

Uso de las Memorias Morfológicas Asociativas para el análisis de estrategias de afrontamiento en el estrés social en ratones

Miguel Angel Veganzones¹ {miguelangel.veganzones@ehu.es}, Zurine De Miguel² {zmiguel001@ikasle.ehu.es}, Arantza Azpiroz² {arantza.azpiroz@ehu.es}

¹Grupo de Inteligencia Computacional, ²Departamento de Procesos Psicológicos Básicos y su Desarrollo, Universidad del País Vasco (UPV/EHU)

Resumen Este artículo presenta una nueva técnica de análisis multivariante basada en el uso de Memorias Morfológicas Asociativas (AMM en sus siglas en inglés). Esta técnica permite reducir la dimensionalidad de los datos transformando el espacio de variables en un nuevo espacio más reducido con poca pérdida de información. Para ello, identifica factores extremos en la población de datos y representa a los sujetos de la población en función de estos factores. Este trabajo demuestra la utilidad de esta técnica mediante su uso en el análisis de datos extraídos de la experimentación con ratones para la identificación de estrategias de afrontamiento en el estrés social.

Palabras clave: memorias morfológicas asociativas, análisis multivariante, análisis de componentes principales, análisis de componentes independientes, estrés social, estrategias de afrontamiento, experimentación con animales

1. Introducción

El análisis de datos multivariante [4,8] es un método estadístico utilizado para determinar la contribución de varios factores (variables independientes o variables descriptivas) en un simple evento o resultado (evento, variable dependiente o variable respuesta) [19]. En el análisis multivariante se usan diversas técnicas que van desde las técnicas de regresión a las técnicas de proyección sobre variables latentes (variables no observadas). Estas últimas presentan varias ventajas sobre las tradicionales técnicas de regresión: (a) se puede utilizar la información de múltiples variables de entrada, aunque éstas no sean linealmente independientes; (b) se puede trabajar con muestras que contengan más variables que observaciones; (c) se puede trabajar con muestras incompletas, siempre que los valores faltantes estén aleatoriamente distribuidos y no superen un 10%; (d) puesto que se basan en la extracción secuencial de los factores, que extraen la mayor variabilidad posible de la matriz muestral (variables explicativas, tienen que ser dependientes) se puede separar la información del ruido.

Las técnicas de proyección sobre variables latentes cobran mayor relevancia cuando las observaciones analizadas tienen una alta dimensionalidad (muchas

variables). En estos casos aparece la denominada "Maldición de la Dimensionalidad (Curse of Dimensionality)", término acuñado por Richard Bellman (1961) y que denota el crecimiento exponencial de un hipervolumen en función de la dimensionalidad. En estadística, este efecto está relacionado con el hecho de que la convergencia hacia el valor "cierto" de cualquier estimador de una función suave en un espacio de alta dimensionalidad es muy lenta. Existen otros aspectos interesantes de la alta dimensionalidad como la concentración de la medida y la concentración de la distancia que indican respectivamente que, según aumenta la dimensionalidad, las observaciones de una función se concentran alrededor de su esperanza y que las distancias entre las observaciones se hacen equivalentes. Las técnicas de proyección sobre variables latentes tales como el Análisis de Componentes Principales (PCA en sus siglas en inglés) y el Análisis de Componentes Independientes (ICA en sus siglas en inglés) resultan interesantes no sólo por el hecho de que revelan las variables no observadas del sistema, transformando el espacio de variables original en un nuevo espacio más representativo de la población, sino porque dicha transformación suele conllevar una reducción de la dimensionalidad, disminuyendo sustancialmente la complejidad del problema a cambio de una pequeña pérdida de información.

En este artículo se presenta una nueva técnica de análisis multivariante basada en las Memorias Morfológicas Asociativas (AMM) que hacen uso del concepto de independencia morfológica [5] para obtener factores extremos de la población. Estos factores permiten definir un nuevo espacio de representación de la población, más representativo, descriptivo y de menor dimensionalidad. La técnica de AMM ha sido usada con éxito anteriormente para la extracción de endmembers en imágenes hiperespectrales [7,2].

En la sección 2 se hace una revisión de las técnicas que más habitualmente se emplean en el análisis multivariante, enfocándose especialmente en las técnicas de Análisis de Componentes Principales y el Análisis de Componentes Independientes. En la sección 3 se presenta la técnica de análisis multivariante basada en el uso de Memorias Morfológicas Asociativas. En la sección 4 se demuestra la utilidad de dicha técnica en el análisis de datos extraídos de la experimentación con ratones para la identificación de estrategias de afrontamiento ante el estrés. En la sección 5 se presentan las conclusiones y trabajos futuros.

2. Técnicas de análisis multivariante

El análisis estadístico de poblaciones definidas mediante varias variables puede estar orientado en varias direcciones. Por un lado las observaciones pueden presentar características comunes que permitan realizar una clasificación en grupos homogéneos (análisis de cluster, análisis discriminante, árboles de decisión, etc.). Por otro lado, puede que las observaciones recogidas sean redundantes, para lo que son necesarios métodos multivariantes de reducción de la dimensión (análisis en componentes principales, análisis factorial, correspondencias, escalamiento óptimo, etc.) que permitan reducir la dimensionalidad del problema eliminando la redundancia en las observaciones. Finalmente, puede ser que se

desea conocer el comportamiento de una variable en función de otras, o incluso, predecir su comportamiento dadas otras variables conocidas (regresión lineal, regresión logística, regresión no lineal, análisis de la varianza, etc.).

El análisis multivariante mediante Memorias Morfológicas Asociativas implica la selección de nuevas variables y la proyección de las observaciones en este nuevo espacio de representación. Por ello, se enmarca dentro de las técnicas de proyección de variables latentes, así como las técnicas de Análisis de Componentes Principales y Análisis de los Componentes Independientes que van a ser expuestas a continuación.

2.1. Análisis de Componentes Principales (PCA)

El Análisis de Componentes Principales (Hotelling 1933) es una técnica de análisis multivariante que se aplica sobre variables cuantitativas. El objetivo es obtener un conjunto de componentes incorrelacionadas y escaladas, las componentes principales, a partir del análisis de la interdependencia de las variables originales. Las componentes obtenidas son una combinación lineal de las variables originales y deben interpretarse dentro del fenómeno estudiado. Es, por tanto, una técnica descriptiva. Esta técnica es útil por dos motivos:

1. En general, cuando se estudia un fenómeno, los investigadores disponen de un conjunto de variables observadas que están correlacionadas entre sí en mayor o menor grado, y que dificultan la interpretación de los datos. PCA permite obtener un nuevo conjunto de variables, las componentes principales, que están incorrelacionadas y libres de efectos de escala, facilitando la interpretación de los datos.
2. Las componentes principales son combinación lineal de las variables observadas originalmente. Se pueden obtener tantas componentes principales como variables originales, pero no todas las componentes principales proporcionan la misma cantidad de información. De esta manera, se pueden elegir aquellas componentes principales que aporten mayor información desechando las restantes. Esto hace que PCA se utilice como una herramienta de reducción de la dimensionalidad.

Sea una muestra de n observaciones de p variables X_1, \dots, X_p inicialmente correlacionadas, se desea obtener un número $k \leq p$ de variables incorrelacionadas Z_1, \dots, Z_k que sean combinación lineal de las variables originales y que expliquen la mayor parte de su variabilidad. Cada componente principal Z_h puede expresarse como una transformación ortogonal U de las variables originales:

$$Z_h = u_{h1}X_1 + u_{h2}X_2 + \dots + u_{hp}X_p \quad (1)$$

En notación abreviada:

$$Z_h = XU_h \quad (2)$$

En general, la técnica de PCA se aplica sobre variables tipificadas o sobre variables expresadas en desviaciones sobre la media para evitar problemas derivados de la escala. De esta manera, la media de las variables originales es cero y la suma de las varianzas de las componentes extraídas es igual a la suma de las varianzas de las variables originales, que es igual a p si las variables están tipificadas.

Cálculo de las componentes principales. Para calcular *el primer componente principal* se busca la combinación lineal de las variables originales con mayor varianza. La media y varianza de dicha componente Z_1 es:

$$E(\mathbf{Z}_1) = E(\mathbf{X}\mathbf{U}_1) = E(\mathbf{X})\mathbf{U}_1 = 0 \quad (3)$$

$$V(\mathbf{Z}_1) = \sum_{i=1}^n \frac{1}{n} z_{1i}^2 = \frac{1}{n} \mathbf{Z}_1^T \mathbf{Z}_1 = \frac{1}{n} \mathbf{U}_1^T \mathbf{X}^T \mathbf{X} \mathbf{U}_1 = \mathbf{U}_1^T \left[\frac{\mathbf{X}^T \mathbf{X}}{n} \right] \mathbf{U}_1 \quad (4)$$

Para variables expresadas en desviaciones respecto a la media, la expresión $\frac{\mathbf{X}^T \mathbf{X}}{n}$ (matriz de inercia) es la matriz de covarianzas muestral, Σ (caso más general), y si las variables están tipificadas la matriz de inercia se corresponde con la matriz de correlaciones R . La primera componente se obtiene maximizando su varianza sujeta a la restricción de que los pesos \mathbf{U}_1 estén normalizados:

$$\arg \max \mathbf{U}_1^T \Sigma \mathbf{U}_1 \quad (5)$$

$$\sum_{j=1}^p u_{1j}^2 = 1 \quad (6)$$

La segunda componente principal, así como las restantes, se expresan como combinación lineal de las variables originales. De esta manera, la segunda componente principal se expresa como: $\mathbf{Z}_2 = \mathbf{X}\mathbf{U}_2$. Su cálculo es similar al del primer componente principal, se maximiza su varianza sujeta a la normalización de los pesos, pero se añade la restricción de ortogonalidad respecto a la primera componente:

$$\arg \max \mathbf{U}_2^T \Sigma \mathbf{U}_2 \quad (7)$$

$$\sum_{j=1}^p u_{2j}^2 = 1 \quad (8)$$

$$\mathbf{U}_2^T \Sigma \mathbf{U}_1 = 0 \quad (9)$$

Generalizando, puede demostrarse que el espacio de dimensión k que mejor representa las observaciones viene representado por los vectores propios asociados

a los k mayores valores propios de Σ . Estas direcciones se denominan direcciones principales de los datos y a las nuevas variables definidas por ellas, componentes principales. En general, Σ tiene rango p y existen tantas componentes principales como variables originales, que se obtienen calculando los valores propios o raíces características $\lambda_1, \lambda_2, \dots, \lambda_p$ de la matriz Σ , de la siguiente manera:

$$|\Sigma - \lambda I| = 0 \quad (10)$$

siendo sus vectores asociados:

$$(\Sigma - \lambda I)\mathbf{U}_i = 0 \quad (11)$$

Interpretación geométrica. Para interpretar geoméricamente los componentes principales hay que hacer un ejercicio de abstracción e imaginar una hiperelipsoide p -dimensional que envuelva los puntos que representan las observaciones. Si las proyecciones del elipsoide sobre los planos que definen dos a dos las variables son paralelos a éstos, cada una de las variables originales contendrá la máxima información de la nube en cada una de las p dimensiones (ver Figura 1a). Sin embargo, la hiperelipsoide que envuelve los datos suele presentar una inclinación sobre los planos, por lo que sus ejes no recogen la información de forma óptima. El análisis de componentes principales transforma los ejes de este hiperelipsoide en unos nuevos que también se cortan en el centro de masas de la nube y que son perpendiculares entre sí, pero que optimizan la información. El primer eje (el más largo) se elige de manera que la dispersión de la nube sobre él sea máxima, el segundo se elige de manera que la dispersión sobre el plano perpendicular al primero sea máxima, y así hasta obtener los p ejes. Al nuevo hiperelipsoide formado por los p ejes (componentes principales) que maximizan la dispersión de la información de la nube de puntos, se le denomina hiperelipsoide de concentración (ver Figura 1b).

Selección del número de componentes. Como ya se ha mencionado, PCA puede ser utilizado como una herramienta para reducir la dimensionalidad del problema. Cada uno de los componentes principales extraídos no contiene la misma información y pueden desecharse aquellos que aporten poca información, reteniendo $k < p$ variables. Existen diversos métodos que facilitan la elección de un número adecuado de componentes:

- *Criterio de la media aritmética:* se seleccionan aquellas componentes cuyas raíces características λ_r exceda de la media de las raíces características. $\lambda_r > \bar{\lambda} = \sum_{j=1}^p \frac{\lambda_j}{p}$. Si las variables están tipificadas, $\sum_{j=1}^p \lambda_j = p$ y, por tanto, se retienen las componentes principales que cumplan que $\lambda_r > 1$.
- Seleccionar aquellos componentes hasta cubrir una *proporción determinada de varianza*, por ejemplo, el 90%.

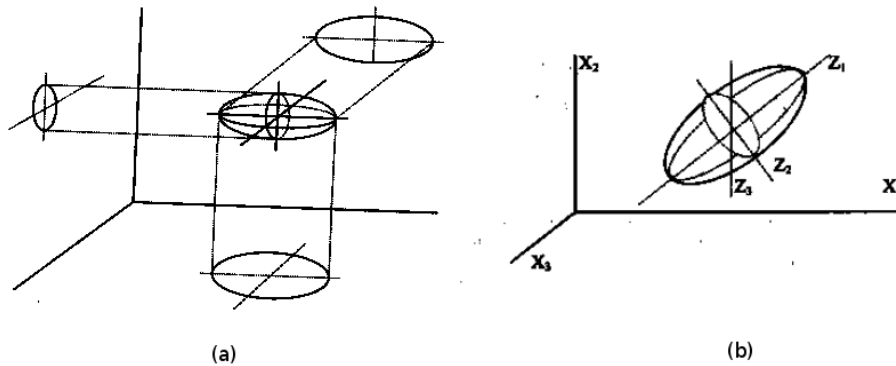


Figura 1. Interpretación geométrica: (a) proyecciones del hiperelipsoide sobre los planos, (b) hiperelipsoide de concentración

- *Otros métodos:* contraste sobre las raíces características no retenidas, prueba de Anderson, prueba de Lebart y Fenelón, prueba del bastón roto de Frontier, etc.

De cualquier modo estos métodos son arbitrarios y ha de tenerse en cuenta en cada caso el papel que juega cada variable en el experimento, de cara a explicar el fenómeno estudiado, antes de ser desechada.

2.2. Análisis de Componentes Independientes (ICA)

El Análisis de Componentes Independientes (Jutten y Hérault, 1991; Comon, 1994) [9] es un método computacional que sirve para separar los componentes aditivos de una señal multivariante, que sigue el supuesto de que los componentes proceden de fuentes independientes no gaussianas. Es un caso especial de la separación ciega de fuentes.

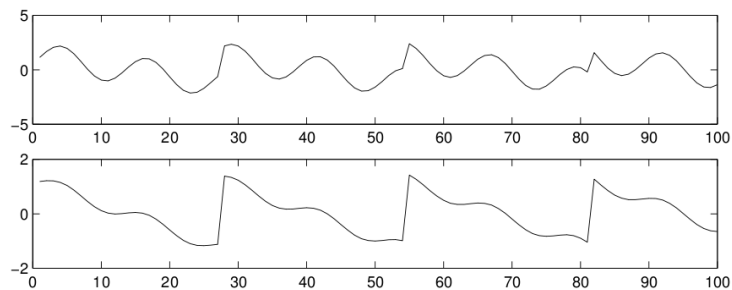


Figura 2. Señal captada por los micrófonos

Su uso típico viene definido por el problema de la *fiesta-cocktail*. En una habitación hay dos personas hablando simultáneamente y dos micrófonos que recojen el sonido de la habitación situados en dos lugares distintos de la misma. Los micrófonos graban dos señales temporales denotadas $x_1(t), x_2(t)$ (ver Figura 2), siendo x_1, x_2 la amplitud y t el tiempo. Cada una de estas señales grabadas es una suma ponderada de las dos señales emitidas por los interlocutores, a los que denotaremos $s_1(t), s_2(t)$ (ver Figura 3). Este modelo puede expresarse así:

$$\begin{aligned} x_1(t) &= a_{11}s_1(t) + a_{12}s_2(t) \\ x_2(t) &= a_{21}s_1(t) + a_{22}s_2(t) \end{aligned} \quad (12)$$

donde $a_{11}, a_{12}, a_{21}, a_{22}$ son parámetros que dependen de las condiciones de grabación, como por ejemplo, la distancia de los micrófonos a los interlocutores. El problema de la fiesta-cocktail consiste en hallar las señales originales $s_1(t), s_2(t)$, partiendo de las señales grabadas $x_1(t), x_2(t)$.

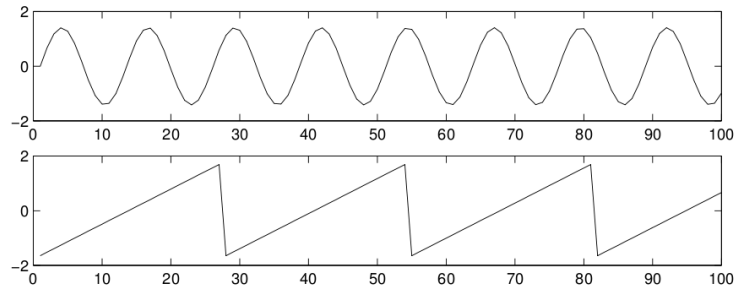


Figura 3. Señal emitida por los interlocutores

Modelo de variables latentes. Desde el punto de vista estadístico puede obviarse la variable temporal y simplificarse el modelo de fiesta-cocktail como un modelo de variables latentes. Dadas n observaciones x_1, x_2, \dots, x_n definidas como una mezcla lineal de p componentes independientes s_1, s_2, \dots, s_p :

$$x_i = a_{i1}s_1 + a_{i2}s_2 + \dots + a_{ip}s_p \quad (13)$$

en notación abreviada:

$$\mathbf{x} = \mathbf{A}\mathbf{s} = \sum_{j=1}^p a_j s_j \quad (14)$$

ICA es un modelo generativo que describe como se generan los datos observados \mathbf{x} como un proceso de mezcla de los componentes independientes \mathbf{s} . Los componentes independientes son variables latentes que no pueden ser observadas

directamente. La matriz de pesos A también se desconoce. ICA se basa en la independencia de las componentes no gaussianas \mathbf{s} para estimar la matriz de pesos A , y calculando su inversa W obtener los componentes independientes:

$$\mathbf{s} = W\mathbf{x} \quad (15)$$

Cálculo de las componentes independientes. Actualmente existen varias aproximaciones para estimar la matriz de pesos A y, por tanto, para extraer los componentes independientes \mathbf{s} . La principal aproximación se basa en la *condición de no normalidad* (distribución no gaussiana) de las componentes independientes. Considerando una combinación lineal de las señales \mathbf{x} , denotada por $y = \mathbf{w}^T \mathbf{x}$, donde \mathbf{w} es el vector que se desea determinar. Si \mathbf{w} es una de las filas de la matriz inversa de A , la combinación lineal se corresponde con una de las componentes principales. Para que se de esa condición, se usa el Teorema del Límite Central, que indica que bajo ciertas condiciones la distribución de una suma de variables aleatorias tiende hacia una distribución más cercana a una gaussiana que las señales que forman la mezcla. haciendo un cambio de variables se puede ver que y es una combinación lineal de \mathbf{s} . Sea $\mathbf{z} = A^T \mathbf{w}$, entonces $y = \mathbf{w}^T \mathbf{x} = y = \mathbf{w}^T A \mathbf{s} = \mathbf{z}^T \mathbf{s}$. El cálculo de las componentes independientes consiste en estimar el vector \mathbf{w} que maximice la no normalidad de $\mathbf{w}^T \mathbf{x}$. Para ello, se usan distintas medidas de la no normalidad como la Kurtosis o la neg-entropía. En [9] se proporciona un método muy eficiente para maximizar la no normalidad denominado FastICA. Otras aproximaciones se basan en la minimización de la información mútua o en estimadores de la máxima verosimilitud.

Diferencias entre PCA e ICA. PCA es un método que permite encontrar una transformación lineal de las variables originales de manera que éstas no queden correlacionadas. ICA persigue encontrar una transformación lineal que haga que las variables sean lo más independientes posibles. La condición de independencia es más fuerte que la no correlación. La correlación mide la existencia de una relación lineal entre las variables, mientras que la dependencia mide la existencia de cualquier relación entre las variables:

$$\begin{aligned} x, y \text{ incorrelacionadas} \text{ sii } E[xy] &= E[x]E[y] \\ x, y \text{ independientes} \text{ sii } E[f(x)g(y)] &= E[f(x)]E[g(y)] \end{aligned} \quad (16)$$

3. Memorias Morfológicas Asociativas (AMM)

Las Memorias Morfológicas Asociativas surgen de trabajar con la estructura algebraica $(\mathfrak{R}, \wedge, \vee, +)$ como alternativa al algebra aritmético $(\mathfrak{R}, +, \cdot)$ en la computación con Redes Neuronales [11,12]. Los operadores \vee, \wedge denotan, respectivamente, las operaciones discretas *max* y *min*. (*sup* e *inf* en un dominio continuo), lo que se corresponde con los operadores morfológicos de *dilatación* y *erosión*.

Dado un conjunto de pares de patrones entrada/salida $(X, Y) = \{(x^\epsilon, y^\epsilon); \epsilon = 1, \dots, k\}$, una red neuronal heteroasociativa basada en la correlación cruzada [18] se construye sobre la función $W = \sum_{\epsilon} y^\epsilon \cdot (x^\epsilon)'$. En la línea de dicho procedimiento constructivo en [11,12] se propone las siguientes construcciones de Memorias Morfológicas Heteroasociativas (HMMs):

$$W_{XY} = \bigwedge_{\epsilon=1}^k [y^\epsilon \times (-x^\epsilon)'] \text{ y } M_{XY} = \bigvee_{\epsilon=1}^k [y^\epsilon \times (-x^\epsilon)'] \quad (17)$$

donde \times representa cualquiera de los operadores \vee ó \wedge que denotan, respectivamente, el producto matricial *max* y *min*, definidos así:

$$C = A \vee B = [c_{ij}] \Leftrightarrow c_{ij} = \bigvee_{k=1, \dots, n} \{a_{ik} + b_{kj}\}, \quad (18)$$

$$C = A \wedge B = [c_{ij}] \Leftrightarrow c_{ij} = \bigwedge_{k=1, \dots, n} \{a_{ik} + b_{kj}\}. \quad (19)$$

Si $X = Y$ entonces las memorias HMM son memorias Morfológicas Autoasociativas (AMM).

3.1. Análisis multivariante con AMM

El uso de las Memorias Morfológicas Asociativas como técnica de análisis multivariante, busca factores extremos de la población que permitan definir una caja hiperdimensional centrada en el origen del espacio de variables de alta dimensión (los datos deben estar representados en puntuaciones Z , desviaciones respecto de la media). Los factores son vectores morfológicos independientes en ambos sentidos, erosión y dilatación, y engloban al resto de individuos de la población. La búsqueda de los factores se realiza siguiendo el Algoritmo 1, que es una adaptación del algoritmo definido en [2] para la extracción de endmembers sobre imágenes hiperespectrales.

Los factores extraídos son una combinación lineal de las variables que forman el espacio de representación original:

$$e_i = a_{i1}x_1 + a_{i2}x_2 + \dots + a_{id}x_d \quad (20)$$

donde $E = \{e_1, \dots, e_p\}$ son los factores extraídos de la población mediante la técnica AMM, $X = \{x_1, \dots, x_d\}$ son las variables originales, y $A = \{a_1, \dots, a_p\}$ es la matriz de abundancias que denota la participación fraccional de cada variable original en cada factor. Los individuos de la población se representan en función de estos nuevos factores en un espacio de dimensión $p < d$.

4. Experimento: análisis de estrategias de afrontamiento en el estrés social en ratones

Los datos utilizados en este trabajo han sido cedidos por el Laboratorio de Psicobiología de la Facultad de Psicología de la Universidad del País Vasco. El

Algorithm 1 Extracción de los factores de la población

1. Calcular las puntuaciones Z de la población: $f^c(i) = \frac{f(i) - \mu}{\sigma}$; $i = 1, \dots, n$
 2. Inicializar el conjunto de factores $E = \{e_1\}$ con un individuo de la población extraído aleatoriamente. Inicializar el conjunto de firmas morfológicamente independientes binarias $X = \{x_1\} = \{e_k^1 > 0; k = 1, \dots, d\}$
 3. Construir las AMMs basadas en las firmas morfológicamente independientes binarias: M_{XX} y W_{XX} .
 4. Para cada individuo $f^c(i)$:
 - a) Calcular el vector de firmas de las correcciones de ruido Gaussiano $f^+(i) = (f^c(i) + \alpha\sigma > 0)$ y $f^-(i) = (f^c(i) - \alpha\sigma > 0)$
 - b) Calcular $y^+ = M_{XX} \wedge f^+(i)$
 - c) Calcular $y^- = W_{XX} \vee f^-(i)$
 - d) Si $y^+ \notin X$ o $y^- \notin X$ entonces $f^c(i)$ es un nuevo factor que debe ser añadido a E , ir al punto 3 y continuar con la exploración del resto de la población.
 - e) Si $y^+ \notin X$ y $f^c(i) > e_{y^+}$ la firma multivariante del individuo es más extrema que la del factor almacenado, luego sustituir e_{y^+} por $f^c(i)$
 - f) Si $y^- \notin X$ y $f^c(i) < e_{y^-}$ la firma multivariante del individuo es más extrema que la del factor almacenado, luego sustituir e_{y^-} por $f^c(i)$
-

principal interés de estos experimentos llevados a cabo en este laboratorio se centra en el estudio de las relaciones bidireccionales entre el Sistema Nervioso Central y el Sistema Inmunitario. Esta relación bidireccional se conoce gracias a investigaciones realizadas tanto en humanos como en animales, que han centrado su atención en la relación entre estrés e inmunidad durante los últimos veinticinco años.

La respuesta de estrés implica cambios en los ejes Hipotálamo-Pituitario-Adrenal y en el Simpático-Adreno-Medular, provocando alteraciones en diversos parámetros inmunitarios. Sin embargo, los efectos observados no son siempre homogéneos. Actualmente, parece que existe un consenso interdisciplinar en aceptar que esta variabilidad interindividual frente al estrés es dependiente de los estilos de afrontamiento, y no tanto de las características físicas de los agentes estresores. Es decir, que el impacto de los estresores, está determinado en gran medida por la habilidad del organismo de afrontar la situación [13,15].

La investigación en este campo puede revelar mecanismos de vital importancia para una mejor comprensión de los factores que subyacen en la susceptibilidad a los eventos estresantes. Entender las causas de estas diferencias individuales y sus consecuencias en términos de bienestar, capacidad adaptativa y vulnerabilidad individual a la enfermedad es ciertamente uno de los mayores objetivos de la investigación biopsicosocial. Muchos investigadores han intentado determinar la vulnerabilidad individual a las enfermedades relacionadas con el estrés utilizando índices de la capacidad de afrontamiento del estrés. Los experimentos a los que pertenecen los datos utilizados pretenden un intento de abordaje en este sentido, realizando una clasificación de los diferentes estilos de afrontamiento y relacionando estas diferencias con los distintos efectos del estrés en diversos

parámetros inmunitarios y otros marcadores biológicos de la respuesta de estrés. Un estilo de afrontamiento se define como una respuesta coherente de conductas y cambios fisiológicos consistentes en el tiempo y que es característico de un grupo de individuos [10].

En el presente trabajo se han utilizado únicamente los datos obtenidos de la evaluación conductual.

4.1. Materiales y métodos

Se aplicó el modelo de estrés social por contacto sensorial indirecto [16] a 198 ratones macho de la cepa OF1. Los animales del grupo estresado se enfrentaron como intrusos a animales agresivos residentes, durante un período de 24 horas. Durante este período de tiempo, los animales fueron sometidos a interacción física-directa sólo en tres intervalos de 5 minutos. El resto del tiempo los animales intrusos experimentales fueron físicamente protegidos de los animales agresivos residentes mediante un separador de metacrilato perforado, que permitía que el enfrentamiento continuase de una manera sensorial-indirecta en la misma jaula.

Todos los procedimientos que se llevaron a cabo con estos animales respetan el Convenio Europeo Sobre Protección De Los Animales Vertebrados Utilizados Con Fines Experimentales Y Otros Fines Científicos (Estrasburgo, 18 de Marzo de 1986).

4.2. Evaluación conductual

La evaluación conductual se llevó a cabo mediante el programa THE OBSERVER 4.1. En esta aplicación se creó una configuración basada en el etograma del ratón elaborado por Brain et al. [17] y modificado por Vegas et al. [1].

Este etograma contempla 52 pautas de conducta del ratón agrupadas en 11 categorías conductuales que a continuación se describen:

- *Inmovilidad*: el sujeto suprime la actividad de todas las partes del cuerpo.
- *Exploración social*: pasar por encima o por debajo del oponente, rodearlo, seguirlo, empujarlo u olerlo.
- *Exploración no social*: cuando el animal deambula, salta o corre dirigiendo su atención hacia el ambiente y no el oponente.
- *Exploración a distancia*: cuando el animal deambula alejándose y/o acercándose al oponente.
- *Ataque*: muerde al oponente y/o corre detrás de él mientras este huye.
- *Amenaza*: es un aseo agresivo del oponente, postura de ofensa vertical (levantar el lomo, agachar las orejas), postura de ofensa lateral y golpeteo con el rabo.
- *Huida*: el sujeto se aleja del oponente corriendo, saltando.
- *Evitación*: el sujeto retrocede lentamente, se aprieta contra la pared o gira la cabeza para evitarlo.
- *Defensa-sumisión*: el animal estira la cabeza hacia atrás, con las patas delanteras rígidas y ampliamente extendidas.

- *Autoaseo*: el animal se frota la cara o se lame el cuerpo.
- *Escarbar*: el sujeto remueve el serrín.

Tras evaluar la conducta de los sujetos experimentales sometidos a estrés social se obtuvo el porcentaje de tiempo dedicado a cada una de las categorías conductuales. Estos datos fueron posteriormente exportados desde la aplicación THE OBSERVER 3.0 para su análisis con la técnica de Memorias Morfológicas Asociativas.

4.3. Análisis estadístico de la conducta y resultados

Mediante el análisis de la técnica de Memorias Morfológicas Asociativas se identifican dos factores conductuales en la población. Para llevar a cabo la caracterización conductual de los factores, no hemos tenido en cuenta aquellas variables cuyos valores son representativos del 51 % de la población, es decir, aquellas variables con una puntuación Z entre 0 y $\pm 0,7$ (Figura 4). Los valores superiores a este rango son considerados como características conductuales de los factores que a continuación se detallan.

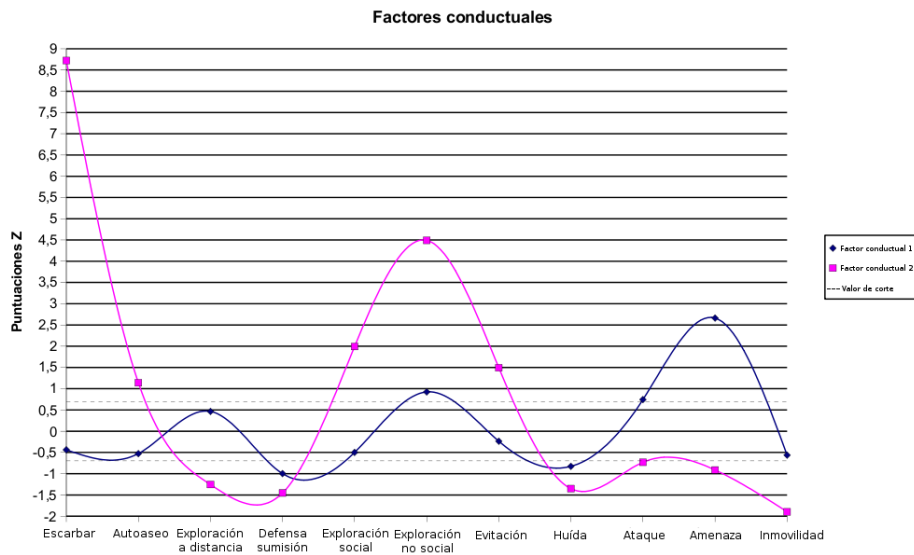


Figura 4. Factores conductuales en la población

Estos factores nos ayudan a describir cuatro posibles perfiles conductuales atendiendo a si la contribución del factor a la representación del sujeto es positiva o negativa. De esta manera diferenciaremos cuatro tipos de perfiles: Perfil A y Perfil B para el Factor 1, y Perfil C y Perfil D para el Factor 2.

- *Perfil conductual A*: cuando la contribución del Factor conductual 1 a la representación del sujeto es positiva. Éste perfil describe un tipo de respuesta conductual que muestran los sujetos sometidos a una situación de confrontación social. Se caracteriza por unos niveles elevados de amenaza ($Z=2,178$), exploración no social ($Z=1,439$) y ataque ($Z=1,659$) dentro de la población. Al mismo tiempo, es característico de este perfil la ausencia de conductas como la defensa-sumisión ($Z=-0,932$) o la huida ($Z=-0,837$).
- *Perfil conductual B*: cuando la contribución del Factor conductual 1 a la representación del sujeto es negativa. Este perfil describe una conducta caracterizada por niveles muy elevados de defensa-sumisión ($Z=0,932$) y de huida ($Z=0,837$) dentro de la población. Al mismo tiempo, éste perfil destaca porque no se observan conductas como la amenaza ($Z=-2,178$), la exploración no social ($Z=-1,439$) y el ataque ($Z=-1,659$).
- *Perfil conductual C*: este perfil se refiere a aquellos sujetos representados por valores positivos en el Factor conductual 2. Describe un tipo de respuesta conductual muy específica, caracterizada por elevadísimos niveles en escarbar ($Z=8,724$) y elevados niveles de exploración no social ($Z=4,491$), exploración social ($Z=1,992$), evitación ($Z=1,493$) y autoaseo ($Z=1,139$) con respecto a la media de la población. Además, es característico de este tipo de respuesta la ausencia de las conductas de inmovilidad ($Z=-1,895$), defensa-sumisión ($Z=-1,453$), huida ($Z=-1,351$), exploración a distancia ($Z=-1,254$), amenaza ($Z=-0,911$) y ataque ($Z=-0,730$).
- *Perfil conductual D*: cuando la contribución del Factor conductual 2 a la representación del sujeto es negativa. La conducta representada por este perfil está caracterizada por mayores niveles que el resto de la población en defensa-sumisión ($Z=1,453$), inmovilidad ($Z=1,895$), exploración a distancia ($Z=1,254$), huida ($Z=1,351$), amenaza ($Z=0,911$) y ataque ($Z=0,730$). Por otro lado, es característico de este perfil, que no se observen las conductas de escarbar ($Z=-8,724$), autoaseo ($Z=-1,139$), exploración no social ($Z=-4,491$), exploración social ($Z=-1,992$) y evitación ($Z=-1,493$).

Se aplicó un Análisis de Cluster Jerárquico utilizando los valores obtenidos de cada sujeto en cada factor. La aplicación del criterio de corte establece el punto de inflexión a una distancia igual a 5, formando así dos conglomerados que agrupan a sujetos con diferentes características conductuales en una situación de estrés social. Para confirmar la validez de los grupos obtenidos, se aplicó además un análisis discriminante. El modelo discriminante aplicado (Método Lambda de Wilks de inclusión por pasos) determina los factores conductuales más eficientes en la discriminación entre los dos conglomerados. Como se muestra en la figura 5, el Factor 1 es el que mejor discrimina entre los dos grupos, y es la única variable seleccionada para su inclusión en el modelo discriminante. El Factor 2 no contribuye de manera significativa a incrementar la discriminación entre los dos grupos, y queda fuera del modelo explicativo. El Factor 1 por si solo explica el 100 % de la varianza entre los grupos. Las estimaciones del modelo de análisis discriminante aplicado coinciden en el 96,5 % de los casos, con la solución de cluster confirmándose así la validez estadística de los agrupamientos brindados

por este análisis. La figura 5 se puede observar la distribución de los sujetos, confirmándose que la descripción conductual de cada uno de los grupos se basa en el Factor 1.

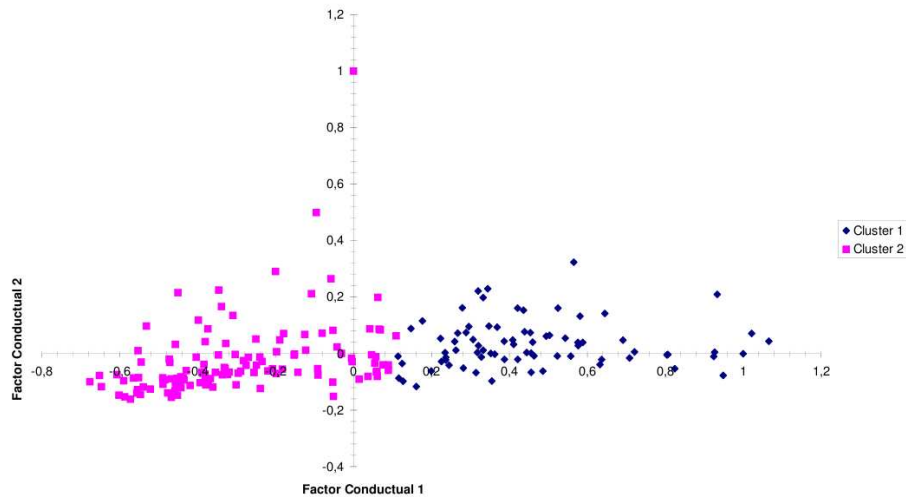


Figura 5. Clasificación de la población según los factores conductuales encontrados

La solución de clúster final junto con el análisis discriminante ofreció la siguiente clasificación de los sujetos:

- Clúster 1 (n=70): los sujetos en este clúster están representados por valores positivos en el Factor conductual 1. Por tanto, la respuesta conductual de estos sujetos ante la confrontación social con un sujeto agresivo viene representada por el Perfil conductual A, esto es, niveles elevados de amenaza, exploración no social y ataque, mientras que no muestran conductas como la defensa-sumisión y la huida.
- Clúster 2 (n=128): estos sujetos están principalmente representados por valores negativos del Factor conductual 1, por tanto, muestran el Perfil conductual B. Este grupo, ante una situación de estrés social reacciona principalmente con conductas de defensa-sumisión y huida, mientras que no muestran conductas de ataque, amenaza y exploración no social.

5. Conclusiones

Los resultados obtenidos en este trabajo con el Análisis de Memorias Morfológicas muestran que los animales sometidos a estrés social pueden diferenciarse en el tipo de estrategia conductual adoptada para afrontar la situación. Las diferencias fenotípicas conductuales dentro de una misma población pueden poseer un

valor funcional y adaptativo para la especie, en la medida en que puede afectar la capacidad para afrontar los cambios ocurridos en el ambiente, determinando así en gran medida la supervivencia del individuo en su hábitat natural.

Diversos autores en el estudio de estas diferencias conductuales y neuroendocrinas ante una situación de estrés, han señalado que el comportamiento individual puede analizarse desde dos dimensiones: la reactividad emocional (proactividad/reactividad) y la actividad exploratoria (actividad/pasividad) [10,14]. En nuestro caso, el análisis de clústeres agrupó a los sujetos en dos grupos diferentes que en gran medida pueden corresponder a dos estrategias de afrontamiento que involucran la combinación de las dimensiones arriba citadas: una estrategia activa-proactiva y otra pasiva-reactiva. Así, los sujetos agrupados en el clúster 1, en cuanto a la dimensión exploratoria, se distinguen de los del clúster 2 por unos niveles elevados en la exploración no-social. Por otro lado, en la dimensión de reactividad emocional, los sujetos agrupados en el clúster 1, se diferencian de los del clúster 2 en presentar mayores niveles de ataque y amenaza así como por la ausencia de conductas propias de un perfil reactivo (clúster 2), como son la sumisión y la huida.

Estos resultados coinciden además con los de otros trabajos donde se ha encontrado que sujetos sumisos sometidos al mismo tratamiento de estrés social pueden variar en los niveles de actividad motora y agresividad, en la función cardiovascular y la inmune, así como en la expresión de citoquinas en el cerebro y la resistencia a los glucocorticoides [6,3].

Por tanto, podemos concluir que los resultados obtenidos para la identificación de estrategias de afrontamiento en el estrés social con el análisis de memorias morfológicas asociativas están dentro de un marco conceptual y teórico adecuado. Las conclusiones acerca de las estrategias de afrontamiento obtenidas en este estudio, coinciden con las conclusiones obtenidas en el estudio original del cual se extrajeron los datos para su análisis con la técnica de AMM. En dicho estudio (datos sin publicar) se muestra que, los sujetos con una estrategia de afrontamiento pasiva-reactiva desarrollaron un mayor número de metástasis tumorales (utilizando un modelo de tumor experimental B-16 específico para ratones), mostraron unos mayores niveles de corticosterona y una menor actividad de células NK (Natural Killer) que aquellos sujetos con una estrategia de afrontamiento activa-proactiva.

Con este trabajo queda demostrada la utilidad de la técnica AMM para el análisis de datos multivariantes, tanto en su capacidad de simplificar el problema reduciendo la dimensionalidad de los datos, como aportando una mayor claridad descriptiva extrayendo de los datos variables latentes que no habían sido originalmente detectadas.

Referencias

- [1] O. Vegas, E. Fano, P. F. Brain, A. Alonso, A. Azpiroz. Social stress, coping strategies and tumor development in male mice: behavioral, neuroendocrine and immunological implications. *Psychoneuroendocrinology* 31, 69-79. 2006.

- [2] Orlando Maldonado, David Vicente, Manuel Graña, Miguel Angel Veganzones. Spectral Indexing for Hyperspectral Image CBIR. ESA-EUSC 2006 Image Information Mining, Proceedings of the Workshop. 2006.
- [3] A. Bartolomucci, P. Palanza, P. Sacerdote, A. E. Panerai, A. Sgoifo, R. Dantzer, S. Parmigiani. Social factors and individual vulnerability to chronic stress exposure. *Neurosci Biobehav Rev* 29, 67-81. 2005.
- [4] César Pérez. Técnicas de análisis multivariantes de datos, aplicaciones con SPSS. 2004. ISBN: 84-205-4104-4. Pearson Prentice Hall.
- [5] Gerhard X. Ritter, Gonzalo Urcid, Laurentiu Iancu. Reconstruction of patterns from noisy inputs using morphological associative memories. *Journal of Mathematical Imaging and Vision*, 19(2):95-111,2003.
- [6] R. Avitsur, J. L. Stark, F. S. Dhabhar, K. A. Kramer, J. F. Sheridan. Social experience alters the response to social stress in mice. *Brain Behav Immun* 17, 426-37. 2003.
- [7] Manuel Graña, Josune Gallego, Carmen Hernandez. Further results on AMM for Endemember Induction. *Advances in Techniques for Analysis of Remotely Sensed Data*, 2003 IEEE Workshop on. 0-7803-8351-6/03-2003 IEEE, pp 237-243
- [8] Daniel Peña. Análisis de datos multivariantes. 2002. ISBN: 84-481-3610-1. McGraw-Hill.
- [9] Aapo Hyvärinen, Erkki Oja. Independent Component Analysis: Algorithms and Applications. *Neural Networks*, 13(4-5):411:430,2000.
- [10] J. M. Koolhaas, S. M. Korte, S. F. De Boer, B. J. Van Der Vegt, C. G. Van Reenen, H. Hopster, I. C. De Jong, M. A. Ruis, H. J. Blokhuis. Coping styles in animals: current status in behavior and stress-physiology. *Neurosci Biobehav Rev* 23, 925-35. 1999.
- [11] G. X. Ritter, J. L. Díaz de Leon, P. Sussner. Morphological bidirectional associative memories. *Neural Networks*, Vol. 12, pp 851-867. 1999.
- [12] G. X. Ritter, P. Sussner, J. L. Díaz de Leon. Morphological associative memories. *IEEE Transactions on Neural Networks*, 9(2):281-292. 1998.
- [13] H. Ursin. The psychology in psychoneuroendocrinology. *Psychoneuroendocrinology* 23, 555-70. 1998.
- [14] T. Steimer, S. la Fleur, P. E. Schulz. Neuroendocrine correlates of emotional reactivity and coping in male rats from the Roman high (RHA/Verh)- and low (RLA/Verh)-avoidance lines. *Behav Genet* 27, 503-12. 1997.
- [15] H. Ursin, M. Olf. Aggression, defense, and coping in humans. *Aggressive Behavior* 21, 13-19. 1995.
- [16] N. N. Kudryavtseva, I. V. Bakshtanovskaya, L. A. Koryakina. Social model of depression in mice of C57BL/6J strain. *Pharmacol Biochem Behav* 38, 315-20. 1991.
- [17] P. F. Brain. A historical look at the concepts of fear and defense and some comments on psychobiology. In: P.F. Brain, S. Parmigiani, R.J. Blanchard and D. Mainardi, Editores, Fear and defense, Harwood Academic Publishers gmbh, Chur, New York (1989), pp. 1-21.
- [18] J. J. Hopfield. Neural networks and physical systems with emergent collective computational abilities. *Proc. Nat. Acad. Sciences*, Vol. 79, pp 2554-2558. 1982.
- [19] Wikipedia (http://es.wikipedia.org/wiki/An%C3%A1lisis_multivariante)