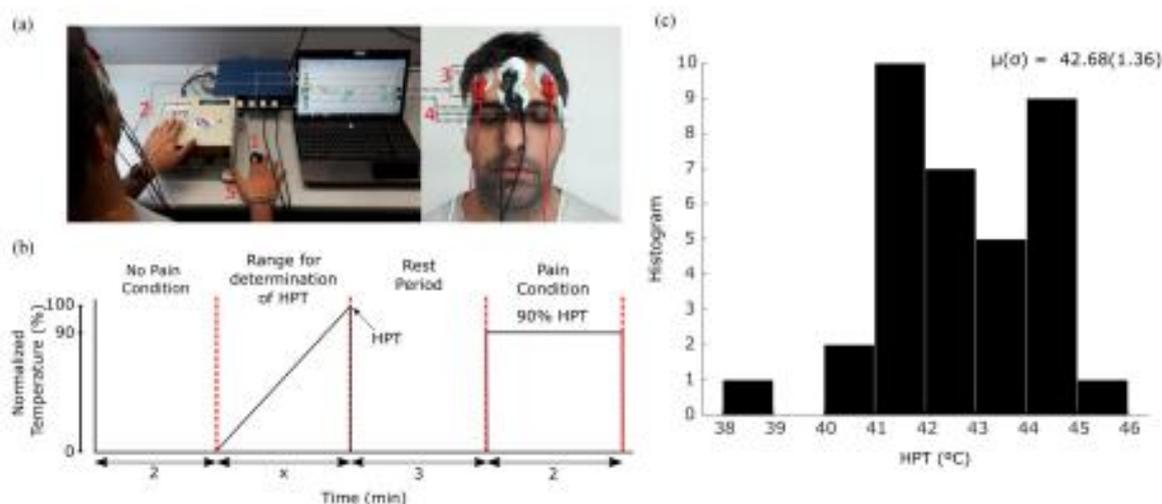


Fig. 1. Device for pain perception studies. (a): System for the capture and recording of physiological signals. The PPG sensor (1) is attached to the distal phalanx of the index finger of the subject's hand, while the opposite hand is placed on the Peltier cell (2). The electrodes for the EEG signals (3,4) are placed on both sides of the forehead. Finally, the push-button is used to determine the thermoalgesic threshold. (b): Pain stimulation is divided into four distinct regions, the first lasts 2 min in the absence of any painful stimulation to define the no pain condition. The second focuses on calculating the heat pain threshold (HPT) of \pm min, which was different for each participant. This phase was achieved by increasing the temperature in increments of 0.5°C up to the HPT, the maximum temperature that the subject withstood. After a rest period of 3 min, a final regime to define the pain condition was achieved at the temperature equivalent to 90% of the HPT, lasting for 2 min. (c): HPT histogram of all the participants, indicating the mean μ and standard deviation σ .

D. Stimulation Protocol

The system for data capture is shown in Fig. 1(a). There are two main elements to this set-up, the BioPac and the equipment to generate the stimulus connected to a portable unit. The Acq-Knowledge program displays the signals received from the PPG sensor (1), the sensor temperature (2) and the EEG (3,4), as well as the reference points inserted by a push-button to mark the point the heat pain threshold is reached (5), the maximum temperature that the subject can withstand in terms of exposure to heat pain. The no-pain condition (control) was obtained in complete absence of a painful stimulation (Fig. 1(b)), measuring the electrophysiological signals while keeping the participant's hand off the Peltier cell. This condition persisted for two minutes.

Signals were recorded over another two or three minutes to estimate the heat pain threshold (HPT) [24]. This was calculated while the participant placed one hand on the Peltier cell, recording the variables using the BioPac and progressively increasing the cell's temperature in a controlled fashion, varying it in increments of 0.5°C up to the maximum temperature that the participant withstood, the HPT. This value was subject-dependent. The strategy of progressively increasing the temperature was critical in these experiments and it was performed in this way to achieve dual activation of the C receptors responsible for heat sensing and the A δ fiber receptors that process noxious stimuli [25], [26].

A 2 minute recording was obtained during the pain stimulus, defined at a temperature equal to 90% of the HPT and chosen in this way as the maximum as possible without exceeding the Ethical Committee's recommendations. All the temperature

values were transformed to values relative to the HPT and this normalization permits a comparative analysis across subjects.

Our study only included one experiment per subject.

E. Spectral Entropy to Detect Pain Perception

The SE is a generalization of the Shannon entropy, where the state probability $p(x)$ is replaced by a normalized power spectral density $p(f)$, which represents the probability density function of the power as a function of frequency. Here, the power SE was calculated through the absolute square of the Fast Fourier Transformation, calculated with the function `fft` in MATLAB. After normalization, we obtained $p(f)$ and from there, the one-dimensional spectral entropy was calculated as:

$$\text{SE1} = - \sum_f p(f) \log p(f), \quad (1)$$

and applied individually to the three signals: EEG1 (left hemisphere), EEG2 (right hemisphere), and PPG.

For the two-dimensional SE we made use of the two-dimensional Fast Fourier `fft2` transformation in MATLAB, and after normalization, we defined:

$$\text{SE2} = - \sum_{f_1} \sum_{f_2} p(f_1, f_2) \log p(f_1, f_2), \quad (2)$$

applied to any pairs of variables in the triplet EEG1, EEG2 and PPG.

Here, both SE1 and SE2 were calculated in 80%-of-overlapping windows of 5 Hz, and the code can be downloaded at <https://github.com/compneurobilbao/spectral-entropy-maider>.

Our choice of spectral entropy is motivated by the fact that different brain functions such as attention, memory consolidation, sleep, sensory processing, are well known to occur at specific EEG frequency bands. Here, for comparison purposes, we also made use of two well known time-domain entropies [27]–[30], such as Permutation Entropy and Multiscale Sample Entropy.

F. Statistical Analyses

For both SE1 and SE2, we calculated the FFT using the Blackman window function (implemented as *blackman* in Matlab) over time windows of 500 time points, and with a sampling frequency of 500 Hz, corresponding to 1 sec. After sliding the time window, we obtained a time series for SE1 and SE2, the latter representing a temporal sequence of the SE2 matrices. For each frequency value, the final SE1 and SE2 values were obtained by averaging all the entropy values in the temporal dimension. These temporal mean values of SE1 and SE2 were those used for the statistical comparison between the pain and no-pain conditions.

The discriminability between conditions was calculated as $D \equiv \log_{10}(\text{pvalue})$, following the next four stages: We first calculated the SE1 and SE2 time series for each condition and subject, and we then averaged the two metrics over the entire time dimension. We then employed a Wilcoxon signed-rank test between the conditions, with the different subject measures considered as observations. This non-parametric test chosen for the comparison is valid for the case of non-Gaussian distributed data. Finally, to correct for multiple comparisons we applied a false-discovery-rate (FDR) and Bonferroni corrections, the latter using a significance threshold equal to $p^* = \frac{\alpha}{\mathcal{F}}$, where \mathcal{F} corresponds to the number of different frequencies used to compare the SE values (40 EEG and 10 for PPG). All the statistical analyses were performed in MATLAB (version R2019a, MathWorks Inc., Natick, MA, USA).

III. RESULTS

A cohort of $N = 35$ subjects participated in the study. We obtained a HPT value for each subject when stimulated with our device (Fig. 1(c)), with a mean HPT of 42.68°C (SD 1.36). For individual HPT values see Table I. There were apparently no significant gender differences in the HPT, as witnessed when the HPT of a subgroup of males ($N=15$, mean age 30.04 years: $t\text{-test} = -0.46$, $p\text{-value} = 0.64$) was compared with an age matched group of females ($N = 15$, mean age 29.23 years: $t\text{-test} = -0.45$, $p\text{-value} = 0.63$). This result was consistent with previous studies showing no differences over an age range similar to ours [31]. Importantly, normalization of the temperature values to the HPT allowed the two conditions of pain and no-pain to be defined independently of the participant, making the different metrics across participants and conditions comparable.

The SE values obtained from the different physiological signals between the pain and no-pain conditions were compared following the procedure explained in Fig. 2.

The statistical significance of all the possible comparisons was assessed with the discriminability (D) obtained from the p -values after a Wilcoxon signed-rank test was performed on the

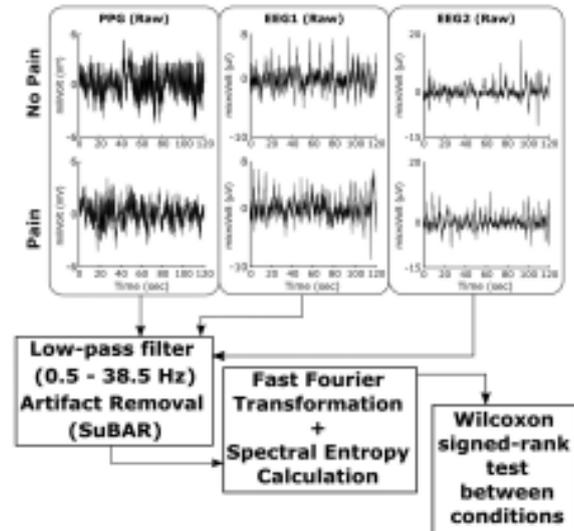


Fig. 2. Signal processing workflow and statistical analysis. For the analysis, we first separated the signals belonging to the different conditions, pain or no pain, applying a band-pass filter and artifact removal to each signal. The `fft` MATLAB function was then used to calculate the power spectrum, which was used to assess the spectral entropy (SE) at different frequency bands and with frequency windows of 5 Hz. Finally, we compared the SE across different conditions over different frequency ranges and across different participants.

data from the different conditions (Methods, the discriminability is illustrated in Fig. 3(a) for the 1D case). Initially, the SE1 time series was calculated for each condition and participant, and the temporal averages were then calculated. These values were compared between conditions and across the different subjects (Fig. 3(a)), representing the value of D as a function of the different frequencies over which the comparisons were performed, i.e.: in the range of 1 to 40 Hz for the EEG and 1 to 10 Hz for the PPG.

As explained in the methods, SE1 was calculated within a window of size 5 Hz for each frequency value on the x-axis. Thus, the entropy was calculated in the range from 1 to 6 Hz for the value of 1 Hz on the x-axis, and in the range from 2 to 7 Hz for the value of 2, etc. Because the EEG and the PPG had different upper limits along the x-axis, the Bonferroni significance threshold also differed for the two modalities, as \mathcal{F} was equal to 40 for the EEG and 10 for the PPG.

SE1 was able to discriminate the pain condition for the three sets of sensory data, EEG1 (purple line), EEG2 (yellow line) and PPG (green line), with the major discriminability found at 25–30 Hz for the EEG and at 5–10 Hz for the PPG (the region of Bonferroni significance is illustrated in Fig. 3(a) with a transparent dark-gray rectangle, while that for FDR correction is marked in light-gray). The evolution of SE1 over time was obtained from the three signals during 20 sec, which corresponded to 10000 time points for a sampling frequency of 500 Hz (Fig. 3(b)). After taking the temporal average of SE1, the mean entropy

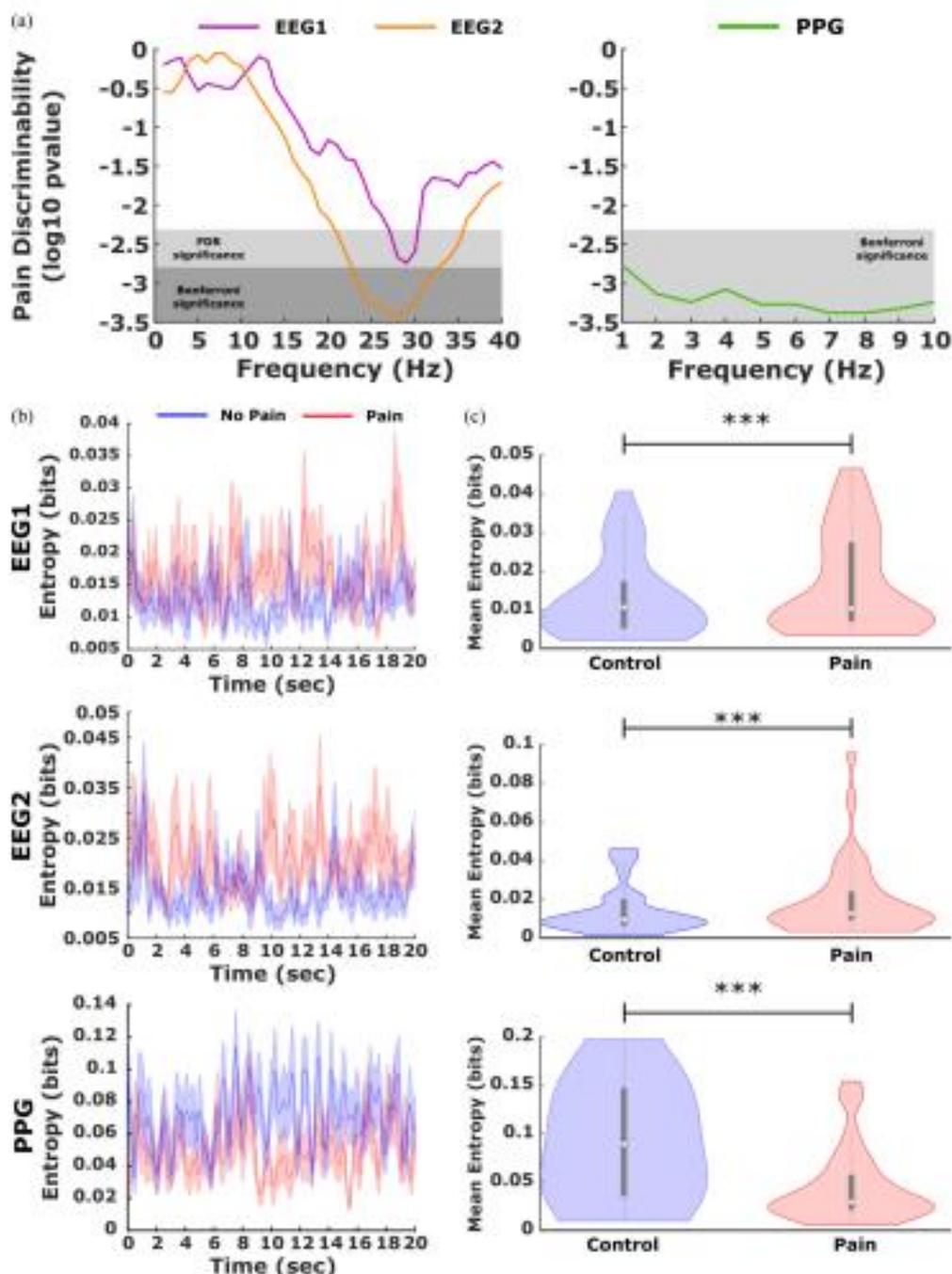


Fig. 3. Discriminability of painful stimulation by 1D spectral entropy. (a): Discriminability $D = \log_{10}(pvalue)$ as a function of the different frequencies over which the conditions were compared for values of SE1 using a Wilcoxon signed-rank test (Methods). For each signal and condition, SE1 was calculated over the entire time series. The temporal average was then taken and the resulting mean values of SE1 compared between the two conditions. Frequencies range from 1 to 40 Hz for the EEG and from 1 to 10 Hz for the PPG. For each frequency value on the x-axis, SE1 was calculated within a window of 5 Hz. Thus, for the value of 1 Hz in the x-axis, entropy was calculated in the range 1-6 Hz and similarly, for a value of 2 Hz it is in the range from 2-7 Hz. The FDR region and Bonferroni correction significance is marked by light and dark gray rectangles, respectively. (b): SE1 as a function of time for fixed frequency values (29 Hz for EEG1, 28 Hz for EEG2 and 7 Hz for PPG) over a time interval of 20 sec. (c): After averaging the temporal signal of SE1 (illustrated in panel B), comparing the conditions highlighted significant differences between pain and no pain for all signals. The gray rectangles within the violins represent the first and third quartiles, and the white dot within those rectangles represents the median of the distributions: *** indicates $p < 0.005$.

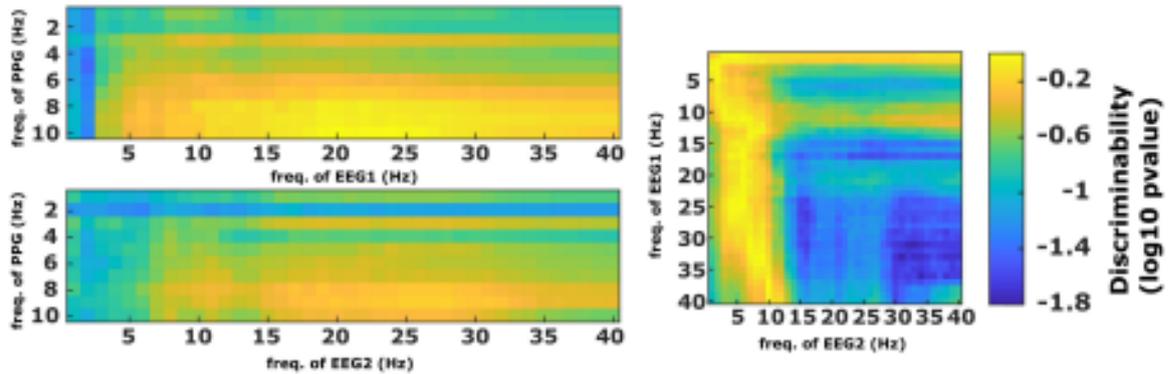


Fig. 4. **Discriminability of painful stimulation by 2D spectral entropy.** A similar strategy was followed to the SE1 strategy (Fig. 3) but now calculating the 2D spectral entropy (SE2). After comparing the values of the temporal mean of SE2 matrix entries using a Wilcoxon signed-rank test for different conditions (pain vs no pain). The surfaces of discriminability achieved by pairs of different signals (EEG1, EEG2), (EEG1, PPG) and (EEG2, PPG) were represented across different frequency ranges. Similar to SE1, SE2 was also calculated in squared windows of 5×5 Hz². The abbreviation freq. in the axis labels indicates frequency.

across participants provided significant differences between the conditions, as illustrated in Fig. 3(c). The values of maximum discriminability of SE1 for the three classes of signals EEG1, EEG2 and PPG were achieved at 29 Hz ($p < 10^{-2}$), 28 Hz ($p < 10^{-3}$) and 7 Hz ($p < 10^{-3}$), respectively.

The frequency band filtering of the signal for the discrimination of the painful vs the control stimulation was striking. When assessing discrimination using time-domain entropies with no filtered signals, neither the Permutation Entropy or the Multiscale Sample Entropy provided significant condition differences. However, when calculating these time-domain metrics to the windowed filter signal both the EEG and PPG did find significant differences (EEG1, freq. in 25-30 Hz, $p = 0.036$; PPG, freq. in 1-10 Hz, $p = 0.001$).

We also assessed the discriminability between the conditions that achieved SE2, analyzing the 2D SE values at different frequencies for the pairs of signals (EEG1, EEG2), (EEG1, PPG) and (EEG2, PPG), as well as across different frequency ranges (Fig. 4). Like SE1, SE2 was also calculated in squared windows of size 5×5 Hz². None of the comparisons of SE2 survived the Bonferroni correction or the FDR and thus, we only report here the uncorrected p-values. The values of maximum discriminability and the associated p-values occurred at (2,5) Hz for (PPG, EEG1: $p < 10^{-2}$) and at (33,31) Hz for (EEG1, EEG2: $p \approx 0.01$), yet they were not significant for PPG,EEG2 ($p = 0.05$).

IV. DISCUSSION

Pain perception is a prototypic example of a well-orchestrated systemic response. Here, we have developed a compact device to simultaneously record physiological brain and heart parameters in response to a well-controlled painful thermal stimulus. The device consists of a Peltier cell that allows the temperature to be precisely varied under the control of an external computer, two EEG frontal electrodes (attached to the left and right hemispheres) and a PPG sensor located on one finger of the opposite

hand to that on which the Peltier cell is placed. This platform can provide very precise information on the thresholds of maximum thermal tolerance to heat, which can potentially serve to assess novel strategies for both the diagnosis and follow-up of different pathological conditions.

Several studies have assessed the brain's response to heat induced pain using EEG [32]–[34], yet the novelty of this study is that a compact set-up has been developed to record the physiological responses of the heart and the brain while a subject receives a painful heat stimulus. This device enabled the mean heat pain threshold to be assessed in the cohort, defining a threshold of 42.68 °C in a population with a mean age of 30-years-old. This result was consistent with previous studies using quantitative sensory testing (QST) [24], [31], thereby validating the reliability of our device to measure heat pain thresholds.

Differences in pain perception between right and left hands were assessed before [35], [36]. In our cohort, we heated the right hand in 23 subjects and the left hand in the remaining 12 participants. For details see Table I. Our data did not show differences between left vs right heated hands (t-test = 1.58, p-value = 0.129). Furthermore, it is important to note that these values were obtained when heating one of the subject's hands for the first time. When we repeated the same procedure a second time on the contralateral hand soon after heating the first hand, the physiological response of the PPG differed from that reported here (data not shown). Hence, heating one hand affected the physiological response of the subsequent heating of the contralateral hand. Accordingly, further studies will be needed to fully clarify these relationships as here we focused on signals from the initial heating of one of the hands.

Our study shows that thermal pain is characterized by a reduction in the entropy of the heart response measured by PPG, which suggests that in addition to the autonomic nervous system's response, exposure to a thermal pain stimulus decreases the unpredictability of physiological systems as measured by their SE. In agreement with previous studies, we propose that

upper supraspinal centers might fulfil a critical role in this physiological process [37]. Moreover, the posterior ventral nucleus of the thalamus might also coordinate the visceral sensitivity as it is activated by mechanical and thermal stimuli in a nociceptive range [38]. Furthermore, we suggest that the primary and the secondary somatosensory cortex, in addition to the Anterior Cingulate Cortex might be involved in this physiological mechanism [39], [40].

The novelty of our pain perception biomarkers relies on a combination of different aspects: a physiological response of the brain measured by the EEG while simultaneously recording the hemodynamics measured by the PPG. Moreover, we have exposed the subjects to a well control varying thermal stimulus using a new setup that allows the discrimination of pain vs control conditions within a specific range of frequencies. As far as we know previous studies incorporating all these ingredients have not been reported yet.

Other algorithms based on SE in different frequency bands have been introduced to monitor physiological states. The most widely known is the bispectral index (BIS), which is used in daily clinical practice to monitor the depth of anesthesia during surgical interventions in real-time [41], [42]. Through a device that uses four EEG electrodes located on the patient's forehead to measure the brain's electrical activity, BIS calculates the SEs in different frequency bands and combines them using a proprietary algorithm to produce a numeric index between 100 (no anesthesia) and 0 (maximum anesthesia, where the level of consciousness measured by the frontal EEG activity is zero). The FDA have validated that BIS levels between 40 and 60 are adequate for general anesthesia during surgical interventions. For pain perception, such FDA-approved indices do not exist to date.

It is well-known that several chronic pain syndromes are associated with alterations to the activity of the Descending Nociceptive Inhibitory System (DNIS), such as fibromyalgia, painful diabetic neuropathy and lower back pain [43]–[45]. The DNIS is comprised of a network of cortical and subcortical brain areas, including the anterior insula, middle frontal gyri and amygdala, and the rostral ventromedial medulla and periaqueductal gray brainstem regions, which can inhibit nociceptive afferent brain input [46], [47]. A relationship between the DNIS and Heart Rate Variability (HRV) has been shown, whereby patients with an impaired DNIS have a lower resting HRV [48], consistent with the reduced entropy found here [49], [50]. Moreover, an abnormally low HRV was detected in a group of individuals with Chronic Fatigue Syndrome, indicating that they might have weaker parasympathetic modulation of their heart rate [51]. In other chronic pain syndromes like fibromyalgia, a reduced HRV was thought to reflect weaker emotional adaptability and resistance to stress [52].

Our findings reveal a close relationship between pain perception and the brain's physiological entropy at different frequencies, in agreement with previous studies showing that pain is associated with a spatially extended network of dynamically recruited brain areas, resulting in complex temporal-spectral patterns of brain activity [53]. In particular, pain produces individual variations in the SE of both EEG and

PPG at different frequencies (measured by SE1), as well as in their bi-dimensional interaction (as by SE2). Pain-related neuronal oscillations were observed previously at Theta (4–7 Hz), Alpha (8–13 Hz), Beta (14–29 Hz), and Gamma (30–200 Hz) frequencies [54]–[57]. Here, we found that both left-hemisphere EEG and right-hemisphere EEG have the best discrimination of the painful stimulus in the Beta and Theta band, and then in the Alpha and Gamma bands, as seen elsewhere [53], [54], [58].

Our work is a first step advancing in the manufacturing and analyses of systemic response to thermoalgesic stimulation, but it has also some limitations. First, although we tried to keep the volunteers calm by playing relaxing music while recording the physiological response to the thermoalgesic stimulus, we did not control the arousal, attention or salience, nor did we assess cognitive appraisal before or during the experiment. Second, we focused this study on thermoalgesic stimulation, yet different painful stimuli could be incorporated into our device for future studies, for instance mechanical pain, providing greater sensitivity and specificity to discriminate different classes of painful stimulation. Third, different to what is typically performed in EEG experiments where multiple stimulus-response trials are recorded, we did not repeat painful stimulation to the same subjects hand, as the physiological adaptation or conditioning of the nerve fibers might change the results. Future studies assessing the repeatability of painful stimuli are needed for further understanding of these complex interactions. Fourth, the temperature of the Peltier cell was varied in increments of 0.5 °C to achieve the activation of C receptors (responsible for heat processing) together with that of the A δ fiber receptors (responsible for noxious processing stimuli) [25], [26], a critical constraint to our design. Moreover, we did not assess systematic variations in the increasing temperature intervals, but future studies should also explore different protocols for increasing temperature. Fifth, our protocol did not allow the thermoalgesic exposure to heat to be randomized, which could possibly be incorporated into the stimulation protocol in future studies. Finally, the young adult healthy population recruited here did not show differences between left and right hands. However, whether significant differences might exist in some pathological conditions is intriguing and should be clarified elsewhere, as this is beyond the scope of the present work.

In summary, our compact device allows brain and heart physiological signals to be recorded simultaneously in response to well-controlled thermal pain stimuli. We show that the SE of the physiological signals can discriminate pain states. Future work should validate similar metrics based on SE for the on-line variation of painful stimuli, or the dynamic on-line interaction between PPG and EEG signals, for instance using Granger causality [59]–[62] or transfer entropy [63], [64], as used previously to establish different dynamic brain mechanisms in pain-related conditions like migraine [65], [66]. Last but not least, future studies should assess whether our dual EEG and PPG system is useful to study some pathological conditions in which the autonomic nervous system functions abnormally, such as small fiber neuropathies, fibromyalgia or painful diabetic neuropathy.

8. ANEXO II: DIAGRAMA TEMPORAL CON LA SUCESIÓN DE LOS HITOS PRINCIPALES

Cabe mencionar que la dedicación a la investigación ha sido a tiempo parcial por lo que es interesante mostrar un resumen gráfico de los principales hitos del estudio, ya que se han espaciado en un horizonte de 10 años:

