



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

**Papel de la corteza premotora ventral en el
procesamiento de memoria de trabajo
somatosensorial y auditiva**

TESIS QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

Licenciado en Neurociencias

LICENCIATURA EN NEUROCIENCIAS

PRESENTA:

JOSÉ CARLOS BARRERAS MALDONADO

Director de tesis: Dr. Román Rossi Pool

Ciudad de México, Noviembre 2022.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
LICENCIATURA EN NEUROCIENCIAS

Papel de la corteza premotora ventral en el procesamiento de memoria de trabajo somatosensorial y auditiva

TESIS REALIZADA POR:

JOSÉ CARLOS BARRERAS MALDONADO

Aprobada por ...

Sinodales

Dr. José Bargas Díaz

Dr. Román Rossi Pool

Dr. Gerardo Rojas Piloni

Dr. Augusto César Poot Hernández

Dra. Florencia Assaneo Verona

Ciudad de México, Noviembre 2022.

Agradecimientos

Agradezco a mi tutor, el doctor Román Rossi, guía en mi sendero de formación académica y de vida. Es gracias a su tutela que esta tesis fue posible.

Agradezco al doctor Ranulfo Romo, uno de los principales pioneros en esta rama de estudio, encargado de desarrollar la tarea conductual empleada en este proyecto. Igualmente, extendiendo mi gratitud al doctor José Vergara, antiguo integrante del laboratorio, por el entrenamiento del primate que fungió de modelo en este trabajo. Al doctor Antonio Zainos, al doctor Manuel Álvarez y al ingeniero Héctor Díaz, cuyo esfuerzo y maestría permitió la adecuada obtención de los registros electrofisiológicos que son la base de los resultados presentados en esta tesis.

Agradezco al maestro Sergio Parra, a la licenciada Andrea Campos, al licenciado Sebastián Pujalte, al doctor Lucas Bayones y al licenciado Gabriel Díaz, que desde su compañerismo, paciencia y experiencia, ofrecieron siempre los consejos y retroalimentación, fundamental para el desarrollo de este proyecto.

Agradezco a los integrantes del jurado de mi examen profesional, conformado por los doctores César Poot, Florencia Assaneo, Gerardo Piloni, José Bargas y nuevamente, por mi tutor Román Rossi. Agradezco el tiempo dedicado a leer con detenimiento mi tesis y los valiosos comentarios que, desde su experiencia en el campo de la investigación científica, me permitieron abordar las debilidades y refinar las fortalezas de mi trabajo.

Agradezco a mis compañeros de licenciatura, por enseñarme todo aquello que desconocía que me faltaba por aprender. Y por último, me hace falta el lenguaje para agradecer a mi familia, por el incondicional apoyo sin el cual hoy no estaría aquí. Gracias.

José Carlos Barreras Maldonado

Cuando pensamos en la capacidad de mantener en memoria ciertas piezas de información durante cortos periodos de tiempo, difícilmente podríamos poner en duda lo indispensable que esto es para la supervivencia de la especie. Este tipo de memoria, conocida como memoria de trabajo, está implícita en tareas que van desde lo más simple, como el desarrollo de una conversación, hasta lo más complejo, como la resolución de algún problema matemático. A pesar de la relevancia que tiene esta memoria en la conducta de los individuos, las bases cerebrales que la subyacen siguen siendo un objeto de estudio en el campo de las neurociencias cognitivas. Las tareas de discriminación sensorial, que exigen al sujeto comparar alguna característica de dos estímulos consecutivos cuya presentación está separada por un corto periodo de tiempo, ofrecen un marco de estudio idóneo para entender el sustrato neuronal de la memoria de trabajo. El análisis de la actividad neuronal en mono Rhesus mientras resuelven este tipo de tarea, ha permitido obtener un panorama general del procesamiento cerebral a través del cual el sujeto llega a una toma de decisión. Se ha establecido la existencia de una jerarquía entre las cortezas que forman parte de esta vía de procesamiento. En esta jerarquía, las áreas sensoriales primarias, participando únicamente en la codificación de los estímulos entrantes, ocupan las posiciones inferiores. En cambio, las distintas regiones del lóbulo frontal, con un mayor grado de abstracción en su procesamiento, el cual depende en menor medida de la modalidad sensorial específica de los estímulos, son las que ocupan las posiciones superiores en la jerarquía. En este trabajo se analizaron los registros de actividad de la corteza premotora ventral (CPV), obtenidos durante una tarea de discriminación bimodal. Esta tarea implica que la pareja de estímulos presentados pueden ser de modalidad auditiva y/o somatosensorial. Esto permitió caracterizar la población neuronal de la CPV en términos de su dependencia al tipo de información sensorial específico. Se encontró un predominio de neuronas con codificación exclusivamente somatosensorial. Esto sugiere que la CPV ocupa una posición intermedia en la jerarquía, con un código aún dependiente en gran medida de la modalidad sensorial de los estímulos.

Palabras clave

Codificación, procesamiento, memoria de trabajo, toma de decisión, somatosensorial.

Agradecimientos	4
Abstract	5
I Introducción	9
1. Introducción	10
1.1. ANTECEDENTES	11
1.1.1. Codificación de estímulos en tareas de discriminación sensorial	11
1.1.2. Memoria de trabajo y comparación de frecuencias en tareas de discriminación sensorial	12
1.1.3. Tarea de discriminación categórica	13
1.1.4. Tarea de discriminación bimodal	13
1.1.5. Jerarquía en la vía de procesamiento	14
1.2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	15
1.3. HIPÓTESIS	16
1.4. OBJETIVOS	16
1.4.1. Objetivo general	16
1.4.2. Objetivos específicos	16
II Métodos	17
2. Métodos	18
2.1. TAREA DE DISCRIMINACIÓN BIMODAL	19
2.1.1. Equipo y materiales	20
2.1.2. Entrenamiento	20
2.1.3. Evaluación del desempeño conductual	21
2.2. REGISTROS ELECTROFISIOLÓGICOS	22
2.2.1. Procedimientos quirúrgicos	23
2.2.2. Registros extracelulares	23
2.2.3. Adquisición de datos	24
2.3. ANÁLISIS DE DATOS	24
2.3.1. Clasificación de espigas	24
2.3.2. Análisis de neurona individual	25
2.3.3. Prueba de permutación	26
2.3.4. Análisis poblacional	28
2.3.5. Análisis de Componentes Principales	28
2.3.6. Varianza poblacional	31
2.3.7. Varianza temporal	31
2.3.8. Varianza de codificación	32
2.3.9. Varianza de modalidad	33

2.3.10	Varianza de f1 táctil y auditiva	33
III	Clasificación de espigas	35
3.	Clasificación de espigas	36
3.1.	BASES TEÓRICAS DE LA CLASIFICACIÓN DE ESPIGAS	36
3.1.1.	Detección, filtrado y alineamiento de espigas	37
3.1.2.	Extracción de características	37
3.1.3.	Agrupamiento de espigas	38
3.2.	PROGRAMA DE CLASIFICACIÓN DE ESPIGAS UTILIZADO EN EL PROYECTO	39
3.2.1.	Manejo de archivos NEV	40
3.2.2.	Eliminación de ruido de los potenciales registrados por el electrodo .	40
3.2.3.	Alineamiento de los potenciales de acción	41
3.2.4.	Extracción y selección de características mediante análisis de compo- nentes principales, transformada de ondícula y criterio Kolmogorov- Smirnov	42
3.2.5.	Agrupamiento mediante el algoritmo de K-medias	44
3.2.6.	Evaluación del resultado de la clasificación mediante coeficientes de correlación de Pearson y Prueba de hipótesis	47
3.2.7.	Guardado de los resultados	47
IV	Resultados	49
4.	Resultados	50
4.1.	HETEROGENEIDAD EN RESPUESTAS DE NEURONAS INDIVIDUALES . . .	50
4.2.	PREDOMINIO DE CODIFICACIÓN UNIMODAL TÁCTIL	56
4.3.	CODIFICACIÓN TEMPORAL Y DE F1 EN CPV	57
V	Discusión	62
5.	Discusión	63
VI	Conclusión	65
6.	Conclusión	66
VII	Perspectivas	67
7.	Perspectivas	68
7.1.	UMAP Y SPIKE SORTING	68
7.2.	ANÁLISIS DE OSCILACIONES DE CAMPO LOCAL	69
	Bibliografía	74

Lista de Figuras

2.1.	Tarea de discriminación bimodal	19
2.2.	Corteza Premotora Ventral	23
2.3.	Clasificación de neuronas según el tipo de sintonización	27
2.4.	Análisis de Componentes Principales	29
3.1.	Bases teóricas de la clasificación de espigas	36
3.2.	Espigas registradas	41
3.3.	Proyección de las características extraídas	43
3.4.	Métrica de Silhouette	44
3.5.	Formas de espiga de cada grupo	45
3.6.	Rasters y gráfica de estabilidad	46
4.1.	Actividad de neurona bimodal.	52
4.2.	Actividad de neurona unimodal táctil.	53
4.3.	Actividad de neurona unimodal auditiva.	54
4.4.	Actividad de neurona unimodal táctil.	55
4.5.	Codificación lineal poblacional.	56
4.6.	Codificación poblacional de f1.	58
4.7.	Codificación poblacional temporal.	59
4.8.	Cálculos de varianza poblacional.	60

I

Introducción

“La pregunta es el comienzo de la solución del problema”

-Óscar de la Borbolla

"La única constante de la naturaleza es el cambio", se planteó el filósofo Heráclito hace 2500 años. Este medio externo en cambio continuo ha sido y es un factor determinante en la adaptación de las especies que hoy en día se encuentran poblando la tierra. Darwin expresa esta idea en su *Origen de las Especies*, donde él mismo cita: *"No es la especie más fuerte la que sobrevive, ni la más inteligente, sino la que responde mejor al cambio"*. Así, este escenario con fluctuaciones en la disponibilidad de recursos, en las condiciones del medio ambiente y en la abundancia de presas y depredadores, ha devenido en una presión evolutiva sobre todos los organismos. De este modo, aquellos mejor adaptados para responder a los distintos estímulos de un entorno cambiante, han sido favorecidos de tal manera que su obtención de recompensa y evasión de riesgos se vio optimizada. Responder adecuadamente ante estímulos provenientes de un medio externo con estas características exige, en primer lugar, la existencia de sistemas sensoriales que permitan codificar la información contenida en estos. En la naturaleza podemos encontrar una amplia diversidad de estos sistemas, cada uno enfocado en el procesamiento de estímulos de distintas modalidades. Si tomamos como ejemplo al ser humano, sabemos que puede procesar información externa por medio de distintos canales sensoriales: táctil o somatosensorial, acústico o auditivo, visual, gustativo y olfativo. Una vez que esta información es recibida por uno o varios de estos canales, se requiere de una maquinaria capaz de mantenerla en memoria el tiempo suficiente para analizarla, y así permitir al individuo tomar una decisión en favor de su supervivencia. Se ha identificado al sistema nervioso, en su porción periférica y central, como el sustrato biológico relacionado con los procesos necesarios para alcanzar una toma de decisiones a partir de estímulos sensoriales entrantes. Con base en esto, es la rama de las neurociencias cognitivas la que busca dilucidar las bases neurobiológicas de estos procesos. En esta rama científica, se desarrolló un paradigma de estudio que consiste en analizar la actividad de distintas regiones cerebrales del mono Rhesus (*Macaca mulatta*), por su estrecha relación evolutiva con el humano [1]. Esta actividad se obtiene mientras el animal realiza alguna tarea conductual que exige una toma de decisiones a partir de estímulos presentados en condiciones controladas de laboratorio. Este proyecto está enfocado en un conjunto de estas tareas conductuales, conocido como tareas de discriminación sensorial. Estas consisten en la presentación de dos estímulos consecutivos, separados por un corto periodo de tiempo, de manera que el mono debe tomar una decisión a partir de comparar alguna de sus propiedades, con el objetivo de recibir una recompensa. Por un lado, este paradigma permite evaluar el desempeño conductual del sujeto en una tarea que involucra la codificación de estímulos, su mantenimiento en memoria de trabajo, su comparación y la toma de decisiones. Por el otro lado, el análisis simultáneo de la actividad cerebral, plantea la posibilidad de identificar los patrones de actividad que subyacen a estos procesos cognitivos.

De manera general, el presente proyecto busca aportar conocimiento al campo de las neurociencias cognitivas enfocado en los procesos de toma de decisiones a partir de estímulos sensoriales. Más específicamente, el proyecto está interesado en estudiar el

papel de la corteza premotora ventral (CPV), un área particular del lóbulo frontal de mono Rhesus. Para esto se emplea una tarea de discriminación sensorial, conocida como tarea de discriminación bimodal (TDB). Esta se fundamenta en que los estímulos presentados pueden ser de dos modalidades sensoriales: somatosensorial y auditiva. La relevancia de utilizar esta tarea en particular, mientras se registra específicamente la CPV, queda plasmada en la serie de antecedentes descritos a continuación.

1.1. ANTECEDENTES

1.1.1. Codificación de estímulos en tareas de discriminación sensorial

La primera versión de la TDB, desarrollada en estudios previos en mono Rhesus, se conoce como tarea de discriminación somatosensorial [2, 3]. Esta consiste en la discriminación entre las frecuencias de dos estímulos vibrotáctiles presentados de forma consecutiva, donde el animal debe indicar cuál de las dos frecuencias es mayor para poder obtener jugo como recompensa. Los estímulos, generados por un estimulador mecánico, son entregados sobre la piel del dedo índice de una mano restringida del primate, el cual se encuentra en una silla especial. Se asume que el mono ha aprendido a resolver la tarea cuando, tras un entrenamiento de varios meses y una serie de evaluaciones psicofísicas, se corrobora un desempeño constantemente mayor al 75%. En estos primeros estudios empleando la tarea de discriminación somatosensorial, se registró y analizó la actividad en la corteza somatosensorial primaria (S1) durante la ejecución de la misma [4, 5, 6, 7]. Esta área forma parte de las cortezas sensoriales primarias, las cuales se sabe que participan en el procesamiento de la información sensorial de alguna de las distintas modalidades (en este caso táctil). Sin embargo, no está del todo claro cuánta participación tienen en otros procesos cerebrales como la memoria y la toma de decisiones. Estos trabajos revelaron que la función de la población de neuronas en S1 es la de generar una copia neuronal del parámetro de interés (frecuencia) de los estímulos entrantes. Dicho de otra manera, a partir de la actividad neuronal en S1 ante la llegada de un estímulo vibrotáctil, es posible decodificar la frecuencia con la que el estimulador mecánico está entrando en contacto con la piel del mono. Esto apunta a que el primer paso en la toma de decisiones a partir de estímulos externos, consiste en crear una copia interna de los mismos con base en la información sensorial recolectada. En estudios subsecuentes, en los que el mono había sido entrenado en el paradigma de la tarea de discriminación somatosensorial, se reemplazó uno de los estímulos vibrotáctiles por una serie de pulsos eléctricos (con una frecuencia equivalente a la del estímulo) en S1 [8, 9]. Se encontró que los animales mantienen su desempeño aún después de este cambio. En principio, esto sugiere que la estimulación eléctrica genera una percepción de un valor de frecuencia dado, el cual puede ser comparado con la frecuencia codificada a partir del otro estímulo. Esto apoya la idea de que S1 tiene el papel de generar una representación de los estímulos sensoriales, la cual es luego procesada por otras áreas corticales para alcanzar una decisión.

No obstante, el hecho de que esta primera tarea de discriminación sensorial emplee únicamente estímulos táctiles, deja sin respuesta la pregunta de si estos procesos ocurren del mismo modo en áreas sensoriales primarias asociadas a otra modalidad sensorial. Para responder a esta interrogante, se desarrolló una variante de la tarea de discriminación sensorial, en la cual los monos deben decidir cuál de dos estímulos auditivos emitidos por una bocina de forma consecutiva tiene mayor frecuencia [10]. En este caso, al registrar y analizar la actividad de la corteza auditiva primaria (A1) durante el transcurso de esta tarea, se encontraron patrones de actividad equivalentes a lo observado en S1 ante la presentación de los estímulos vibrotáctiles. En conjunto, estos antecedentes sugieren que las distintas áreas sensoriales primarias cumplen un rol en la codificación de los estímulos, cuando estos son presentados en su modalidad respectiva.

1.1.2. Memoria de trabajo y comparación de frecuencias en tareas de discriminación sensorial

Teniendo en cuenta que estas tareas de discriminación exigen comparar la frecuencia del primer estímulo (f_1) con la del segundo (f_2), es necesario que el mono mantenga f_1 en la memoria de trabajo hasta la llegada del segundo estímulo para poder realizar esta comparación. La codificación de esta memoria consiste en actividad neuronal que lleva la información de f_1 y que se extiende más allá del periodo de estimulación. En otras palabras, esta memoria de trabajo es una actividad neuronal evocada por la presentación del primer estímulo, a partir de la cual se puede decodificar el valor de f_1 y que se extiende al periodo que separa la llegada del segundo estímulo (periodo de retraso). La población de la corteza prefrontal (CPF), otra de las regiones ubicadas en el lóbulo frontal, fue una de las primeras en las que se reportó la existencia de neuronas con memoria de trabajo durante la tarea de discriminación somatosensorial [11]. Estas células se clasificaron con base en la evolución temporal de su actividad a lo largo del periodo de retraso. Las neuronas tempranas presentan actividad dependiente de f_1 al inicio del periodo, las tardías lo hacen hacia el final y las persistentes la mantienen durante todo el periodo.

A diferencia de la actividad neuronal asociada con la memoria de trabajo, la cual solo depende de f_1 , el hecho de que una neurona participe en la codificación de la comparación de frecuencias, implica que su actividad lleva información tanto de f_1 como de f_2 [12]. Una manera de estudiar este tipo de codificación es analizar cuánto depende la actividad de la neurona de f_1 y de f_2 en un momento dado. Para esto, se ha utilizado un ajuste multivariado:

$$Td = a_1 f_1(t) + a_2 f_2(t) + c \quad 1.1$$

donde Td es la tasa de disparo neuronal en cada ventana temporal (t), c es una constante, y a_1 y a_2 son los coeficientes que sirven para medir la dependencia que tiene Td de f_1 y f_2 , respectivamente. De este modo, mientras que los valores de Td con $a_1 \neq 0$ y $a_2 \approx 0$ dependen solo de f_1 y los valores con $a_2 \neq 0$ y $a_1 \approx 0$ solo de f_2 , los valores con a_2 y $a_1 \neq 0$ representan respuestas en función tanto de f_1 como de f_2 . Dicho de otra forma, en términos de ajuste multivariado, solo este último tipo de respuesta,

dependiente tanto de f_1 como de f_2 , está asociada a la comparación de frecuencias. Esta codificación, junto con la de memoria de trabajo, se ha encontrado durante la tarea de discriminación vibrotáctil en la corteza somatosensorial secundaria (S2) [12, 13], en CPF [13], en la corteza premotora medial (CPM) [13, 14], y en la CPV [13, 15]. Además, estos tipos de codificación también se encontraron en la CPV durante la tarea de discriminación acústica [16].

1.1.3. Tarea de discriminación categórica

Todos los resultados presentados hasta ahora se basan en tareas que exigen al animal tomar una decisión a partir de una comparación de frecuencias, independientemente de si se trata de sonidos o vibraciones mecánicas. Esto vuelve pertinente preguntarnos si los procesos cerebrales de codificación y mantenimiento en memoria son exclusivos de la comparación de frecuencias, o si se trata de procesos independientes de la característica de los estímulos presentados. Con el objetivo de abordar este cuestionamiento, en un estudio reciente llevado a cabo en el laboratorio, se implementó una nueva variante de la tarea, denominada de discriminación categórica [6]. En esta tarea, el mono debe indicar si el patrón estructural de dos estímulos vibrotáctiles presentados de forma consecutiva es el mismo. Es decir, aunque los estímulos mantienen una misma frecuencia promedio, la separación temporal entre los contactos de la punta con la piel en un mismo estímulo pueden presentar una estructura agrupada o separada. Al registrar la actividad en S1, se identificó nuevamente que esta área cumplía un rol en la generación de una copia neuronal de los estímulos, al presentar patrones de actividad que replicaban la estructura agrupada o separada de los mismos. En cambio, al registrar la corteza prefrontal dorsal (CPD) se encontró evidencia de codificación de memoria de trabajo y comparación de los estímulos. Posteriormente, en este mismo estudio se utilizó una tarea control, en la cual al mono se le indicó la respuesta correcta con una luz sobre el botón que debe presionar para indicar cuál de los estímulos tuvo mayor frecuencia. Como es posible imaginar, esto elimina la demanda cognitiva necesaria para alcanzar la respuesta correcta, puesto que deja de ser necesario mantener f_1 en memoria de trabajo para posteriormente compararla con f_2 . Al analizar los registros obtenidos durante esta tarea control, se observó que la actividad en la CPD prácticamente desapareció, mientras que en S1 se mantuvo sin cambios. Esto confirma el rol único de S1 en la codificación de los estímulos y apoya la idea de que la actividad de la CPD, y posiblemente también la de otras áreas frontales con codificación de memoria de trabajo y comparación de frecuencias, está asociada con los procesos cognitivos de mayor abstracción requeridos para la toma de decisiones a partir de información sensorial [6].

1.1.4. Tarea de discriminación bimodal

Las evidencias descritas hasta ahora demuestran que, durante tareas de discriminación sensorial, el papel de las cortezas sensoriales primarias consiste en generar una copia neuronal de los estímulos entrantes. Estas copias son posteriormente utilizadas por circuitos, principalmente en áreas frontales, para la codificación de la memoria de trabajo

y de la toma de decisiones. A pesar de esto, algunos trabajos sugieren que las cortezas sensoriales primarias no solo tienen una participación en los procesos de memoria de trabajo y toma de decisiones [17, 18], sino que además presentan una codificación de tipo multimodal (de más de una modalidad sensorial) [19, 20]. Sin embargo, descartar la posibilidad de que en estas áreas ocurre el procesamiento de información proveniente de distintos canales sensoriales, exige utilizar una tarea en donde los estímulos presentados sean de más de una modalidad. Esta fue la motivación que llevó al desarrollo de la TDB. Como se mencionó al inicio, esta tarea es la base de este proyecto, y consiste en que la pareja de estímulos presentados de forma consecutiva pueden ser ambos auditivos, vibrotáctiles o de modalidad cruzada (táctil-auditivo o auditivo-táctil) [21]. Los primeros resultados de este estudio recolectaron la actividad neuronal de las cortezas sensoriales involucradas: S1 y A1. Los resultados mostraron que ambas áreas responden y codifican la propiedad del estímulo únicamente mientras este está presente y solo cuando el estímulo pertenece a la modalidad principal del área registrada. Esto reafirma aún más el hecho de que estas áreas corticales participan solo en la generación de los códigos neuronales con las características de los estímulos de su modalidad respectiva y que es en otras regiones cerebrales en donde se codifica la memoria de trabajo y la toma de decisión.

El desarrollo de la TDB permitió abordar por primera vez la interrogante de si la codificación de memoria de trabajo en las distintas regiones del lóbulo frontal es llevada a cabo por poblaciones independientes de la modalidad sensorial o si bien existen grupos diferentes para cada modalidad [11]. En un estudio reciente se abordó este cuestionamiento para la población del área pre-suplementaria motora (pre-SMA, por sus siglas en inglés), la cual forma parte de la CPM. Nuevamente, al analizar la actividad de esta corteza a medida que el mono ejecutaba la tarea, se encontró evidencia de codificación de memoria de trabajo y comparación de frecuencias [22]. Posteriormente, en este mismo estudio se reportó la existencia de neuronas con codificación de memoria de trabajo y comparación de frecuencias específicas para la modalidad táctil (unimodal táctil), neuronas con codificación específica para la modalidad auditiva (unimodal auditiva) y neuronas con codificación de ambas modalidades (bimodal) [22]. En su mayoría, las neuronas reportadas presentaron codificación y mantenimiento en memoria de los estímulos de manera bimodal. Esto implica la utilización de un mismo código neuronal para procesar y mantener la información, independientemente de que su vía de entrada haya sido la cóclea o los mecanorreceptores de la piel. Esto denota un nivel de abstracción muy grande en pre-SMA. Aunque estos resultados plantean la posibilidad de que esta misma diversidad funcional de neuronas esté presente en el resto de las regiones cerebrales con este tipo de codificación, se necesitarán más estudios que implementen tareas de discriminación con más de una modalidad sensorial para comprobarlo.

1.1.5. Jerarquía en la vía de procesamiento

En un estudio reciente se recopilaron los resultados de trabajos analizando la actividad de distintas cortezas de mono Rhesus durante la tarea de discriminación somatosensorial

[7]. Entre estas cortezas se incluye a las ya mencionadas S1, CPV y CPM. Se aplicaron métricas relacionadas con la latencia de respuesta de las distintas áreas y con el grado de información que su actividad arroja sobre la decisión que toma el mono. Al comparar estas tres cortezas, se encontró que la actividad en S1 presenta la menor latencia y es también la menos informativa con respecto a la respuesta del primate. Aunque la actividad en la CPV tuvo más latencia e información que S1, fue la actividad en la CPM la que presentó la mayor latencia y grado de información. Con base en estos resultados, este estudio planteó la existencia de una jerarquía en la vía de procesamiento necesaria para que el mono alcance una decisión a partir de estímulos entrante. En esta jerarquía, S1 ocupa una de las posiciones inferiores, CPV una posición intermedia y CPM una de las posiciones superiores. En el caso de S1 y CPM, estas posiciones parecen coincidir con el grado de abstracción del código de procesamiento empleado por cada área. Por un lado, la CPM emplea un código altamente abstracto, denotado por el predominio de una población neuronal con codificación independiente de la modalidad sensorial [22]. Por el otro lado, S1 está conformada por una población neuronal completamente dependiente de la modalidad de los estímulos entrantes [21]. Bajo este contexto, el presente proyecto busca caracterizar la población neuronal de la CPV en términos de su tipo de codificación. Es decir, se busca identificar si en efecto existen subpoblaciones separadas con codificación unimodal táctil, unimodal auditiva y bimodal. En caso de ser así, estimar el predominio de cada una de las subpoblaciones permitirá corroborar o refutar la posición intermedia que se le adjudica a esta corteza en la jerarquía de la vía de procesamiento.

1.2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Se ha estudiado la actividad de la CPV en mono Rhesus durante la resolución de tareas de discriminación somatosensorial [13, 15] y acústica [16]. Se encontró que las neuronas de esta corteza participan en la codificación de los parámetros tanto de estímulos vibrotáctiles como auditivos. Además, esta codificación se mantiene más allá del periodo de retraso, denotando también una participación en los procesos de memoria de trabajo y toma de decisiones. Sin embargo, se desconoce si estas neuronas procesan más de una modalidad sensorial, puesto que la población neuronal registrada con cada modalidad no fue la misma. Por lo tanto, no es posible concluir que un mismo grupo neuronal sea capaz de codificar tanto la información táctil como la auditiva. Dicho de otro modo, se desconoce si cada neurona de la CPV procesa ambos tipos de estímulos, o por el contrario, si cada neurona procesa solo una modalidad sensorial. Con base en esto, el presente proyecto utiliza análisis poblacionales y de neurona individual para entender el papel que desempeña esta corteza durante la resolución de la TDB en el mono Rhesus. De manera más específica, se abordan las siguientes preguntas: ¿Cómo las poblaciones de neuronas de la CPV codifican la información auditiva y táctil a lo largo de la TDB?, y ¿La misma población codifica más de una modalidad sensorial o son poblaciones independientes? Responder a este último cuestionamiento permitirá hacernos una idea del grado de abstracción presente en esta área. A su vez, esto permitirá identificar su posición en la jerarquía de la vía de procesamiento implicada en la toma de decisiones [7].

1.3. HIPÓTESIS

- **Hipótesis 1:** Al analizar con métodos poblacionales y de neurona individual los registros de actividad de la CPV en mono Rhesus, obtenidos durante la TDB, se observa una codificación y mantenimiento en memoria de trabajo de los estímulos.
- **Hipótesis 2:** La población de la CPV está conformada por tres tipos neuronales: uno con codificación exclusiva de la modalidad somatosensorial, otro exclusivo de la modalidad auditiva y un tercer grupo con codificación de ambas modalidades.
- **Hipótesis 3:** Existe un predominio de la población con codificación exclusiva de una modalidad sensorial, denotando un bajo grado de abstracción en CPV, adjudicándole una posición intermedia en la jerarquía de la vía de procesamiento para la toma de decisiones.

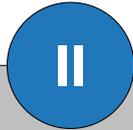
1.4. OBJETIVOS

1.4.1. Objetivo general

Caracterizar los patrones de actividad de la población de neuronas que compone a la CPV de mono Rhesus durante la TDB.

1.4.2. Objetivos específicos

- Identificar a las neuronas individuales de los registros de CPV durante la TDB utilizando un algoritmo de clasificación de espigas desarrollado en el laboratorio.
- Identificar los tipos de codificación de las neuronas por medio de ajustes de tipo lineal utilizando pruebas de permutación para estimar la significancia.
- Analizar la actividad de la población a lo largo de la tarea por medio de distintos cálculos de varianza poblacional, así como del estudio de los primeros componentes principales y la tasa de disparo misma en este espacio reducido.
- Clasificar y cuantificar los tipos neuronales con codificación de acuerdo con la modalidad de los estímulos, como neuronas somatosensoriales, auditivas o bimodales.



Métodos

“No puedes manejar lo que no puedes medir”

-Peter Drucker

Dilucidar las dinámicas de actividad en poblaciones neuronales durante procesos de naturaleza tan abstracta como los requeridos para la toma de decisiones en tareas de discriminación sensorial, es una labor compleja. No obstante, desde los primeros orígenes del método científico, la humanidad ha sido capaz de resolver problemas complejos en el ámbito de la ciencia. Esto ha sido gracias al abordaje de estos problemas de forma sistemática y metódica, permitiendo descomponer la complejidad en partes. René Descartes, uno de los pilares en el desarrollo de este paradigma científico, planteó en su Discurso del Método: *Todo lo complejo puede dividirse en partes simples*. En términos prácticos, el procedimiento científico exige la recopilación de mediciones objetivas, precisas y reproducibles, de modo que el trabajo del investigador se vuelve identificar y cuantificar las variables de relevancia para el fenómeno estudiado. En relación a esto, Galileo Galilei, otro de los pilares en el desarrollo del método científico, expresó: *mide lo que es medible y haz medible lo que no lo es*. Siguiendo estos principios, en este segundo capítulo se describirá paso a paso los procedimientos experimentales empleados para abordar la problemática planteada en el primer capítulo.

En la primera sección de este segundo capítulo se abordará con profundidad los distintos aspectos alrededor de la TDB. Esto incluye una descripción de la tarea, de los instrumentos requeridos para su ejecución, del entrenamiento al que es sometido el mono para aprender las reglas de la misma y de las evaluaciones utilizadas para corroborar este aprendizaje. En la segunda sección se describirá la localización anatómica del área cortical de interés, en este caso CPV. También se expondrán los materiales y métodos utilizados para la obtención de los registros electrofisiológicos durante la realización de la tarea, lo cual incluye el procedimiento quirúrgico para la implantación de los electrodos. En la tercera y última sección se abordarán los distintos análisis utilizados para la evaluación de la actividad neuronal a lo largo de la tarea. Primero se incluye una ligera descripción del algoritmo de clasificación de espigas, mismo que será descrito detalladamente en el tercer capítulo, empleado para la identificación de neuronas individuales. En la siguiente parte se describen los programas utilizados para los cálculos de ajuste lineal, pruebas de permutación, análisis de componentes principales (ACP) y cálculos de varianza poblacional.

Cabe recalcar que el presente estudio parte de bases de datos que fueron obtenidas en el laboratorio de manera previa, por medio del registro de la actividad de un primate entrenado para resolver la TDB. Todo lo relacionado con este entrenamiento y adquisición de datos se llevó a cabo por personal especializado en el área. La utilidad de describir en detalle estos protocolos, a pesar de que no formaron parte del trabajo realizado por mí, reside en contextualizar al lector ante los resultados presentados. En el proyecto me dedico únicamente al análisis de estos registros de actividad cerebral, los cuales comienzan con la aplicación del algoritmo de clasificación de espigas para aislar a las neuronas individuales de la población.

2.1. TAREA DE DISCRIMINACIÓN BIMODAL

La TDB consiste en la presentación de un par de estímulos de forma consecutiva bajo condiciones de laboratorio controladas. Estas condiciones implican, entre otras cosas, la fijación del mono en una silla especial. La pareja de estímulos puede provenir de una bocina, siendo entonces de naturaleza auditiva (AA). También puede provenir de una punta mecánica controlada por computadora que entra en contacto con la piel del primate con una cierta frecuencia, siendo entonces de modalidad táctil (TT). En un tercer caso, uno de los estímulos es auditivo y el otro vibrotáctil, alternando entre ensayos el orden de presentación de los mismos (AT o TA). Este tipo de ensayos se clasifica como de modalidad cruzada. En esta tarea, una vez que se presentaron ambos estímulos, el mono debe indicar cuál de estos tuvo la mayor frecuencia, independientemente de su modalidad sensorial. Para esto, el primate debe presionar uno de dos posibles interruptores que tiene a su alcance. El animal es recompensado en los ensayos correctos con cierta cantidad de jugo, mientras que no recibe nada en los ensayos incorrectos. Para alcanzar un buen desempeño en la resolución de la tarea, el mono necesita de un largo y consistente proceso de entrenamiento. A su vez, tanto el entrenamiento como la ejecución de la tarea, requieren de un equipo tecnológico específico.

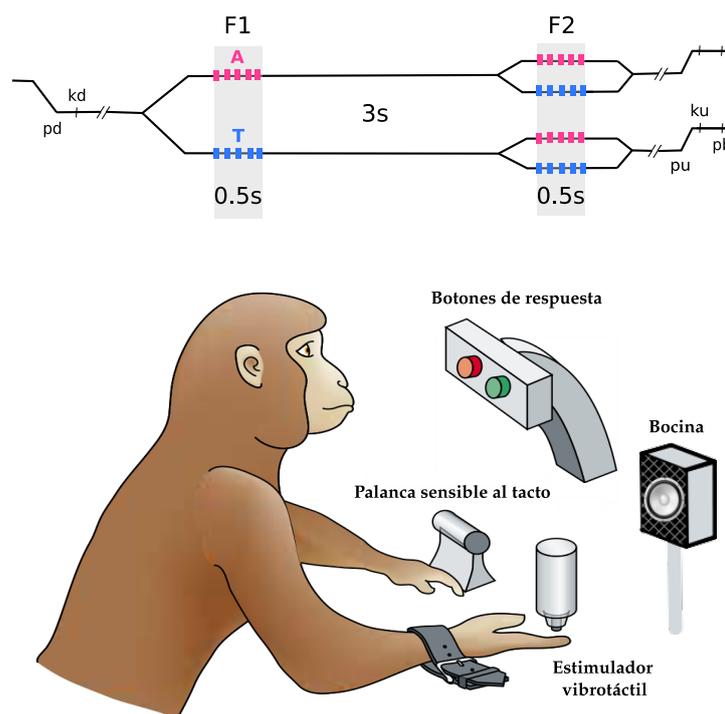


Fig. 2.1: Tarea de discriminación bimodal. Un ensayo de la tarea inicia con el estimulador mecánico aplicando una presión sostenida sobre uno de los dedos en la mano fija del mono (pd, por sus siglas en inglés). Tras esta señal el animal posiciona su mano libre sobre una palanca sensible al tacto (kd, por sus siglas en inglés) y la mantiene en esa posición hasta el final del ensayo. Seguido de un periodo de 2 a 4 segundos, el primate recibe un primer estímulo con duración de 0.5 segundos. Este estímulo puede ser de modalidad táctil (T), por medio del estimulador mecánico, o de modalidad acústica (A), a través de una bocina. Separado por un periodo de retraso de 3 segundos, el mono recibe un segundo estímulo de modalidad A o T. Después de 2 segundos, el estimulador deja de aplicar la presión fija sobre el dedo del animal (pu, por sus siglas en inglés). Esta es la señal para que el primate suelte la palanca (ku, por sus siglas en inglés) e indique qué estímulo tuvo la mayor frecuencia presionando uno de los dos botones (pb, por sus siglas en inglés).

2.1.1. Equipo y materiales

En esta tarea, el animal es sentado en una silla especialmente diseñada para monos. Ésta es colocada en una ranura de una mesa metálica a prueba de vibraciones. El brazo izquierdo es contenido por medio de una férula y la palma de la mano y dígitos colocados hacia arriba. La férula es sujeta a la silla del mono y la mano inmovilizada sobre la mesa. Los estímulos vibrotáctiles son aplicados sobre la piel de la mano por medio de un estimulador diseñado y construido para nuestros propósitos por la compañía *BME Systems* de Baltimore. Este estimulador es un robot que permite la presentación de frecuencias en el rango de 1 a 400 Hertz (Hz) con amplitudes controladas de 1 a 300 micras. El estimulador es controlado por un algoritmo alojado en la computadora e interactúa con el estimulador por medio de una interfaz de circuitos electrónicos. Los estímulos auditivos son presentados por medio de una bocina bajo control de un algoritmo computacional. Un estímulo auditivo consiste en una serie de trenes de sonido de 1 kHz, lo cual se encuentra dentro del espectro audible del mono. Cada tren posee una duración de 20 milisegundos (ms). La frecuencia de cada estímulo está dada por los intervalos entre los trenes que lo conforman, abarcando un rango que va de los 4 a los 40 Hz.

2.1.2. Entrenamiento

Con el objetivo de corroborar que el desempeño del primate en la tarea de discriminación no se ve afectado por inconvenientes en la detección de los estímulos, los animales son inicialmente entrenados en una tarea de detección de estímulos vibrotáctiles y auditivos. De este modo, su entrenamiento en la tarea de discriminación se lleva a cabo solo tras haber logrado un alto desempeño en esta tarea de detección [3, 16, 22]. En este primer entrenamiento de detección, un estimulador mecánico operado por una computadora mueve una punta de prueba sobre la superficie de la piel de un dedo de la mano restringida. Este movimiento produce una presión sostenida de 500 micras. Luego de un periodo de espera tras la detección del contacto de la punta de prueba (1.5 a 4.5 segundos), el estimulador presenta dos estímulos vibrotáctiles o una bocina dos estímulos auditivos consecutivos con una duración cada uno de 500 ms y separados por un periodo de 3 segundos. La tarea del sujeto consiste en colocar la mano no estimulada sobre una palanca sensible al tacto luego del contacto de la punta de prueba, iniciando así un ensayo. La mano debe ser retirada de la palanca en respuesta a la finalización del segundo estímulo. La detección del segundo estímulo debe ser indicada en una ventana de tiempo que no exceda los 600 ms. Cuando el animal logra un desempeño cercano al 100% de estímulos detectados, se procede al entrenamiento en la tarea de discriminación entre parejas de estímulos vibrotáctiles, auditivos o de modalidad cruzada, los cuales difieren en unos cuantos Hz (5-45 Hz).

Para el entrenamiento en la TDB, el animal es colocado en la silla especialmente diseñada para primate diariamente. El mono es luego transportado al laboratorio y la silla montada en la ranura de la mesa metálica, dando comienzo a una sesión de entrenamiento. Al sujeto inicialmente se le enseña a colocar su mano sobre la palanca para obtener

una recompensa en forma de jugo. La primera aproximación al estímulo es únicamente con la modalidad somatosensorial. Esta se lleva a cabo por medio del contacto de la punta de prueba en la piel de la mano restringida, aplicando una presión con valores en el umbral perceptual (0.5 a 1.5 milímetros de profundidad) con el estimulador táctil. Posteriormente, el animal es entrenado para colocar su mano sobre la palanca solo cuando el estimulador entra en contacto con la piel. El siguiente paso consiste en aplicar un estímulo con una frecuencia de 30 Hz con una duración de 2 segundos y con una intensidad de 100 micras y enseñarle al mono a retirar su mano de la palanca cuando el estímulo termina. Los animales aprenden esta secuencia sincronizándose al curso temporal de los eventos. Esta conducta es luego extinguida, y una fuerte conexión con el estímulo vibrotáctil es establecida, por medio de la presentación aleatoria de los eventos. El animal revela su capacidad para detectar el estímulo vibrotáctil en ensayos consecutivos donde la frecuencia de estímulo varía de ensayo en ensayo. Posteriormente, se introduce una separación a la mitad del estímulo, la cual es incrementada de forma progresiva hasta que sea de 1 segundo. En esta situación el animal siente la presencia de dos estímulos. Luego, la frecuencia del segundo estímulo (f_2) varía con respecto a la del primero (f_1). Si el segundo estímulo es de mayor frecuencia que el primero, el animal debe indicar detección del segundo y proyectar su mano a un interruptor colocado a la altura de sus ojos (lateral). En cambio, si f_2 fue menor que f_1 , el animal debe proyectar su mano a un interruptor medial, adyacente al lateral. El mismo paradigma de entrenamiento es utilizado para los estímulos auditivos. Una vez entrenados los monos en las dos tareas, los ensayos de ambas tareas serán presentados de forma aleatoria. Posteriormente, se utilizarán estímulos con modalidad sensorial cruzada [22]. La capacidad de discriminación de estos estímulos será evaluada por medio de funciones psicométricas [3]. El sujeto experimental del presente proyecto recibió entrenamiento durante 1 año, logrando un desempeño del 85 %.

2.1.3. Evaluación del desempeño conductual

Para medir el desempeño del animal se utiliza una función psicométrica. Este es un modelo inferencial aplicado en tareas de detección y discriminación. Permite modelar la relación entre una característica dada del estímulo físico, en este caso la frecuencia, y las respuesta de elección obligada en humanos o animales no humanos [23]. En este caso, se obtienen dos funciones psicométricas. En la primera, el desempeño del animal es expresado como la probabilidad de que éste indique $f_2 > f_1$ en función de los valores de f_1 , los cuales varían en pasos de 2 Hz en el rango de 12 a 28 Hz, mientras f_2 se mantiene fija en 20 Hz. En la segunda función psicométrica es f_2 la que varía y f_1 se mantiene fija. Tras recopilar los valores de probabilidad obtenidos para cada pareja de frecuencias en los rangos indicados, se utiliza la función logística de Boltzmann para ajustar los datos:

$$p = \frac{A_1 - A_2}{1 + e^{(x-x_0)/dx}} + A_2$$

2.1

21

donde p es el porcentaje de ensayos en los que se indicó $f_2 > f_1$, x es la frecuencia de comparación, A_1 y A_2 son los valores mínimos y máximos de p , respectivamente; x_0 es la frecuencia del estímulo para la cual $p = (A_1 + A_2)/2$ y dx determina el dominio de la función. A partir de este ajuste puede calcularse el umbral de discriminación o umbral psicométrico (UP). Este se calcula restando el inverso del valor de f_2 que fue mayor a f_1 en el 25 % de los ensayos, al inverso de la f_2 que fue mayor a f_1 en el 75 % de los ensayos, y dividiendo el resultado entre 2. De este modo, el UP indica la diferencia mínima requerida para discriminar dos estímulos con una eficacia por encima del 75 %. Como se mencionó en la sección 2.1 de este capítulo, el mono debe discriminar bajo 4 condiciones posibles, dadas por la modalidad de la pareja de estímulos de cada ensayo: TT, TA, AT y AA. Así, al calcular y comparar el UP de cada una de estas condiciones, se puede determinar si existe una diferencia en el desempeño del animal entre los ensayos de modalidad cruzada y los ensayos de una única modalidad. En otras palabras, es posible identificar si la ejecución de la tarea por parte del mono implica una abstracción superior independiente de la modalidad de los estímulos.

2.2. REGISTROS ELECTROFISIOLÓGICOS

Con el objetivo de entender qué es lo que las distintas poblaciones neuronales de nuestra área de interés CPV se encuentran haciendo durante la ejecución de la tarea por parte del mono, es necesario obtener registros de la actividad de estas neuronas durante múltiples sesiones de dicha tarea. A partir de esto es que se opta por la obtención de registros de tipo extracelular. Este tipo de registro no solo permite ignorar los eventos neuronales subumbrales, sino que, al requerir de la implantación de microelectrodos en la región cerebral de interés, permiten registrar la actividad neuronal a lo largo de muchas sesiones de la tarea [24]. Para llevar a cabo la implantación de los electrodos, se requiere de un procedimiento quirúrgico realizado por personal del laboratorio especializado en el área.

En el presente proyecto la presentación de los estímulos vibrotáctiles es unilateral. Esto quiere decir que los estímulos son entregados en una única mano del primate. A pesar de esto, la implantación de los electrodos en la CPV se lleva a cabo de forma bilateral. La justificación de esto es que, aunque esta corteza recibe información ipsilateralmente de las áreas somatosensoriales primarias, también existen fuertes conexiones contralaterales entre la CPV de ambos hemisferios [25, 26, 27]. Esta decisión se apoya de los resultados obtenidos por un estudio previo, en donde se analizó la actividad de la CPV derecha e izquierda durante una tarea de discriminación somatosensorial [13]. En ambas cortezas se encontraron patrones de respuesta neuronal equivalentes, asociados con la codificación y mantenimiento en memoria de los estímulos. Esto sugiere que, independientemente de la mano en la que se recibe la información somatosensorial, ambas cortezas participan en los procesos cognitivos implicados en la resolución de la tarea.

2.2.1. Procedimientos quirúrgicos

Una vez que los animales son capaces de llevar a cabo la tarea de discriminación, son sometidos al siguiente procedimiento quirúrgico. Bajo anestesia general y en condiciones de asepsia, se les implanta sobre la superficie del cráneo un contenedor cefálico y una cámara de acero inoxidable. A través de estos implantes, habiéndose realizado previamente una craneotomía, se hacen penetraciones transdurales con un sistema multimicroelectrodos [11, 28]. Estas penetraciones se llevan a cabo en la CPV de ambos hemisferios cerebrales, localizadas utilizando un atlas de cerebro de mono Rhesus [29]. Todos los componentes metálicos son fijados al cráneo con cemento dental. Luego de la recuperación postoperatoria, la cabeza del animal es sujeta en intervalos de tiempo progresivos hasta completar un periodo de 6 a 7 horas. El entrenamiento final comprende la adaptación del mono al contenedor cefálico, y el trabajo en la tarea de discriminación de los estímulos vibrotáctiles y auditivos en tiempos irregulares, simulando un experimento de psicofísica y de neurofisiología. Durante esta fase final, se presta atención a los tiempos de reacción, los cuales son de aproximadamente 300 ms.

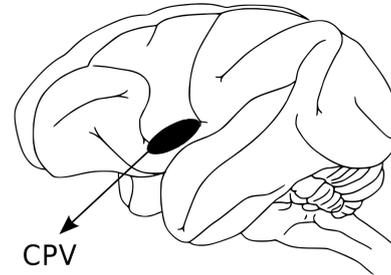


Fig. 2.2: **Corteza Premotora Ventral.** Localización de la CPV en el cerebro de mono Rhesus.

2.2.2. Registros extracelulares

La actividad extracelular de neuronas individuales de la CPV de ambos hemisferios es registrada con microelectrodos de una aleación de tungsteno/platino, forrados con cuarzo y con un diámetro total de 80 micras. Esta fibra es posteriormente estirada, de modo que la punta de registro termina con 2 a 3 micras de diámetro. Estos microelectrodos son introducidos al cerebro transduralmente por medio de una técnica que permite el movimiento individual de cada uno [2]. Los sitios de registros son cambiados cada día y por cada grupo de neuronas se colectan entre 5 y 10 ensayos para cada par de frecuencias. El sistema puede introducir hasta 7 microelectrodos en arreglos lineales o en rosetas, con separación entre ellos de 100 micras a 1 milímetro. Este sistema de registro permite el estudio de microcircuitos corticales. Los impulsos de las neuronas son observados en osciloscopios. Las descargas de los componentes somatodendríticos serán discriminados contra aquellos que se originan de las fibras, utilizando criterios establecidos [30]. Las descargas neuronales son transformadas en pulsos por medio de un discriminador de voltaje. Estos pulsos son continuamente monitoreados en el osciloscopio junto con la forma original de la descarga neuronal.

2.2.3. Adquisición de datos

Utilizando rutinas escritas en lenguaje de programación C por personal del laboratorio especializado en el área, los registros de la actividad neuronal son guardados como los intervalos entre los impulsos sucesivos para cada neurona. Esto se guarda junto con los tiempos de los eventos conductuales y de los estímulos. Este procedimiento permite una reconstrucción del registro completo de cada ensayo. De este modo, la actividad neuronal puede ser estudiada con referencia a cualquiera de los eventos de la tarea, siendo posible utilizar distintas herramientas estadísticas para analizar los datos en relación con estos eventos. Los intervalos entre los eventos son presentados aleatoriamente.

Como ya se mencionó, la adquisición de los datos empleados en el presente proyecto se realizó por personal del laboratorio. Esta adquisición se llevó cabo a lo largo de 172 sesiones de registro, en un periodo de 6 meses. Cada sesión de registro se efectuó en un día distinto. La cantidad de ensayos de la TDB varió de una sesión a otra. Esto se debe, entre otros factores, a la disposición que presentó el animal ese día para resolver la tarea.

2.3. ANÁLISIS DE DATOS

El principal objetivo de este estudio es confirmar o descartar la existencia de una relación entre las dinámicas de las poblaciones neuronales de CPV y los distintos procesos cognitivos llevados a cabo por el mono para la toma de decisiones durante la TDB. Teniendo en mente que en los registros de tipo extracelular cada microelectrodo suele detectar los disparos de unas cuantas neuronas cercanas de forma simultánea, junto con el ruido de actividad eléctrica a causa de neuronas más lejanas, es necesario someter estos registros a un procesamiento que permita aislar la actividad de las neuronas individuales que componen a estas poblaciones. Esto es importante porque aun neuronas cercanas espacialmente pueden estar participando en procesos completamente distintos [31]. Una manera de llevar a cabo esta separación es a través de la técnica de clasificación de espigas.

2.3.1. Clasificación de espigas

Cada neurona presenta una forma de disparo única, la cual está dada por sus propiedades morfológicas, su distancia al electrodo de registro, por su patrón de expresión de canales iónicos de membrana, entre muchos otros factores [32, 33]. De este modo, una manera de clasificar a dos neuronas como distintas, es corroborando que la forma de sus espigas sea diferente. Este es el principio que subyace el algoritmo de clasificación de espigas. Esta técnica separa las distintas formas de disparo que se encuentran en los registros extracelulares y después agrupa a todas las espigas que comparten una misma forma, considerando entonces que provienen de una única neurona [32, 34].

Existen múltiples variantes de esta técnica, cuyas diferencias radican principalmente en las características de las formas de disparo utilizadas para considerar a dos espigas

como diferentes, y en los algoritmos de agrupamiento empleados [35, 36]. En este trabajo se emplea un programa de clasificación de espigas desarrollado por personal del laboratorio en lenguaje de programación Matlab. La extracción de características de las espigas en este código se basa en una combinación de ACP y transformada de ondícula (TO). A pesar de que en la literatura se ha reportado únicamente la utilización de solo una de estas dos técnicas de forma individual en la extracción de rasgos, su combinación parece demostrar buenos resultados. Con respecto a los algoritmos de agrupamiento, el código ofrece varias opciones a libre elección por parte del usuario para clasificar a las espigas con base en los rasgos extraídos. Sin embargo, en este proyecto se optó únicamente por el algoritmo de agrupamiento K-medias, debido a su practicidad y a que demostró resultados favorables. Las bases teóricas del algoritmo de clasificación de espigas, junto con las características del código empleado en el presente proyecto, serán abordadas con mayor profundidad en el tercer capítulo.

2.3.2. Análisis de neurona individual

De manera más específica, al analizar las dinámicas poblacionales de la CPV, el enfoque principal de este trabajo consiste en estudiar la participación que tienen estas neuronas en los procesos de memoria de trabajo durante la resolución de la tarea. En el contexto de esta tarea, al hablar de memoria de trabajo en términos de neuronas individuales, nos referimos a que la célula presente un tipo de actividad con información sobre $f1$ en el periodo posterior a la entrega del primer estímulo. Más específicamente, el interés de este proyecto reside en caracterizar la proporción de neuronas que presentan este tipo de codificación de forma unimodal táctil, unimodal auditiva y bimodal.

Con base en lo anterior, una vez aislada la actividad de las neuronas individuales, la cual consiste en los tiempos en los que dichas células generaron un potencial de acción en cada ensayo, éstos se agrupan dependiendo de la modalidad del primer estímulo. Se juntan los ensayos con parejas de estímulos de tipo AA y AT en un único grupo auditivo, y los ensayos TA y TT en un grupo táctil. A partir de los tiempos de disparo de estos grupos, se calcula la tasa de disparo (Td) utilizando una ventana gaussiana con sigma de 50 y paso de 10 ms, respectivamente. A partir de estos valores de Td en cada ventana temporal (t), se realiza un análisis de regresión lineal simple para cada neurona en función del valor de $f1$ empleado en el ensayo respectivo:

$$Td(t) = \alpha_0(t) + mf1(t) \quad 2.2$$

donde α_0 es el regresor que indica la ordenada al origen y el coeficiente m corresponde a la pendiente de la recta y sirve como una medida directa de que tan fuerte es la dependencia lineal entre Td y $f1$. De este modo, los valores de m cercanos a 0 denotan la ausencia de una dependencia lineal entre $f1$ y Td . En cambio, valores positivos sugieren la existencia de una dependencia lineal positiva (a mayor $f1$ mayor Td), mientras que valores negativos hablan de una dependencia lineal negativa (a mayor $f1$ menor Td).

2.3.3. Prueba de permutación

Para confirmar la existencia de un efecto entre dos variables es necesario demostrar que dicho efecto no surge del azar. La prueba de permutación es una herramienta estadística que permite evaluar la influencia que está teniendo el azar en un efecto observado. En términos generales, se fundamenta en que, si tras la modificación aleatoria en la organización de los datos de una de las variables el efecto observado se mantiene, podemos asumir que el azar está teniendo relevancia en la aparición de dicho efecto. En cambio, cuando dicho efecto es erradicado, es viable asumir que se trata de un fenómeno real. Esta técnica efectúa esta manipulación aleatoria de los datos de una de las variables una cierta cantidad de ciclos y después estima la proporción de éstos en los que el efecto se mantiene o desaparece. En este caso se utiliza una prueba con 1000 permutaciones y se considera como significativo el efecto que se mantiene en menos del 5% de los ciclos ($p < 0.05$).

En el presente proyecto, lo que nos interesa es analizar si existe un verdadero efecto entre los valores de $f1$ y la Td que presentan las neuronas ante dichos valores. El hecho de que verdaderamente exista un efecto entre estas variables, es un posible indicador de que la neurona se encuentra codificando de forma lineal los valores de $f1$. Por lo tanto, el procedimiento de la prueba de permutación llevada a cabo consiste en aleatorizar el orden de los valores de $f1$, de modo que las Td originalmente asociadas a un valor de $f1$ particular, terminen asociadas a un nuevo valor asignado al azar. Una vez obtenido el nuevo conjunto de valores $f1$ - Td asignados aleatoriamente, se realiza el ajuste lineal. Al obtener los valores absolutos de pendiente en la regresión lineal de cada permutación, se analiza si estos son mayores al valor absoluto obtenido en los ajustes originales de cada ventana temporal. Tras repetir este procedimiento 1000 veces, se considera que la prueba de permutación fue significativa en una ventana particular, únicamente cuando los valores absolutos de pendiente obtenidos tras la aleatorización fueron mayores a los originales en menos del 5% de los casos.

Se considera que una neurona está sintonizada o posee codificación lineal en un periodo particular de la tarea, cuando este está conformado por al menos 4 ventanas consecutivas en las cuales la prueba de permutación fue significativa. Existen distintos factores para determinar el tipo de codificación que presenta una neurona sintonizada. Uno de estos factores es la localización del periodo sintonizado. En este sentido, se considera que una neurona es de tipo sensorial si las ventanas sintonizadas se localizan únicamente en el periodo de llegada del primer estímulo. Esto sugiere que las neuronas se encuentran participando solo en la codificación del estímulo y no en su mantenimiento en memoria. En cambio, siguiendo este mismo criterio, se considera que las neuronas participan en los procesos de codificación de memoria cuando las ventanas sintonizadas se encuentran también en el periodo de retraso. Estas neuronas pueden a su vez clasificarse como tempranas, tardías o persistentes. Las neuronas tempranas presentan sintonización al inicio del periodo de retraso, las neuronas tardías al final y las persistentes durante todo

el periodo. Otro de los criterios para clasificar el tipo de codificación de la neurona, es el valor de las pendientes de ajuste. Una neurona sintonizada con valores de pendiente negativos (relación inversamente proporcional entre T_d y f_1) y positivos (relación directamente proporcional entre T_d y f_1) se clasifica como neurona negativa y neurona positiva, respectivamente. El otro factor determinante del tipo de codificación presente en una neurona es la modalidad sensorial de los estímulos ante los cuales aparece una sintonización. Una neurona que sintoniza únicamente ante estímulos auditivos, se considera una neurona auditiva. Una neurona sintonizando solo a estímulos vibrotáctiles, se clasifica como neurona táctil. En cambio, una neurona que presenta sintonización ante estímulos de ambas modalidades, se considera una neurona bimodal. Cabe aclarar que las clasificaciones dadas por criterios distintos coexisten. Un ejemplo de esto es una neurona que en términos del periodo sintonizado se clasifica como temprana, en términos de los valores de pendiente como positiva, y como auditiva en términos de la modalidad sensorial. En la figura 2.3 se presenta un diagrama que esquematiza las distintas clasificaciones que recibe una neurona según las características de su sintonización.

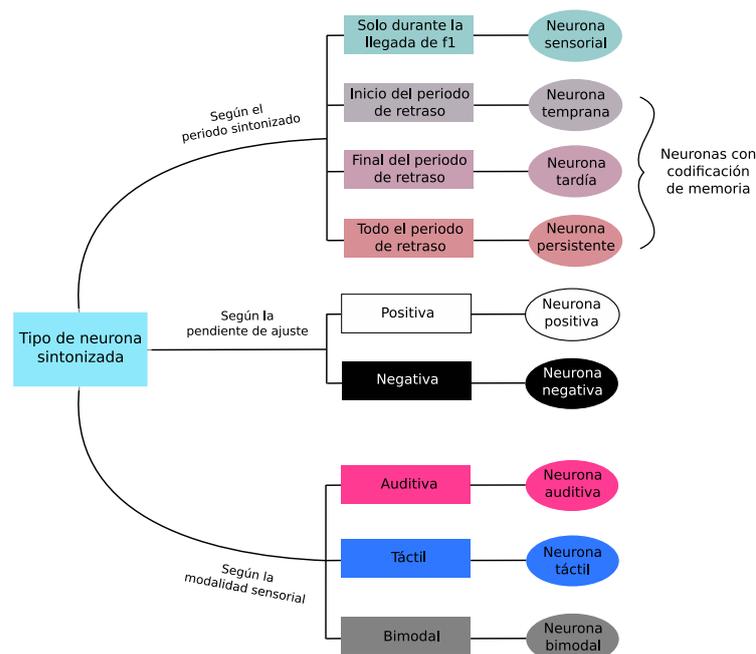


Fig. 2.3: Clasificación de neuronas según el tipo de sintonización. Las neuronas pueden clasificarse dependiendo de la ubicación de las ventanas temporales con sintonización. Una neurona se considera de tipo sensorial si presenta sintonización únicamente en el periodo de llegada del primer estímulo. Una neurona tiene codificación de memoria de trabajo si presenta sintonización en el periodo de retraso. Estas neuronas pueden considerarse tempranas, tardías o persistentes, si las ventanas sintonizadas se ubican al inicio, al final o a lo largo de todo el periodo, respectivamente. Las neuronas también pueden clasificarse según el valor de la pendiente del ajuste lineal. Una neurona se clasifica como positiva o negativa dependiendo de si estos valores de pendiente son positivos o negativos, respectivamente. Las neuronas también se clasifican en términos de la modalidad de los estímulos ante los cuales presentan sintonización. Una neurona sintonizada ante estímulos auditivos, táctiles o ambos, se considera auditiva, táctil o bimodal, respectivamente.

2.3.4. Análisis poblacional

Durante la resolución de las tareas de discriminación sensorial, se han observado patrones de actividad bastante heterogéneos en las neuronas que conforman la población de las distintas cortezas prefrontales [37], incluida CPV [7]. Esto hace que al analizar únicamente la actividad de neuronas individuales, se obtenga una imagen bastante difusa del papel que la región cerebral de interés está teniendo en los procesos cognitivos involucrados a la hora de resolver la tarea. Lo anterior vuelve pertinente que, tras el análisis individual, se proceda a un análisis de tipo poblacional. Esto consiste en estudiar de manera conjunta los patrones de actividad obtenidos de las distintas neuronas de la población. En este sentido, se han desarrollado diversos abordajes que permiten obtener una imagen de lo que el conjunto de células registradas está haciendo a lo largo del paradigma conductual.

Como primer paso del análisis poblacional, con base en el criterio de la prueba de permutación para determinar si una célula presenta o no codificación significativa, se estima qué porcentaje del total de neuronas presenta sintonización a lo largo de la tarea. Esta estimación se realiza manteniendo una separación según los tres tipos de codificación: unimodal táctil, unimodal auditiva y bimodal. Además, manteniendo esta clasificación, se cuantifica el porcentaje de las ventanas temporales de la tarea con sintonización en cada neurona. En conjunto, todo esto ofrece un panorama general de la proporción y magnitud en que la población de la CPV se encuentra participando en la codificación y mantenimiento en memoria de trabajo de los estímulos de una o ambas modalidades sensoriales.

2.3.5. Análisis de Componentes Principales

Una de las premisas más importantes en el estudio de dinámicas poblacionales es la de que, en un momento dado, la actividad de una región cerebral está descrita por el conjunto de valores de Td de las neuronas que conforman dicha población. Partiendo de esta premisa, asumimos que la actividad en la CPV está descrita por un espacio con tantas dimensiones como neuronas registradas. Esta elevada dimensionalidad, aunado a la anteriormente mencionada alta heterogeneidad de respuestas observadas en las células individuales, dificulta la interpretación del curso que sigue la actividad en esta corteza a lo largo de la TDB. Una manera de abordar esta dificultad en la interpretación de la actividad a nivel poblacional, es el empleo de técnicas de reducción de dimensiones. De entre estas herramientas, el análisis de componentes principales o ACP, es una de las más utilizadas. De manera más específica, el ACP es un algoritmo de reducción de dimensiones basado en varianza. En otras palabras, se trata de una técnica que a partir de la gran cantidad de dimensiones en los datos originales, encuentra un nuevo sistema de coordenadas cuyos ejes explican gran parte de la varianza de los datos, en una dimensionalidad mucho menor [38]. Cada uno de los pasos del ACP descritos en detalle a continuación, se llevaron a cabo a través de un programa desarrollado por mí en lenguaje de programación Python.

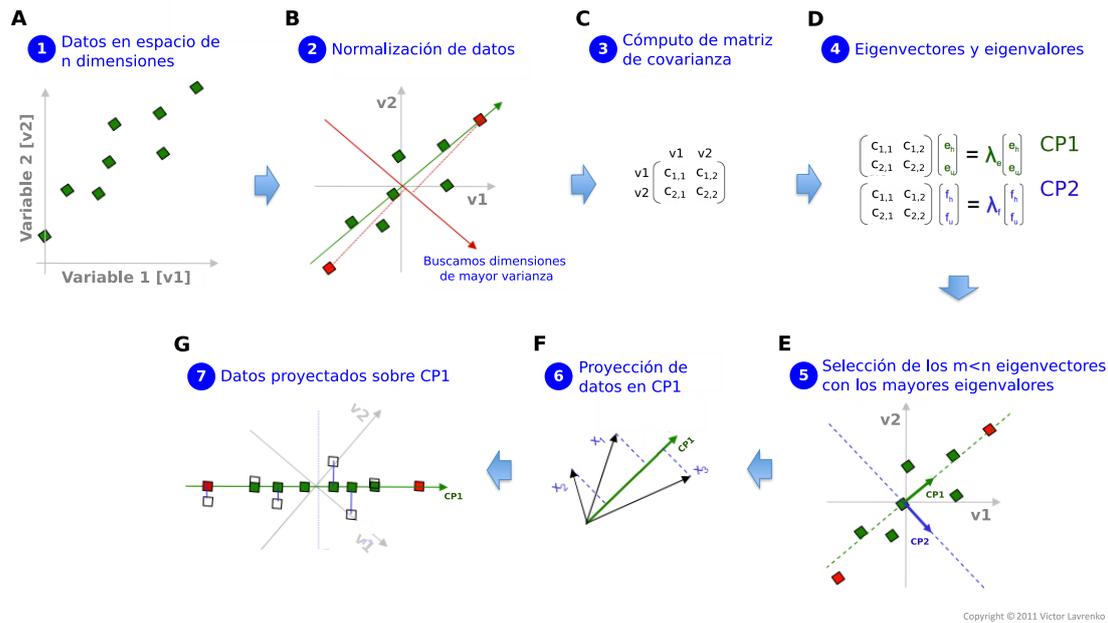


Fig. 2.4: Análisis de Componentes Principales. Resumen de la secuencia de pasos del análisis de componentes principales. A) Paso 1: proyección de los datos de interés en un espacio con tantas dimensiones como cantidad de variables que componen a dichos datos (n). Por simplicidad, en este caso $n = 2$. B) Paso 2: normalización de los datos para llevarlos a una misma escala y evitar un posible efecto a causa de las distintas unidades de cada variable. C) Paso 3: cómputo la matriz de covarianza entre las distintas variables. D) Paso 4: obtención de los eigenvectores o componentes principales (CP), con sus respectivos eigenvalores, a partir de la matriz de covarianza. En este caso, debido a que $n = 2$, solo se obtienen dos eigenvectores (CP1 y CP2). E) Paso 5: selección de los m eigenvectores ($m < n$) con los mayores eigenvalores, es decir, mayor cantidad de varianza explicada. En este caso solamente se selecciona el primer componente principal o CP1. F) Paso 6: proyección de los datos originales sobre cada uno de los eigenvectores seleccionados. G) Paso 7: visualización de los datos originales proyectados en el nuevo espacio de menor dimensionalidad. Figura tomada y adaptada de [39].

En la figura 2.4 se muestra un resumen de la secuencia de pasos que forman parte del ACP. El primer paso consiste en identificar la cantidad de dimensiones de nuestra base de datos. En el presente caso, tal como se mencionó arriba, nuestra base de datos, conformada por un conjunto de valores de Td, posee tantas dimensiones como neuronas registradas. Posteriormente, en el segundo paso se efectúa la normalización de los datos. Esta se fundamenta en llevarlos a una misma escala, y así evitar el efecto que podría tener la diferencia en la magnitud de los valores de las distintas variables. Esto es especialmente importante cuando los valores no tienen las mismas unidades. Sin embargo, debido a que en este contexto los valores son siempre Td de neuronas, este paso no es necesario.

En el tercer paso de la figura 2.4 se computa la matriz de covarianza. Esta es una matriz simétrica, con una fila y una columna para cada una de las variables en nuestros datos. Por lo tanto, la cantidad de filas y columnas en la matriz de covarianza, viene dada por el número neuronas registradas. En cada casilla se calcula la covarianza C entre la actividad de la pareja de neuronas i y j . En este caso, los valores de C son una medida de cuánto varía la Td de una neurona con respecto a la de otra. De este modo, valores positivos indican una relación directamente proporcional (cuando la Td de i incrementa, la de j también, y viceversa), mientras que valores negativos denotan una

relación inversamente proporcional (cuando la Td de i incrementa, la de j decrementa, y viceversa). La ecuación para el cálculo de la matriz es la siguiente:

$$C_{ij} = \frac{1}{T} \frac{1}{F} \sum_{t=0}^T \sum_{f=1}^F (\overline{Td_f^i(t)} - \overline{Td^i})(\overline{Td_f^j(t)} - \overline{Td^j}) \quad 2.3$$

donde C_{ij} es el valor de covarianza entre la Td de las células i y j , T es el total de ventanas temporales y F el total de valores de $f1$ utilizados en la tarea. En el primer paréntesis de la multiplicación, $\overline{Td_f^i(t)}$ representa la Td promedio de la neurona i , en los ensayos con $f1 = f$, en la ventana temporal t ; mientras que $\overline{Td^i}$ se refiere a la Td de la neurona i promediada en todos los ensayos y en todas las ventanas temporales. El segundo paréntesis de la multiplicación contiene las mismas variables pero de la célula j .

Una vez calculada la matriz de covarianza, tal como se ilustra en el cuarto paso de la figura 2.4, se computan sus eigenvectores, con sus respectivos eigenvalores. En este paso se obtiene una cantidad de eigenvectores igual a la cantidad de dimensiones en nuestros datos, es decir, neuronas registradas. En términos de ACP, estos eigenvectores se conocen como componentes principales (CP). Cada uno de estos consiste en una combinación lineal de los valores de Td de las neuronas que conforman la población, cumpliendo el criterio de ser ortogonales entre sí y de que un primer CP lleve consigo la mayor cantidad de varianza explicada, un segundo CP lleve la segunda mayor cantidad de varianza explicada y así sucesivamente. De este modo, gran parte de la varianza total de los datos queda contenida en solo algunos de los primeros componentes [37, 38, 40]. Para obtener los eigenvectores se utilizó la función *eig*, la cual recibe como argumento la matriz de covarianza, del módulo de algebra lineal *linalg* de la librería *numpy*. A continuación, empleando como criterio la cantidad de varianza contenida en cada CP, en el paso 5 se realiza una selección de aquellos con la mayor cantidad. En la figura 2.4 se presenta un ejemplo en el que se seleccionan solamente el primer y segundo CP (CP1 y CP2).

Estos componentes, que representan los nuevos ejes de coordenadas sobre los cuales pueden proyectarse los datos originales, se interpretan geoméricamente como la dirección en la que los datos presentan la mayor varianza. Por lo tanto, esta proyección facilita el análisis del comportamiento global de los datos, reduciendo ampliamente su dimensionalidad, mientras conserva gran parte de la información [37]. Esto se ejemplifica en los pasos 6 y 7 de la figura 2.4, donde se muestra la proyección de los datos sobre CP1. De este modo, se pasa de un espacio de dos dimensiones, a un espacio de una sola dimensión. Esta proyección se obtiene realizando el producto punto entre nuestros datos y el CP seleccionado. Para esto se utiliza la función *dot* de la librería *numpy* en Python. En el contexto del presente proyecto, este nuevo espacio, al conservar gran parte de la varianza total, arroja un panorama general de los procesos en los que podría estar participando el área cerebral de interés. Una interpretación a esta reducción de dimensiones consiste en proponer que la dimensionalidad de la dinámica neuronal es baja y permanece oculta o latente en la alta dimensionalidad de la dinámica observada. Por ejemplo, en el caso

de una población neuronal con codificación y mantenimiento de f_1 , sabemos que por lo menos una parte de la varianza en los valores de T_d se deberá a la participación de las células en esta codificación. En consecuencia, es esperable que la proyección de la dinámica poblacional presente un comportamiento que dependa de los valores de f_1 . En cambio, en una población con poca o nula participación en estos procesos, se espera que las proyecciones tengan conductas independientes de f_1 .

2.3.6. Varianza poblacional

El ACP muestra, en un espacio de dimensiones reducidas, el patrón de actividad de la CPV a lo largo de la TDB. Además, permite identificar cómo este patrón difiere dependiendo de los parámetros de los estímulos: modalidad y frecuencia. Esto ofrece un panorama sobre el tipo de codificación presente en la población de neuronas de esta corteza. Sin embargo, existe otro tipo de métricas a nivel poblacional que permite abordar estos cuestionamientos desde un ángulo distinto. Los cálculos de varianza poblacional ofrecen un estimado de la diferencia entre la actividad de una misma población de neuronas registrada en condiciones distintas. De este modo, valores de varianza elevados entre la actividad registrada en dos condiciones diferentes, es un indicador de que esta actividad depende de dichas condiciones. En el contexto de este proyecto, se busca analizar la varianza poblacional entre la actividad registrada ante estímulos con distintos parámetros. Esto permitirá corroborar y ampliar el entendimiento del papel que tiene esta corteza en la codificación y mantenimiento en memoria de los estímulos.

2.3.7. Varianza temporal

Antes de analizar si existe una relación entre los parámetros de los estímulos y la actividad de la CPV, es necesario corroborar que en efecto las neuronas en esta corteza están participando en los procesos cognitivos implicados en la tarea. En otras palabras, es menester responder a la interrogante: ¿Existen diferencias al comparar la actividad poblacional de la CPV antes y durante la ejecución de un ensayo de la TDB por parte del mono? Una respuesta afirmativa a esta pregunta sería un claro indicador de que esta población de neuronas está participando de alguna manera en la ejecución de la tarea. El cálculo de varianza temporal permite responder a este cuestionamiento. Este cálculo compara la T_d basal (T_d previa al inicio de la tarea) promedio, con la T_d en cada una de las ventanas temporales de la TDB. La ecuación para su cálculo es:

$$Var_{temp}(t) = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (\overline{Td_i(t)} - \overline{Td_{basal}})^2 \quad 2.4$$

donde N es la cantidad total de neuronas; $\overline{Td_i(t)}$ es la T_d de la neurona i en la ventana temporal t , promediada entre todos sus ensayos; $\overline{Td_{basal}}$ es la T_d basal promediada entre ensayos y ventanas temporales.

Se obtiene un valor de varianza para cada una de las ventanas temporales de la TDB. Aquellas ventanas con valores elevados de varianza indican que en ese momento la actividad de la CPV está siendo distinta de la actividad basal. De este modo, analizando el curso que sigue la varianza temporal a lo largo de la tarea, es posible identificar en qué momentos de la misma la actividad poblacional difiere en mayor medida de su actividad basal. A partir de los eventos de la tarea ocurriendo en los tiempos con mayor varianza, es posible inferir los procesos en los que está participando la población de neuronas. No obstante, al ser solamente un estimador de la diferencia entre actividad basal y actividad durante la TDB, se trata de una métrica poco específica. Esto dificulta aseverar que en efecto las diferencias en la actividad se deben a que las neuronas están participando en los procesos de codificación y mantenimiento en memoria de los estímulos. Para esto se necesita de una métrica que analice si existen diferencias en la actividad poblacional, cuando esta es registrada ante estímulos con distintos parámetros.

2.3.8. Varianza de codificación

Como se ha descrito anteriormente, en la TDB cada ensayo puede contener estímulos con la forma AA, AT, TA o TT. Además, debido a que nos interesa estudiar la codificación y mantenimiento en memoria de f1, otra manera de categorizar los ensayos es con base en estos valores de frecuencia. El primer estímulo de cada ensayo tiene 1 de entre 14 posibles valores de frecuencia (rango de 6 - 34 Hz, con pasos de 2 Hz, exceptuando el valor de 10 Hz). La combinación de estas posibilidades da un total de 56 (4x14) clases a las que puede pertenecer cada ensayo. La corroboración de que la población de neuronas de la CPV participa en la codificación de los estímulos, exige confirmar que su actividad difiere ante estímulos cuyos parámetros son distintos. Una manera de hacer esto es comparando la actividad poblacional entre las distintas clases de la TDB. La varianza de codificación compara la Td promedio en cada una de las clases, con la Td promedio de todos los ensayos, independientemente de la clase a la que pertenecen. La ecuación para su cálculo es:

$$Var_c(t) = \frac{1}{C} \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \sum_{c=1}^C (\overline{Td_i^c(t)} - \overline{Td_i(t)})^2 \quad 2.5$$

donde C es la cantidad de clases; $\overline{Td_i^c(t)}$ es la Td de la neurona i en la ventana temporal t , promediada entre los ensayos pertenecientes a la clase c .

Las ventanas temporales de la TDB con valores elevados de varianza de codificación indican que en ese momento la actividad de la CPV difiere dependiendo de la clase en la que fue registrada. Esto sugiere que en estas ventanas el comportamiento de la población depende de los parámetros de modalidad y frecuencia del primer estímulo. Los resultados arrojados por esta métrica permiten confirmar o rechazar la participación de la población en la codificación y mantenimiento en memoria de los estímulos. Sin embargo, no permite dilucidar si el grado de participación que tiene la corteza en estos procesos difiere dependiendo de la modalidad sensorial. Para esto se necesitan cálculos de varianza evaluando las diferencias en los patrones de la actividad poblacional, ante estímulos de modalidades

distintas.

2.3.9. Varianza de modalidad

Una manera general de analizar si la actividad en la CPV depende del canal sensorial por el que entra la información, es comparando la actividad registrada ante estímulos de modalidades distintas. Para esto se utiliza la métrica de varianza de modalidad. Esta métrica compara la Td promedio de los ensayos cuya f1 es de un mismo tipo sensorial, con la Td promedio de todos los ensayos, independientemente de la modalidad de los estímulos. La ecuación para su cálculo es:

$$Var_{Mod}(t) = \frac{1}{2} \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \sum_{Mod=1}^2 (\overline{Td_i^{Mod}(t)} - \overline{Td_i(t)})^2 \quad 2.6$$

donde $\overline{Td_i^{Mod}(t)}$ es la Td de la neurona i , en la ventana temporal t , promediada entre los ensayos con modalidad sensorial Mod .

Las ventanas temporales de la TDB con valores elevados de varianza de modalidad indican que en ese momento la actividad de la CPV difiere dependiendo de la naturaleza sensorial de los estímulos. Esto sugiere que en estas ventanas el comportamiento de la población depende del canal sensorial del primer estímulo. Sin embargo, esta métrica no permite identificar si las diferencias ocurren en los patrones de actividad asociados con los procesos de codificación y mantenimiento en memoria de los estímulos. Para esto se necesita de una métrica que primero evalúe la dependencia entre la actividad poblacional y los valores de f1, y que después analice cómo esta dependencia difiere entre modalidades.

2.3.10. Varianza de f1 táctil y auditiva

Se busca estudiar si existe una diferencia entre los procesos de codificación y mantenimiento en memoria de los estímulos, dependiendo de la modalidad sensorial de estos. Con este objetivo se utilizan las métricas de varianza de f1 táctil y auditiva. Para corroborar que existe este tipo de actividad poblacional relacionada con la codificación de estímulos, las métricas estiman la diferencia en el comportamiento de la población dependiendo de los valores de f1. En este caso, entre mayor sea el valor de varianza, mayor el grado de dependencia entre f1 y la actividad de la población. A su vez, este nivel de dependencia es un indicador del grado de participación que tiene la población en la codificación de los estímulos. La diferencia entre estas dos métricas es que una emplea ensayos con estímulos de modalidad únicamente táctil y la otra únicamente auditiva. De este modo, el conjunto de resultados de estos dos cálculos permite comparar el grado de participación que tiene la CPV en la codificación de los estímulos de modalidades distintas. Las ecuaciones de estas métricas son:

$$Var_{f1A}(t) = \frac{1}{f1A} \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \sum_{f1A=1}^{F1A} (\overline{Td_i^{f1A}(t)} - \overline{Td_i(t)})^2 \quad 2.7$$

$$Var_{f_{1T}}(t) = \frac{1}{f_{1T}} \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \sum_{f_{1T}=1}^{F_{1T}} (\overline{Td_i^{f_{1T}}(t)} - \overline{Td_i(t)})^2 \quad 2.8$$

donde F_{1T} y F_{1A} es la cantidad de valores de f_1 de modalidad táctil y auditiva, respectivamente; $\overline{Td_i^{f_{1T}}(t)}$ y $\overline{Td_i^{f_{1A}}(t)}$ es la Td de la neurona i , en la ventana temporal t , promediada entre ensayos con el valor de f_1 táctil y auditivo f_1 , respectivamente.

Aquellos periodos de la TDB en que los valores de varianza de una de las métricas son mayores que los de la otra, denotan que en esos tiempos la CPV presenta un predominio de codificación exclusivo a esa modalidad sensorial. Así, analizando el curso que siguen los valores de estas dos métricas, es posible estimar la magnitud y los tiempos en los que la codificación exclusiva de una modalidad está predominando.

Clasificación de espigas

“El mundo solo puede ser abarcado por la acción, no por la contemplación. La mano es el borde cortante de la mente”

-Jacob Bronowski

3.1. BASES TEÓRICAS DE LA CLASIFICACIÓN DE ESPIGAS

La principal vía de comunicación entre neuronas es el disparo de potenciales de acción. Por lo tanto, entender el rol de una cierta región cerebral en alguna tarea conductual específica requiere estudiar las dinámicas de disparo de poblaciones neuronales en el área de interés a medida que el individuo ejecuta dicha tarea [32]. Sin embargo, tal como se mencionó anteriormente, la actividad de las neuronas en una población, incluso aquellas con gran proximidad espacial, puede estar asociada a procesos cerebrales completamente distintos e independientes [31]. Es por esto que, para obtener una perspectiva realista de la actividad poblacional durante alguna conducta, se necesita del registro de la actividad de las neuronas individuales que componen dicha población.

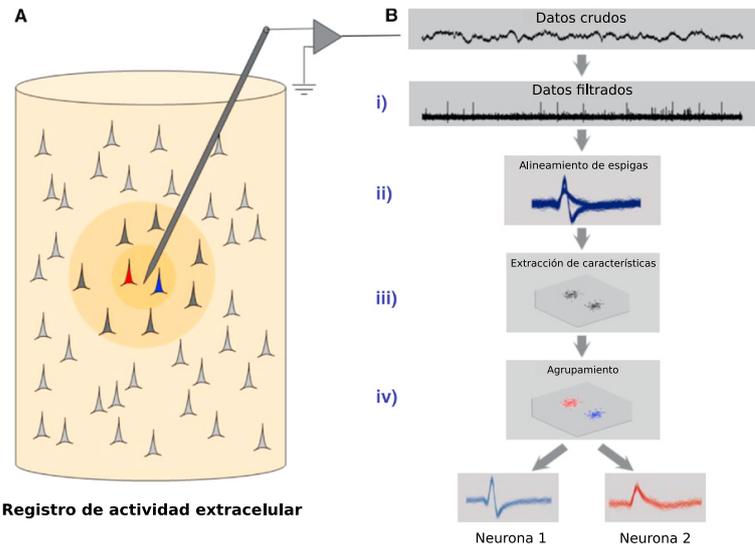


Fig. 3.1: Bases teóricas de la clasificación de espigas. A) Un microelectrodo recibe la señal proveniente de un pequeño conjunto de neuronas cercanas a la punta de registro. B) Estas señales están conformadas tanto por potenciales de acción, como por actividad subumbral. i) Se aplica un filtro pasa altas para enfocarnos únicamente en los potenciales de acción. ii) Esta nueva base de datos contiene potenciales de acción con formas distintas, dependiendo de su neurona de origen. iii) Se extraen las características de los potenciales de acción que permitirán diferenciarlos entre sí. iv) Con base en las características extraídas, se agrupan los potenciales de acción que putativamente provienen de una misma neurona. Figura tomada y adaptada de [31].

La piedra angular en los estudios de dinámicas poblacionales en cualquier rama de las neurociencias es el registro de la actividad neuronal extracelular [37, 41, 42]. En estos registros, tal como se muestra en el panel A de la figura 3.1, los electrodos capturan la actividad proveniente de varias neuronas alrededor del sitio de implantación. Esta actividad consiste en oscilaciones de voltaje lentas, como los potenciales de campo local (PCL), y rápidas, como los potenciales de acción. Con respecto a este último tipo de actividad, la forma del potencial de acción de una neurona en un registro extracelular, está determinada por sus propiedades específicas. Algunas de estas propiedades son: la morfología del árbol dendrítico neuronal, la distancia y orientación relativa de la neurona al sitio de registro, la distribución de los canales iónicos a lo largo de la membrana celular, las propiedades del medio externo y las características de los electrodos de registro [32, 33]. Este es el fundamento que vuelve posible separar la actividad de neuronas individuales en un registro extracelular, a partir de las características de sus potenciales

de acción, por medio de una técnica conocida como clasificación de espigas. En el panel B de la figura 3.1 se muestra un resumen de la serie de pasos que forman parte de este algoritmo: i) detección y filtrado de la actividad neuronal; ii) alineamiento de las espigas; iii) extracción de características; y iv) agrupamiento. A continuación se describirá con mayor profundidad cada uno de estos pasos.

3.1.1. Detección, filtrado y alineamiento de espigas

Debido a que estos algoritmos se basan en los disparos neuronales, el primer paso consiste en detectar y descartar las oscilaciones más lentas a través de la aplicación de un filtro pasa altas. De este modo, toda actividad cuya frecuencia sea permitida por el filtro será considerada un potencial de acción putativo, ya sea que se trate o no de un verdadero potencial de acción. En otras palabras, como se muestra en la sección i de la figura 3.1, pasamos de una actividad cruda, con oscilaciones rápidas y lentas, a una actividad filtrada, conformada únicamente por posibles disparos neuronales. Se utiliza una frecuencia inferior de corte de 300 Hz [31]. De forma posterior, estos disparos neuronales putativos son muestreados y reconstruidos por interpolación, lo cual permite que sean alineados, de manera que el algoritmo tenga a su disposición todas las formas de espiga sobrepuestas, aunque hayan sido registradas en distintos tiempos. Esto se ilustra el segmento ii de la figura 3.1, con dos potenciales de acción claramente distintos, el uno sobre el otro. Es a partir de estas formas de potencial de acción solapadas que el algoritmo puede proceder a realizar la extracción y comparación de las características de las distintas espigas.

3.1.2. Extracción de características

La clasificación de dos o más formas de espiga como distintas depende en gran medida de los rasgos analizados. Por ejemplo, podríamos clasificar a dos espigas como iguales si solo consideramos su voltaje máximo, aun cuando presenten una clara diferencia en su duración. Por ende, la selección de las características de los potenciales acción es un paso determinante para el desempeño del algoritmo de clasificación de espigas en la separación de las neuronas. Aunado a esto, la gran cantidad de dimensiones de los datos hace que suelen utilizarse técnicas de reducción de dimensionalidad para crear un espacio con menos dimensiones sobre el cual proyectar los datos. El objetivo es mantener solo las características que ayuden a la clasificación [35, 36]. En otras palabras, se busca seleccionar la cantidad mínima de rasgos que genere la mejor discriminación posible.

Uno de los métodos más comúnmente utilizado en la extracción de características, es la técnica de reducción de dimensionalidad ACP [32, 43, 44]. Como se describió en la sección 2.3.5, esta herramienta genera un conjunto de vectores ortogonales, conocidos como CP, que capturan las direcciones de mayor variación en los datos. Estos CP siguen un orden decreciente con respecto a la varianza explicada por cada uno. De este modo, el conjunto de los primeros componentes captura la gran mayoría de la varianza total. Esto permite utilizar a los primeros CP como los rasgos que el algoritmo toma en considera-

ción para la separación de las espigas. Típicamente suelen utilizarse los primeros 2 o 3 componentes [45].

Una de las alternativas a ACP más utilizada, la cual ha demostrado resultados favorables en la separación de neuronas a partir de registros extracelulares, es la transformada de ondícula o TO [34, 46, 47]. Una ondícula se refiere a una onda cuya extensión está limitada en el tiempo. Las ondículas utilizadas en la TO pueden tener distintas formas y cada una recibe un nombre diferente. Sin embargo, independientemente de la forma, la extensión de la ondícula en el tiempo viene dada por un coeficiente. Entre mayor es el coeficiente la ondícula presenta una mayor extensión en el tiempo, es decir, una oscilación más lenta. En la TO se utiliza una ondícula para recorrer nuestra señal de interés. En este caso, la señal consiste en la actividad neuronal registrada. Esta ondícula recibe un valor de coeficiente en cada una de las ventanas temporales de la señal. Estos valores dependen de la frecuencia que tiene la señal en cada tiempo. Entre mayor sea la frecuencia de la señal en un momento dado, menor será el coeficiente de la ondícula en esa ventana. De este modo, la TO consiste en obtener una representación de la señal en términos de coeficientes de ondícula, con una resolución óptima en frecuencia y tiempo [48]. Debido a que estos coeficientes se encuentran distribuidos en el tiempo, su utilización permite una correcta discriminación entre diferencias en la forma de los potenciales de acción, localizadas en puntos temporales específicos [35].

Aunque este proyecto se enfoca en ACP y TO, existen otros algoritmos de extracción de características, cada uno enfocado en un cierto tipo de propiedades de los potenciales de acción. En el caso de los algoritmos basados en propiedades geométricas, se extraen características como la amplitud del pico y la amplitud pico-pico. Otro caso es el de los basados en propiedades de fase, los cuales se enfocan en la relación entre la primera y segunda derivada de cada disparo. También existen algoritmos de extracción de rasgos de distribución, los cuales se basan en la función de distribución de amplitud de pico para la primera y segunda derivada de cada potencial de acción [49, 50]. Independientemente del algoritmo de extracción de características utilizado, en el paso iii de la figura 3.1 se presenta una gráfica tridimensional, en donde cada punto representa un potencial de acción y cada eje un rasgo teórico de las espigas utilizado para separarlas. En este espacio, los disparos parecen separarse en dos grupos, lo cual coincide con las dos formas de espiga claramente distintas presentadas en el paso ii.

3.1.3. Agrupamiento de espigas

A partir de los rasgos extraídos, el siguiente paso en el algoritmo de clasificación de espigas es evaluar cuáles de las espigas presentan una forma similar. Con base en los antecedentes descritos en donde se menciona que cada neurona presenta una forma de disparo particular, es posible aseverar que todos aquellos potenciales de acción que presentan una misma estructura provienen de una misma neurona. Los métodos más utilizados para este fin, son los algoritmos de agrupamiento. De manera ideal, los resul-

tados arrojados por este tipo de algoritmo consisten en grupos, cada uno conformado por todos los potenciales de acción provenientes de una misma unidad o neurona [35]. Esto se esquematiza en el paso iv de la figura 3.1. En este paso, a partir del espacio teórico conformado por los tres rasgos utilizados para separar las espigas, se identificaron dos grupos con formas de disparo específicas, cada una proveniente de neuronas distintas. Sin embargo, debido a la pobre relación señal/ruido en la actividad detectada por algunos electrodos, también se generan grupos que contienen actividad multinunitaria o proveniente de varias neuronas. En el caso de estudios enfocados en la actividad de neuronas individuales, como es el caso del presente proyecto, estos grupos multiunitarios son desechados.

A modo general, el proceso de agrupamiento puede llevarse a cabo de manera manual o automática. En la versión manual, el usuario define completamente los criterios de clasificación, lo cual crea una flexibilidad frente a posibles confusores. Sin embargo, debido a que nos interesa la actividad de poblaciones de neuronas, un algoritmo manual se convierte en un procedimiento muy tardado. Además, este tipo de procedimiento presenta una alta variabilidad y sesgo subjetivo. Por otro lado, los algoritmos de tipo automático (jerárquicos, basados en centroides y basados en densidad) son muy rápidos y no poseen ningún tipo de sesgo subjetivo. No obstante, son inflexibles frente a confusores y presentan una susceptibilidad a errores sistémicos [45]. En general, cada algoritmo presenta ventajas y desventajas, y la mejor opción suele ser determinada de manera empírica [32].

3.2. PROGRAMA DE CLASIFICACIÓN DE ESPIGAS UTILIZADO EN EL PROYECTO

El programa de clasificación de espigas empleado en este proyecto para separar a las neuronas individuales en los registros extracelulares obtenidos de mono Rhesus durante la resolución de una TDB, está desarrollado en lenguaje de programación Matlab. A continuación se describe el funcionamiento del algoritmo de clasificación de espigas. El programa está organizado en 7 secciones: 1) manejo de archivos NEV (Neural EVents); 2) eliminación de ruido de los potenciales registrados por el electrodo; 3) alineamiento de los potenciales de acción; 4) extracción y selección de características mediante coeficientes de ondícula, ACP y criterio Kolmogorov-Smirnov (KS); 5) agrupamiento mediante el algoritmo de K-medias; 6) evaluación del resultado de la clasificación mediante coeficientes de correlación de Pearson y prueba de hipótesis; y 7) guardado de los resultados.

Se trata de un programa semi-supervisado. Esto se debe a que, por un lado, el algoritmo emplea herramientas de aprendizaje no supervisado, como son los algoritmos de agrupamiento. Sin embargo, por el otro lado, el usuario debe tomar decisiones continuamente sobre los parámetros empleados en los distintos pasos del programa. Esto exige que en cada paso se desplieguen imágenes con los resultados obtenidos del procedimiento aplicado en ese punto del programa. Esto ofrece al usuario una referencia visual sobre las

características de los datos, permitiéndole decidir sobre el curso que seguirá el algoritmo en pasos posteriores.

3.2.1. Manejo de archivos NEV

Como resultado del registro y almacenamiento de la actividad neuronal, por medio del sistema de registro e interfaz de la compañía Blackrock Microsystems ©, se obtienen archivos con extensión NEV. Estos contienen la información de los registros electrofisiológicos, incluyendo los tiempos de disparo, canales o electrodos detectando estos potenciales de acción y la forma de las espigas. Una sesión de registro está conformada por múltiples ensayos de la tarea. A su vez, cada ensayo resulta en un archivo NEV. Por lo tanto, la carpeta en donde se almacenan los archivos obtenidos de una sesión de registro, contiene tantos NEV como ensayos realizados por el mono durante dicha sesión.

El primer segmento del programa de clasificación de espigas consiste en la apertura de los NEV, la extracción de la información contenida en estos y el almacenamiento de dicha información en archivos con extensión DAT que facilitan su manejo. Para esta apertura se utiliza la función *NevFile* de la librería *brpylib* que también ofrece la compañía Blackrock Microsystems ©. Esta nueva serie de archivos DAT se complementa con información asociada al protocolo y psicofísica de la tarea, la cual había sido almacenada de forma independiente durante las sesiones de registro. De este modo, los pasos subsecuentes en el algoritmo de clasificación de espigas se llevan a cabo a partir de la información contenida en los archivos creados en este primer paso.

3.2.2. Eliminación de ruido de los potenciales registrados por el electrodo

Para proceder, el programa de clasificación de espigas solicita la ruta hacia la nueva carpeta con los archivos DAT. Se despliega entonces la cantidad de ensayos contenidos en la sesión de registro. Se pide al usuario elegir entre la selección de un rango definido de ensayos sobre el cual aplicar el algoritmo, en donde el usuario debe determinar el ensayo inicial y final, o la selección aleatoria, donde el usuario debe elegir la cantidad de ensayos que serán elegidos aleatoriamente. A continuación se despliegan los electrodos con los que se realizó el registro durante el experimento electrofisiológico y el usuario debe elegir sobre cuál proceder. También, se debe indicar la ruta en la cual se desean almacenar las imágenes resultantes y el archivo con los resultados de la clasificación de espigas. En el caso, por ejemplo, de haber elegido el electrodo 1, en esta ruta se crea una carpeta llamada “electrodo 1”. A su vez, en esta carpeta se genera una llamada “imágenes” en la cual se almacenan las figuras resultantes de la clasificación de espigas.

Posteriormente, el usuario decide entre realizar o no la eliminación de ruido sobre las formas de onda de las espigas. La eliminación de ruido se realiza a través de un método bayesiano empírico con una distribución Lorentz, por medio de la función *wdenoise* de la *Wavelet Toolbox* de Matlab. Durante la ejecución del programa, las formas de espiga están almacenadas en una matriz. En esta matriz cada columna representa una ventana

temporal y cada fila un potencial de acción específico. De este modo, la matriz contiene los valores de voltaje que describen la forma de cada espiga a lo largo del tiempo. El método de eliminación de ruido se aplica de forma automática columna por columna. En caso de que se haya optado por la eliminación del ruido, el programa arroja una imagen con las formas de espiga sobrepuestas originales, seguido por una imagen con las formas de espiga tras la eliminación del ruido.

3.2.3. Alineamiento de los potenciales de acción

Una vez que se realizó la eliminación del ruido (o no, aunque es recomendable siempre realizarla), se procede a la interpolación de las formas de onda mediante *splines* cúbicos y a la alineación de los potenciales a un mismo pico mínimo. Esto es importante para poder comparar los potenciales, minimizando la variabilidad entre las formas de las espigas en una misma ventana. Si se dejan los potenciales desalineados, habrán efectos negativos en la extracción de características, sobre todo en TO. La interpolación se realiza mediante la función *spline* de Matlab. Este interpolador permite la obtención de nuevos puntos continuos con base en los puntos que ya conocemos de nuestras ondas mediante *splines* cúbicas. Este *spline* ajusta polinomios de grado 3 en pequeñas partes del conjunto de valores, generando errores bajos en la estimación de los nuevos puntos continuos. El programa de clasificación de espigas muestra una imagen con las formas de los potenciales de acción interpolados.

Para llevar a cabo la alineación de las espigas primero se identifica el valor mínimo interpolado, o pico mínimo, y el instante en el que ocurre. Posteriormente se realiza la organización del arreglo con las formas de onda interpoladas a este valor mínimo. En este punto, el programa de clasificación de espigas despliega una imagen con las formas de potencial de acción interpoladas y alineadas al pico mínimo. En la figura 3.2 se muestra un ejemplo de las espigas registradas antes y después de la eliminación del ruido, la interpolación y la alineación al pico mínimo.

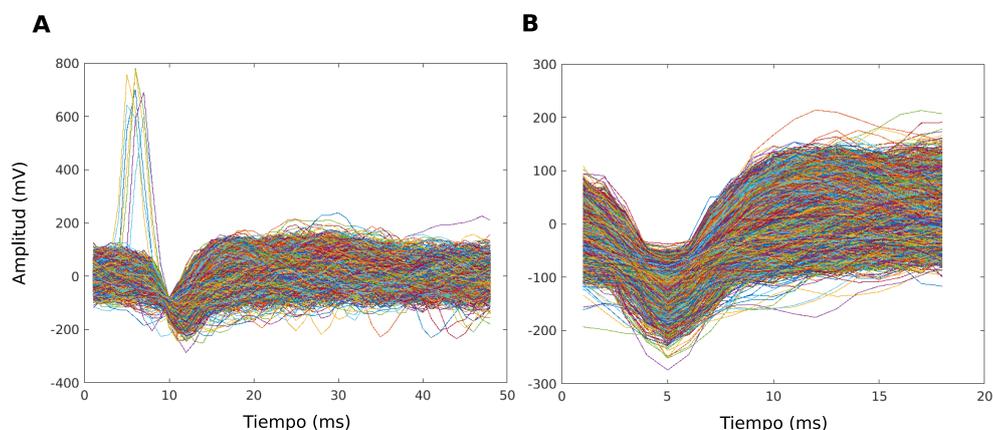


Fig. 3.2: **Espigas registradas.** A) Conjunto de espigas obtenidas a lo largo de una sesión de registro, sin ningún tipo de procesamiento. B) Conjunto de espigas obtenidas a lo largo de una sesión de registro, tras la eliminación de ruido, la interpolación y la alineación a un mismo valor mínimo.

3.2.4. Extracción y selección de características mediante análisis de componentes principales, transformada de ondícula y criterio Kolmogorov-Smirnov

En esta sección del programa de clasificación de espigas se realiza la extracción de características de cada forma de onda alineada. El objetivo es reducir la dimensionalidad de los datos a las dimensiones más informativas. Esto se logra mediante TO y ACP. A partir de los rasgos que son extraídos y posteriormente seleccionados, se obtiene un espacio fase de menor dimensionalidad. Los ejes de este espacio están conformados por aquellas características que llevan la mayor información. De esta manera, las formas de espiga pueden ser proyectadas sobre este nuevo espacio, facilitando la separación entre aquellas que provienen de distintas neuronas.

Primero se realiza la TO, que es una representación de tiempo-frecuencia de la señal con una resolución óptima. En este caso la señal se refiere a los valores de voltaje a lo largo del tiempo, que describen la evolución de cada uno de los potenciales de acción. La representación que arroja TO se define como la convolución entre esta señal y la función de la ondícula. En este caso la transformada es de 4 niveles (multinivel), lo que nos permite obtener detalles de la señal a diferentes escalas. Se utiliza la función de ondícula de tipo *Haar*. Este procedimiento se hace con la función *wavedec* de la *Wavelet Toolbox* de Matlab. Esto arroja como resultado los coeficientes de ondícula que describen la forma de cada potencial de acción de la manera más discriminativa.

Posteriormente se realiza el ACP para extraer los CP de las formas de onda. Como se mencionó en la sección 2.3.5, estos componentes se obtienen al computar los eigenvalores de la matriz de covarianza de los datos. Para representar cualquier espiga, los CP se escalan y se suman. El factor de escala de cada componente se denomina puntuación ACP, y es lo que almacena el programa de clasificación de espigas, de forma equivalente a los coeficientes de ondícula. Este análisis se realiza mediante la función *pca* de la *Statistics and Machine Learning Toolbox* de Matlab.

Ya que los componentes están ordenados en término de cuánta variabilidad capturan, se eligen los primeros k componentes que describen el 90 % de la varianza de los datos (los más representativos). Estas puntuaciones ACP y los coeficientes de ondícula se concatenan en una sola matriz de características. El paso final de esta sección es la selección, dentro de la matriz de características, de aquellos rasgos que separen mejor las diferentes clases de espigas. De manera ideal, se busca que estos rasgos presenten una distribución multimodal. Este tipo de distribución sugiere la presencia de más de una forma de espiga, es decir, de más de una neurona. Esta selección se realiza mediante la prueba KS de normalidad. Esta prueba computa la comparación entre la distribución acumulativa real de cada elemento en la matriz de características, con la distribución acumulativa de una distribución gaussiana que tenga la misma media y desviación estándar que los datos reales. Este cálculo se hace mediante la función *kstest* de la *Statistics and Machine*

Learning Toolbox de Matlab. Esta función arroja el valor del estadístico KS, que indica el grado de normalidad de cada rasgo, y su valor de p, que nos indica la significancia de dicho estadístico. Se usan los valores del estadístico KS para ordenar los elementos de la matriz de características de la menos a la más normal. Se mantienen los elementos con menor grado de normalidad, ya que esto sugiere que podría tratarse de distribuciones multimodales. Las características seleccionadas proveen una representación comprimida de las espigas que sirven como argumento de entrada para el algoritmo de agrupamiento.

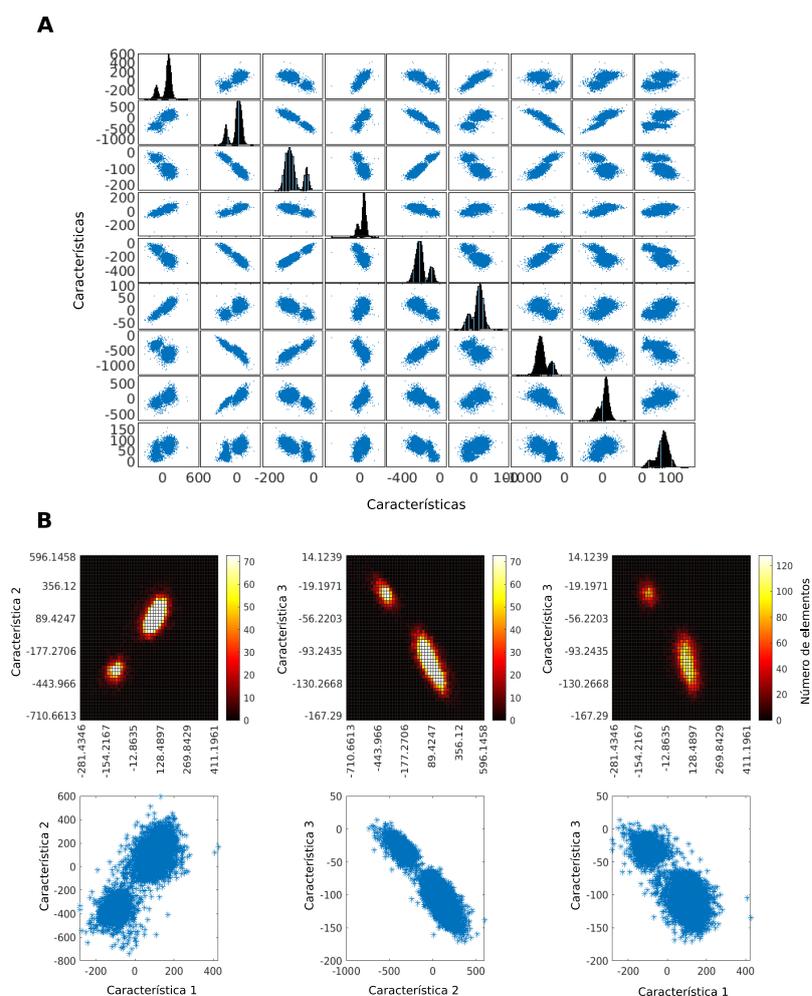


Fig. 3.3: Proyección de las características extraídas. A) Matriz en la que los ejes representan el conjunto de características extraídas que, de acuerdo con la prueba de Kolmogorov-Smirnov, siguen una distribución con el menor grado de normalidad. Se aprecia como los datos parecen agruparse en dos conjuntos, lo cual se apoya por las distribuciones, en gran medida de tipo bimodal, observadas en la diagonal de la matriz. Esto sugiere la presencia de dos formas de espiga principales, indicando que se trata de dos neuronas. B) Proyección de los datos conformada por las 3 parejas de características que explican la mayor cantidad de varianza y que presentan las distribuciones menos normales. Las gráficas de calor muestran la densidad con la que se agrupan los datos, apoyando la idea de que se trata de dos grupos principales.

A partir de estos resultados, el programa de clasificación de espigas despliega una proyección tridimensional de los datos, siendo cada eje una de las tres características más representativas. Tal como se muestra en el panel A de la figura 3.3, se despliega también una matriz con la proyección de los datos en un espacio formado por todas las posibles parejas de la matriz de características. En este panel se observa como la diagonal principal de la matriz contiene la distribución individual de cada característica.

Por último, como se muestra en el panel B de la figura, se despliega la proyección de los datos en un espacio de dos dimensiones formado por cada una de las parejas de las tres características más representativas. Además, estas proyecciones se acompañan de un mapa de calor que refleja la densidad de los datos proyectados en estos espacios. El objetivo de estas distintas visualizaciones es ayudar al usuario a decidir en cuántos grupos es factible dividir los datos. En otras palabras, ofrece una idea de la cantidad de neuronas presentes en el registro.

3.2.5. Agrupamiento mediante el algoritmo de K-medias

A partir de las características extraídas en el paso anterior, se ejecuta el algoritmo de agrupamiento basado en centroides K-medias. Para esto se utiliza la función *kmeans* de la *Statistics and Machine Learning Toolbox* de Matlab. Este algoritmo de agrupamiento parte de tantos centroides como grupos se estén buscando. Estos centroides son puntos aleatorios dentro del espacio en el que se encuentran los datos. La distancia euclidiana de cada centroide a cada uno de los elementos del grupo al que pertenece se actualiza en cada iteración, hasta alcanzar un valor mínimo establecido. En este caso, el proceso se repite 10 veces, y al final se seleccionan los grupos cuya distancia euclidiana a sus centroides respectivos es menor. El objetivo de este paso es separar el conjunto de espigas en grupos que solo contengan a aquellas con características similares, de modo que cada grupo esté conformado por todas las espigas provenientes de una única neurona putativa.

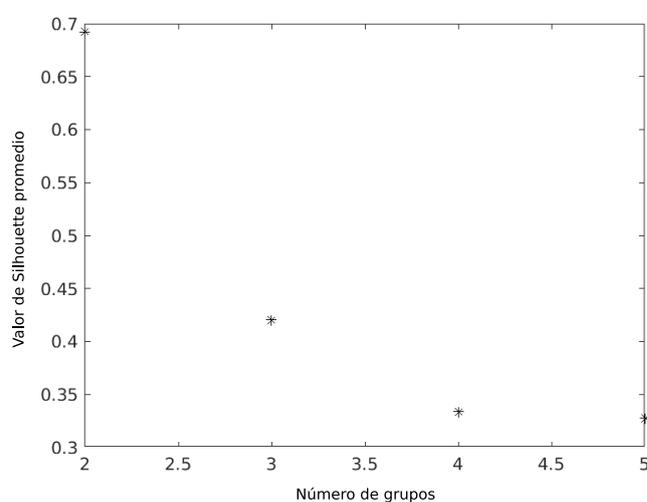


Fig. 3.4: Métrica de Silhouette. Gráfica con los valores de Silhouette calculados para la cantidad de posibles grupos indicados por el usuario más 3. En este caso el usuario indicó que existen dos grupos, por lo cual la gráfica muestra los valores de Silhouette desde 2 hasta 5 grupos. El mayor valor de la métrica observado para el caso de 2 grupos sugiere que los potenciales de acción registrados provienen de dos neuronas.

Las gráficas desplegadas hasta este punto ayudan al usuario a intuir la cantidad de neuronas que fueron detectadas por el electrodo. Así, con base en ellas el usuario debe indicar el número de grupos en los que quiere dividir sus datos. A partir de la cantidad seleccionada, el programa de clasificación de espigas calcula los valores de la métrica *silhouette* a través de la función *silhouette* de la *Statistics and Machine Learning Toolbox* de Matlab. Estos valores indican cuán similar es un objeto al resto de los elementos de

su propio grupo (cohesión) en comparación con los elementos de los otros grupos (separación). De este modo, un valor promedio elevado en relación a una cierta cantidad de grupos, es una medida de confianza de que el agrupamiento de los elementos es correcto con esa cantidad de grupos. Una nota importante es que debido a que esta métrica depende de la comparación con elementos de otros grupos, su aplicación sólo tiene sentido cuando se busca más de un grupo. En la figura 3.4 se muestra un ejemplo de la gráfica desplegada en este paso. En relación a la restricción de que se debe buscar siempre más de un grupo, puedo apreciarse que la cantidad mínima de grupos en el eje de las abscisas es 2.

En el siguiente paso, utilizando la información observada en esta última gráfica, el usuario indica de manera definitiva la cantidad de grupos para el algoritmo de K-medias. Posteriormente se computa el agrupamiento y se muestra una gráfica de dispersión de los datos proyectados en el espacio de características donde el color de cada elemento indica el grupo al que pertenece. Esta gráfica está compuesta por tres sub-gráficos, uno por cada pareja de las tres características más representativas de los datos. Inmediatamente después, el usuario debe indicar si desea (o no) realizar una eliminación de espigas clasificadas como atípicas para cada grupo. Por defecto, este paso considera que una espiga es atípica si su distancia al centroide de su grupo respectivo es mayor a cuatro desviaciones estándar. No obstante, el programa de clasificación de espigas ofrece al usuario la opción de utilizar una cantidad distinta de desviaciones estándar a partir de la cual el elemento se considere como atípico. De este modo, los elementos clasificados como atípicos son considerados como un nuevo grupo bajo el nombre de ruido".

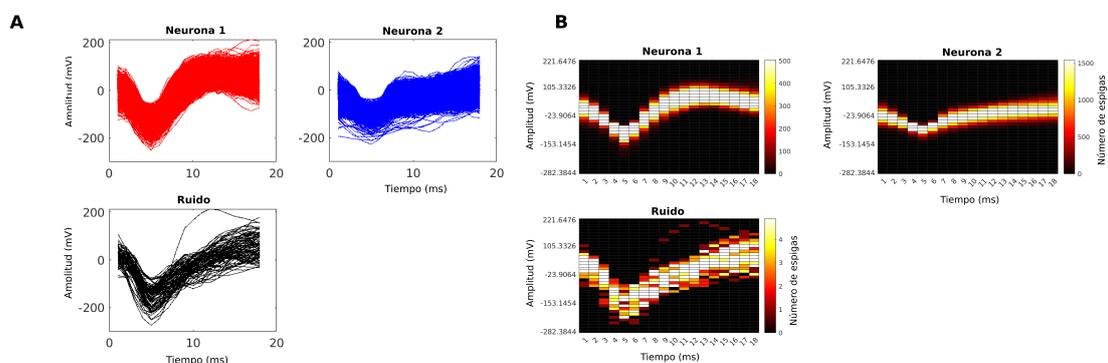


Fig. 3.5: Formas de espiga de cada grupo. A) Formas de las espigas que corresponden a cada uno de los grupos en los que se clasificaron los datos. Aquellas espigas que no fueron agrupadas en ninguno de los grupos, son automáticamente consideradas atípicas. B) Gráficas de calor que muestran la densidad con la que las distintas espigas de cada grupo se solapan a lo largo de la forma del potencial de acción específico. La forma uniforme de los potenciales de acción de las neuronas, aunado a la irregularidad y poca cantidad de espigas del ruido, apoya la idea de que se trata de 2 neuronas.

Partiendo de los resultados del algoritmo de agrupamiento se generan distintas gráficas que permiten al usuario evaluar visualmente la calidad de la separación (y/o clasificación) y la eliminación de las espigas atípicas. La primera es una gráfica de dispersión tridimensional en donde cada grupo puede distinguirse por su color. Cada eje de esta gráfica es una de las 3 características más representativas de los datos. Después, como muestra el ejemplo en el panel A de la figura 3.5, se despliega una gráfica con las formas

de espiga pertenecientes a cada grupo. En el panel B puede apreciarse cómo esta última gráfica se complementa con un mapa de calor de cada grupo que refleja la cantidad de espigas que comparten forma en términos de intensidad. La escala de intensidad por defecto de esta gráfica va de 0 a 0.35 veces el valor de densidad máxima. Sin embargo, el código permite al usuario cambiar el coeficiente que multiplica el valor de densidad máxima.

La siguiente serie de gráficas consiste en un raster para cada uno de los grupos. Cada raster tiene por eje de abscisas los tiempos de la tarea y por eje de ordenadas los ensayos de la misma. De este modo, la presencia de un potencial de acción perteneciente a un grupo particular se gráfica como un punto en el raster del grupo correspondiente, en el tiempo y ensayo en el que fue detectado. Finalmente, se genera una gráfica que indica, para cada grupo, la cantidad de espigas detectadas en cada ensayo. Está gráfica permite evaluar la estabilidad que presentó cada grupo en su actividad a lo largo de la sesión de registro. En los paneles A, B y C de la figura 3.6 se muestra un ejemplo del raster de cada uno de los grupos identificados. En el panel D de la misma figura, se muestran las curvas de estabilidad para cada uno de estos grupos.

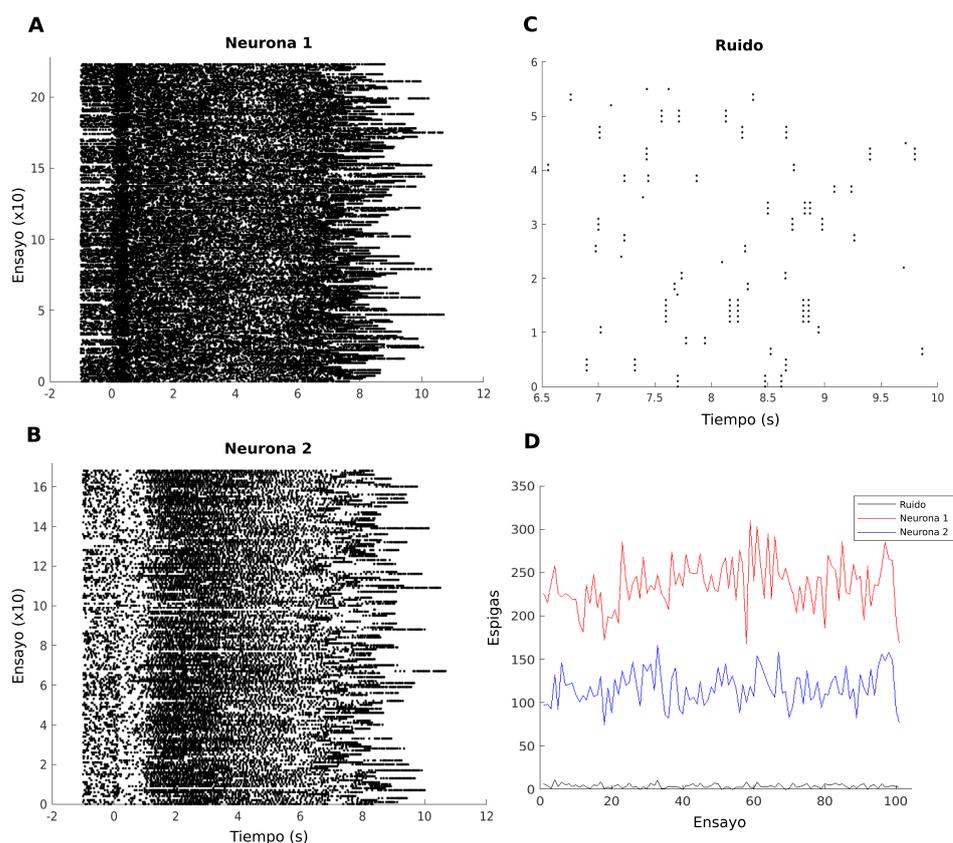


Fig. 3.6: Rasters y gráfica de estabilidad. A) Raster de la neurona 1, la cual presente un alto nivel de actividad a lo largo de toda la tarea, aunque con un incremento específico en el momento de llegada del primer estímulo. B) Raster de la neurona 2, la cual presenta un silenciamiento en el periodo de llegada del primer estímulo, seguido por un incremento que abarca gran parte del periodo de retraso. C) Raster del conjunto de espigas atípicas conformando el grupo de ruido. D) Gráfica que muestra la cantidad de espigas que presentó cada grupo en cada ensayo. Se observa la diferencia en los niveles de actividad de cada grupo, aunque cada uno se encuentra oscilando alrededor de valores similares.

3.2.6. Evaluación del resultado de la clasificación mediante coeficientes de correlación de Pearson y Prueba de hipótesis

Esta penúltima sección del programa de clasificación de espigas se aboca a evaluar el resultado del agrupamiento realizado en la sección anterior. Esto se lleva a cabo mediante la correlación de Pearson entre el número de espigas por ensayo de cada uno de los grupos, la prueba de hipótesis (valor p) de que no existe relación entre los fenómenos observados y el intervalo de confianza del 95 % del coeficiente de correlación. Estas métricas se calculan mediante la función *corrcoef* de Matlab. El coeficiente de correlación de Pearson, que va de -1 a 1, nos indica si las espigas de una neurona putativa están correlacionadas con las de las demás neuronas. Si el valor es cercano a 1 entonces existe una correlación fuerte entre ese par de neuronas, lo que nos sugiere que la clasificación podría ser incorrecta y que se trata de las espigas de una sola neurona. Sin embargo, debemos analizar con precaución estos resultados, porque podría ser que la actividad de las neuronas putativas esté correlacionada a causa de que ambas se encuentren participando en un mismo proceso cognitivo implicado en la tarea. Por otro lado, el valor de p indica la probabilidad de que no exista relación lineal entre los fenómenos observados. Por ende, un valor de p muy bajo, sugiere que sí están correlacionados, y viceversa. Finalmente, el intervalo de confianza propone un rango plausible de valores (inferior y superior) para cada coeficiente de correlación con una confianza del 95 %. Si nuestro parámetro real está dentro del rango, es altamente probable que sea correcto. Estas dos métricas proporcionan un apoyo al valor del coeficiente de correlación de Pearson y permite inferir si nuestra clasificación fue correcta.

3.2.7. Guardado de los resultados

Como último paso, el programa de clasificación de espigas almacena los distintos datos resultantes de la clasificación de espigas en un archivo con extensión MAT. Para esto, primero se crea una estructura, en la que cada campo contiene los siguientes datos:

- TimeStamps: Vector con los tiempos en los que se detectó cada espiga.
- Spike_Trial: Vector con el número de los ensayos que conforman el registro.
- Class: Vector con el grupo, ya sea neurona o ruido, al que pertenece cada tiempo de disparo en TimeStamps.
- Meta: Vector con el nombre de los grupos y lo que representan. Por ejemplo, el grupo 1 representa a la neurona 1, mientras que el grupo -1 representa al grupo de ruido.
- Corr: Vector con los resultados de las correlaciones y pruebas de hipótesis.
- Centroids: Vector con los centroides de cada uno de los grupos.
- Metric: Vector con los valores promedio de la métrica *textitsilhouette* (solo cuando hay más de un grupo).

Finalmente, este archivo se almacena por medio de la función *save* de Matlab. El nombre del archivo es un código que incluye la información del mono, de la sesión de registro y del electrodo analizado.

IV

Resultados

*“No digas: he encontrado la verdad
Sino: he encontrado una verdad”*

-Khalil Gibran

Se registró la actividad de la CPV durante la TDB (sección 2.1). Esta tarea consiste en que el animal, posicionado en una silla especial, recibe dos estímulos de forma consecutiva, separado el uno del otro por un corto periodo de tiempo. La pareja de estímulos pueden ser de naturaleza vibrotáctil o acústica. En la modalidad táctil o T, los estímulos son entregados por un estimulador mecánico controlado por computadora que entra en contacto de forma repetitiva con la superficie de uno de los dedos de la mano fija del sujeto. En el caso auditivo o A, el estímulo es producido por una bocina. Esta pareja de estímulos es presentada en una de las 4 posibles combinaciones: AA, AT, TA o TT. Cada estímulo, independientemente de su modalidad sensorial, posee un valor de frecuencia particular. La tarea del mono es, presionando uno de dos posibles botones, indicar cuál de los dos estímulos presentó la mayor frecuencia. El animal recibe jugo como recompensa únicamente en aquellos ensayos en los que responde correctamente.

El registro de la actividad cerebral (sección 2.2) durante la resolución de la tarea por parte del animal se llevó a cabo de forma bilateral. Esto quiere decir que la implantación de los electrodos, guiada por un mapa de coordenadas del cerebro de mono Rhesus [29], se realizó tanto en la CPV localizada en el hemisferio derecho como en el izquierdo. La naturaleza de estos registros fue de tipo extracelular (subsección 2.2.2). Esto implica que los electrodos fueron posicionados en el espacio intersticial de la CPV. Por lo tanto, la actividad registrada consistió en los valores de voltaje provenientes de la despolarización del conjunto de neuronas ubicadas en las inmediaciones del sitio de implantación, con una menor influencia de células más lejanas [30]. Uno de los enfoques principales de este estudio consiste en caracterizar de forma individual los patrones de respuesta de las neuronas que conforman la población de la CPV. Con esto en mente, sometí los registros a un programa de clasificación de espigas desarrollado por personal del laboratorio (sección 3.2). A partir de esto, a lo largo de un periodo de 2 meses, aislé un total de 410 neuronas. De este total de neuronas, 172 provienen de la CPV derecha y 238 de la izquierda.

4.1. HETEROGENEIDAD EN RESPUESTAS DE NEURONAS INDIVIDUALES

Como primer paso en la caracterización de los patrones de actividad de las neuronas individuales, se obtuvo el raster de cada célula (paneles A y D de las figuras 4.1, 4.2, 4.3 y 4.4). Esta gráfica permite visualizar los cambios en la actividad de la neurona a lo largo de la tarea, denotando la participación que puede estar teniendo en los procesos cognitivos implicados en su resolución por parte del mono. Posteriormente, se calculó la tasa de disparo o Td de cada neurona empleando una ventana gaussiana con sigma y paso de 50 y 10 ms, respectivamente (paneles B y E de las figuras 4.1, 4.2, 4.3 y 4.4). El interés del proyecto reside en estudiar los procesos neuronales que subyacen a la memoria de trabajo en la CPV. En términos de la TDB, esta memoria de trabajo se

entiende como el mantenimiento de actividad dependiente de $f1$ a lo largo del periodo de retraso. En este sentido, se separaron los valores de Td de cada neurona con base en los valores de $f1$ de los ensayos en que fueron registradas. Esto se hizo con el objetivo de identificar si las neuronas presentan una Td diferencial dependiendo del valor específico de $f1$ durante el periodo de retraso. Por último, se realizó una regresión lineal simple (ecuación 2.2) entre los valores de Td y sus valores de $f1$ respectivos. Se graficaron los valores de pendiente que arrojó este ajuste lineal en cada una de las ventanas temporales de la tarea (paneles C y F de las figuras 4.1, 4.2, 4.3 y 4.4). Así, aquellas ventanas en que la pendiente alcanza valores absolutos altos, sugieren una fuerte dependencia lineal entre la Td y $f1$. Además, en la gráfica se colorearon aquellos segmentos en los que una prueba de permutación con 1000 permutaciones fue significativa para una p de significancia menor a 0.05 (subsección 2.3.3). De este modo, nos aseguramos de que los valores de pendiente sugiriendo una dependencia lineal entre Td y $f1$ no sean producto del azar.

En la figura 4.1 se muestra una neurona sintonizada positivamente a $f1$ desde la llegada del primer estímulo, a lo largo del periodo de retraso y hasta el final del periodo de presentación del segundo estímulo. Esto implica que esta célula está participando en la codificación y mantenimiento de $f1$ en memoria de trabajo. La neurona mantiene este tipo de respuesta independientemente de si el primer estímulo es de modalidad auditiva (izquierda) o táctil (derecha), sugiriendo que se trata de una neurona con codificación bimodal. En la figura 4.2 la célula presenta sintonización negativa desde el final de la presentación del primer estímulo y hasta el inicio del periodo de llegada del segundo. Esto se observa solamente ante estímulos táctiles, sugiriendo que se trata de una neurona con codificación exclusivamente somatosensorial. Por otro lado, la figura 4.3 muestra una neurona con sintonización positiva a $f1$, limitada al periodo de llegada de los estímulos y solamente cuando éstos son de modalidad auditiva. Esto sugiere que se trata de una neurona unimodal auditiva altamente sensorial. Algo similar se observa en la figura 4.4, con la diferencia de que en este caso se trata de una sintonización negativa a $f1$. Además, aunque dicha sintonización sigue siendo exclusiva al periodo de llegada de los estímulos, ésta ocurre solo con estímulos táctiles, indicando que se trata de una neurona unimodal táctil altamente sensorial.

Estas figuras, que muestran el tipo de actividad que presenta una neurona individual a lo largo de la tarea, son solo cuatro ejemplos de la amplia diversidad de patrones de respuesta encontrados en la población de CPV. Estos resultados permiten responder la interrogante planteada al inicio del proyecto (sección 1.2), confirmando que en CPV existe una subpoblación de neuronas para cada uno de los tres tipos de codificación: unimodal somatosensorial, unimodal acústico y bimodal. Sin embargo, esta alta heterogeneidad en las respuestas neuronales, la cual está en concordancia con lo reportado por la literatura para este tipo de cortezas [7, 37], exige proceder con un análisis que facilite la interpretación de los datos a nivel poblacional.

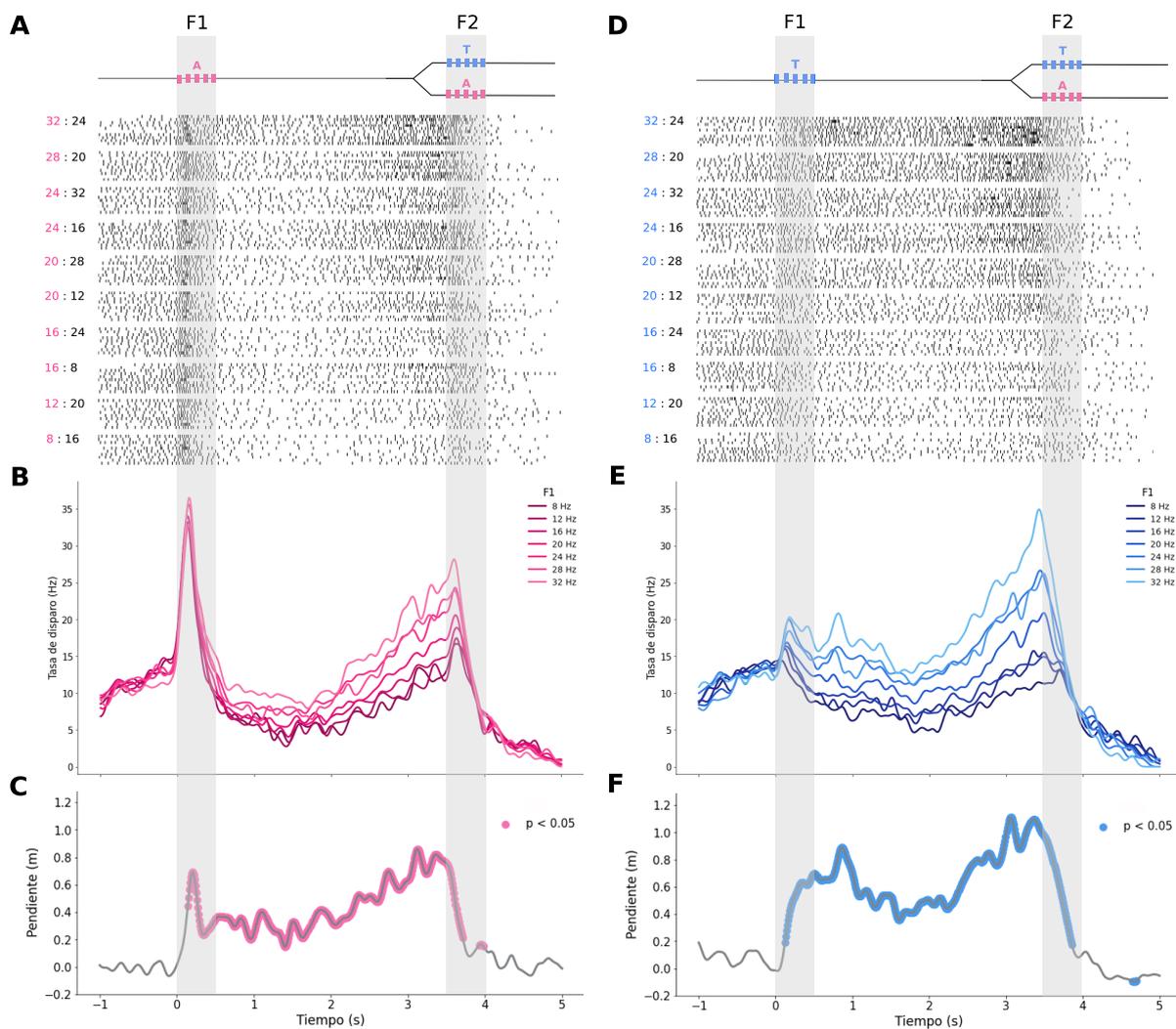


Fig. 4.1: Actividad de neurona bimodal. A) y D) La parte superior de la imagen muestra un diagrama con el curso temporal de la TDB para ensayos en los que el primer estímulo es únicamente de modalidad auditiva (A) y ensayos en los que el primer estímulo es únicamente de modalidad táctil (D). En los gráficos tipo raster de la parte inferior, donde cada fila representa un ensayo y cada punto un potencial de acción, el eje de las ordenadas denota la organización de los ensayos en términos de las distintas parejas de frecuencias. B) y E) Tasa de disparo calculada con ventana gaussiana con sigma y paso de 50 y 10 milisegundos, respectivamente. Las distintas curvas de tasa están categorizadas por un código de color dependiente de la frecuencia del primer estímulo (entre mayor es f_1 el color es más claro). C) y F) Valores de pendiente del ajuste lineal de la tasa de disparo con base en la frecuencia del primer estímulo. En cada ventana temporal se realiza una prueba de permutación de 1000 permutaciones, de modo que solo aquellas ventanas con $p < 0.05$ son significativas (segmentos coloreados). La neurona presenta una codificación lineal bimodal (en ambas modalidades sensoriales) positiva (a mayor f_1 mayor la tasa de disparo y por ende valores de pendiente positivos) del primer estímulo y de memoria tardía (los valores de pendiente incrementan hacia el final del periodo de retraso).

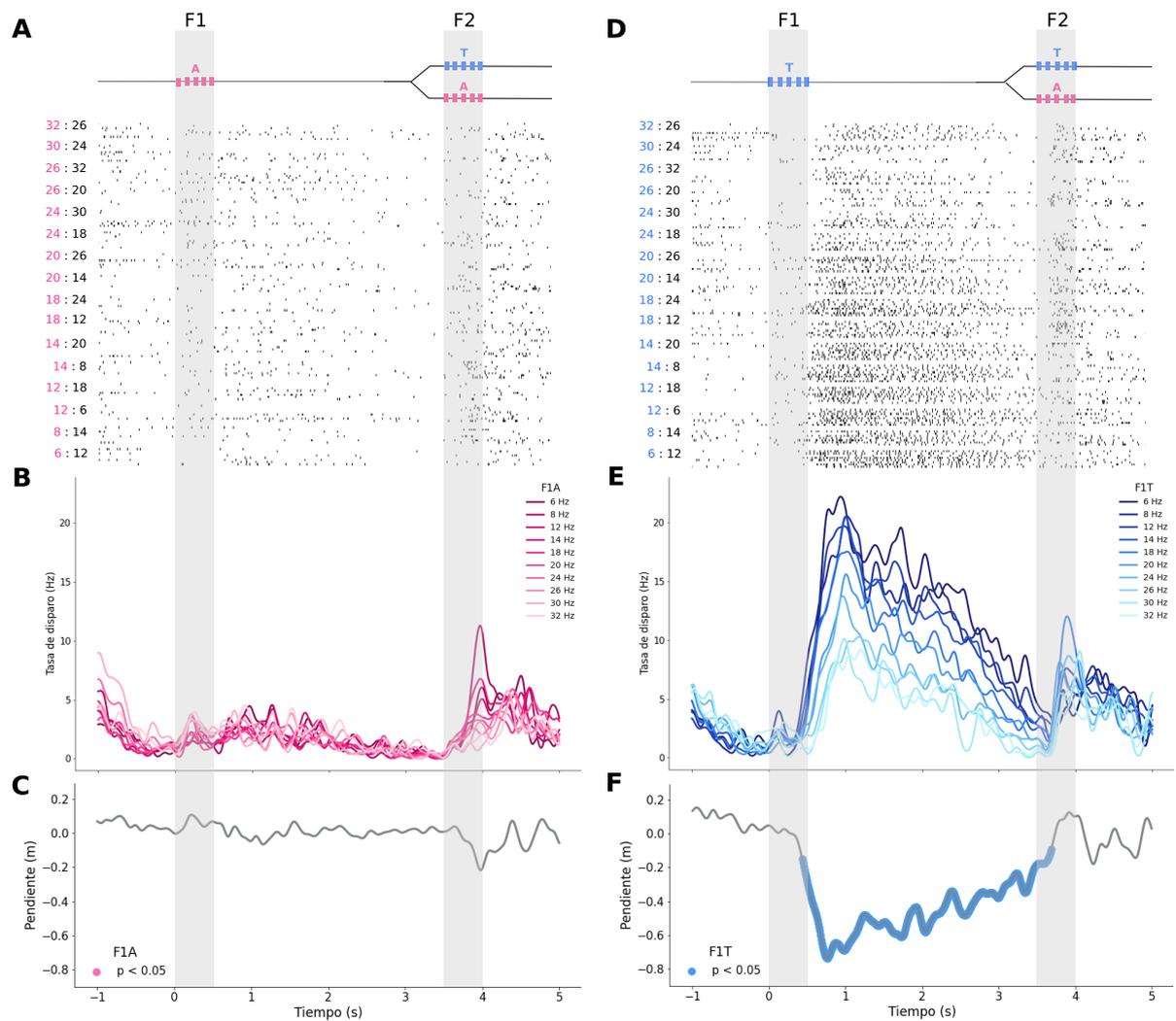


Fig. 4.2: Actividad de neurona unimodal táctil. Misma terminología que en la figura 4.1. La neurona presenta codificación lineal unimodal táctil (solo en los ensayos con f1 auditiva) negativa de memoria de trabajo temprana (los valores absolutos de pendiente son mayores en las ventanas significativas al inicio del periodo de retraso).

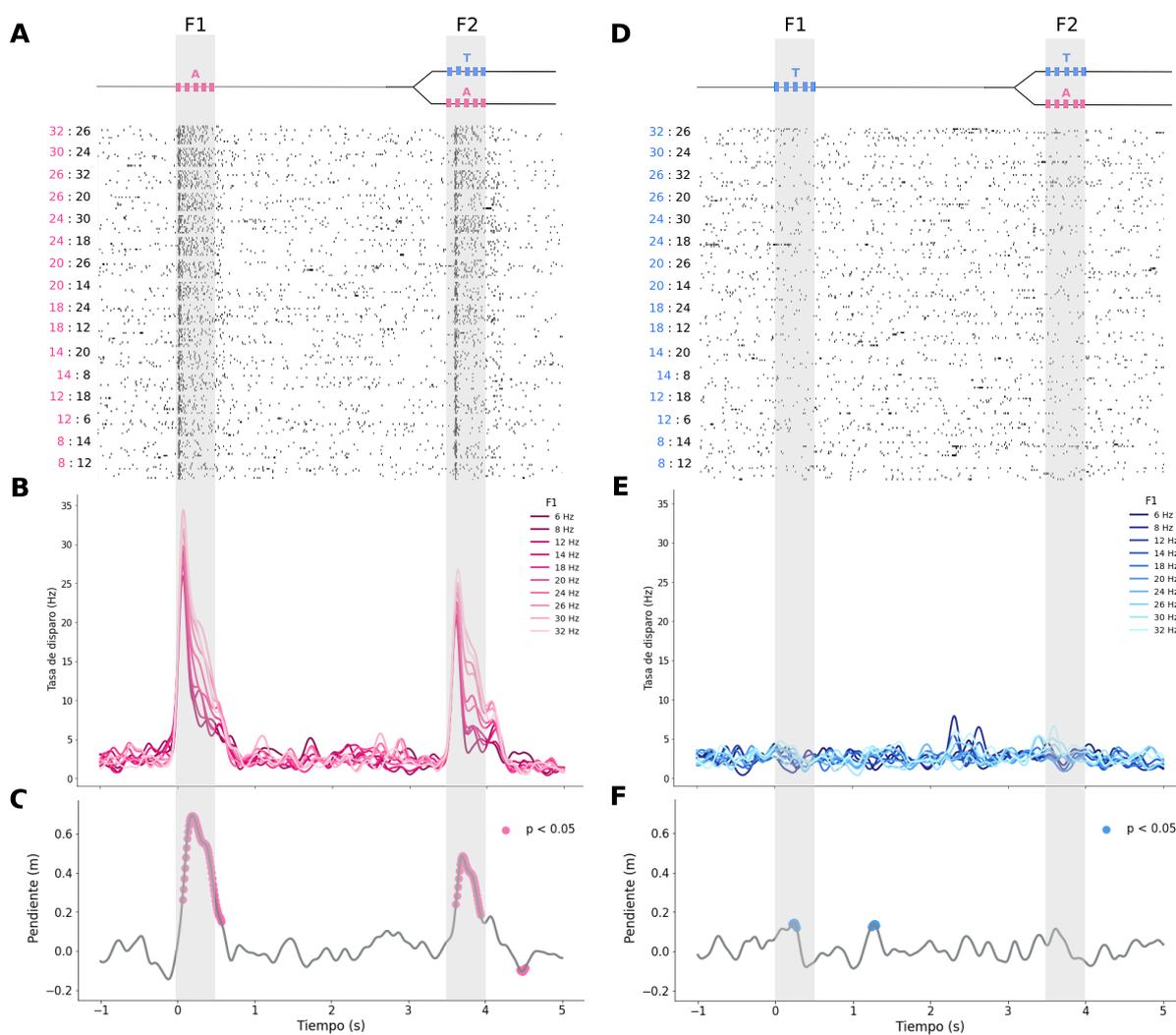


Fig. 4.3: Actividad de neurona unimodal auditiva. Misma terminología que en la figura 4.1 y 4.2. La neurona presenta codificación lineal unimodal auditiva (solo en los ensayos con f1 auditiva) positiva y únicamente sensorial (ventanas con pendientes significativas solamente en los periodos de llegada de los estímulos).

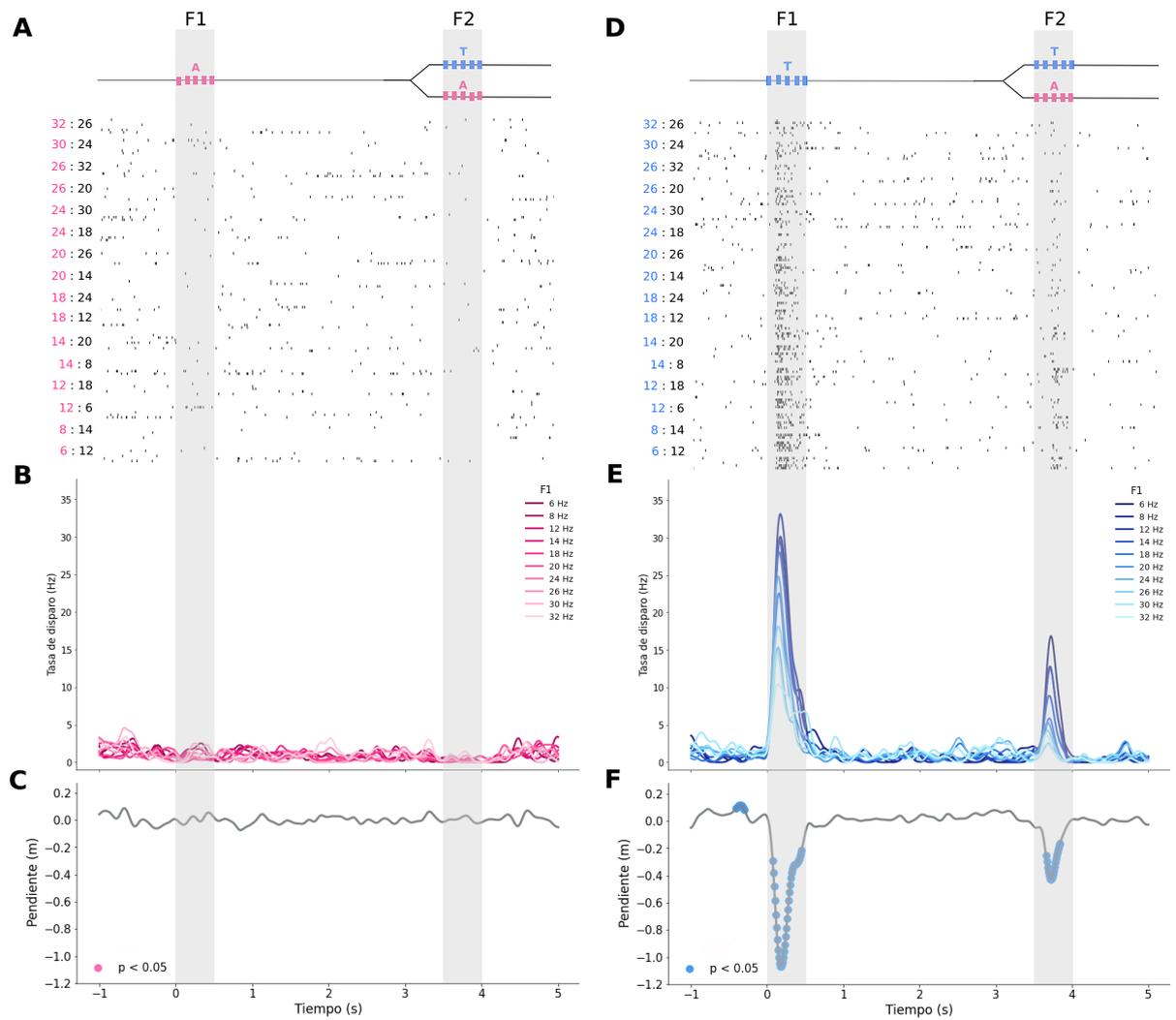


Fig. 4.4: Actividad de neurona unimodal táctil. Misma terminología que en las figuras 4.1, 4.2 y 4.3. La neurona presenta codificación lineal unimodal táctil (solo en los ensayos con $f1$ táctil) negativa (a mayor $f1$ menor la tasa de disparo) y únicamente sensorial.

4.2. PREDOMINIO DE CODIFICACIÓN UNIMODAL TÁCTIL

Buscando caracterizar el tipo de codificación presente en la CPV a nivel poblacional, el primer paso fue cuantificar el porcentaje de neuronas sintonizadas en cada una de las ventanas temporales de la tarea. El criterio para considerar que hay sintonización en un periodo dado, descrito en la subsección 2.3.3, consiste en que la prueba de permutación sobre el ajuste lineal sea significativa en al menos 4 ventanas consecutivas. En el panel B de la figura 4.5 se muestra el curso que siguen estos valores de porcentaje, separando entre neuronas codificando de forma unimodal táctil, unimodal auditiva y bimodal. Se encontró un claro predominio del porcentaje de neuronas con sintonización de tipo unimodal táctil, lo cual se expresa con la curva azul posicionada por encima de las otras durante casi toda la tarea.

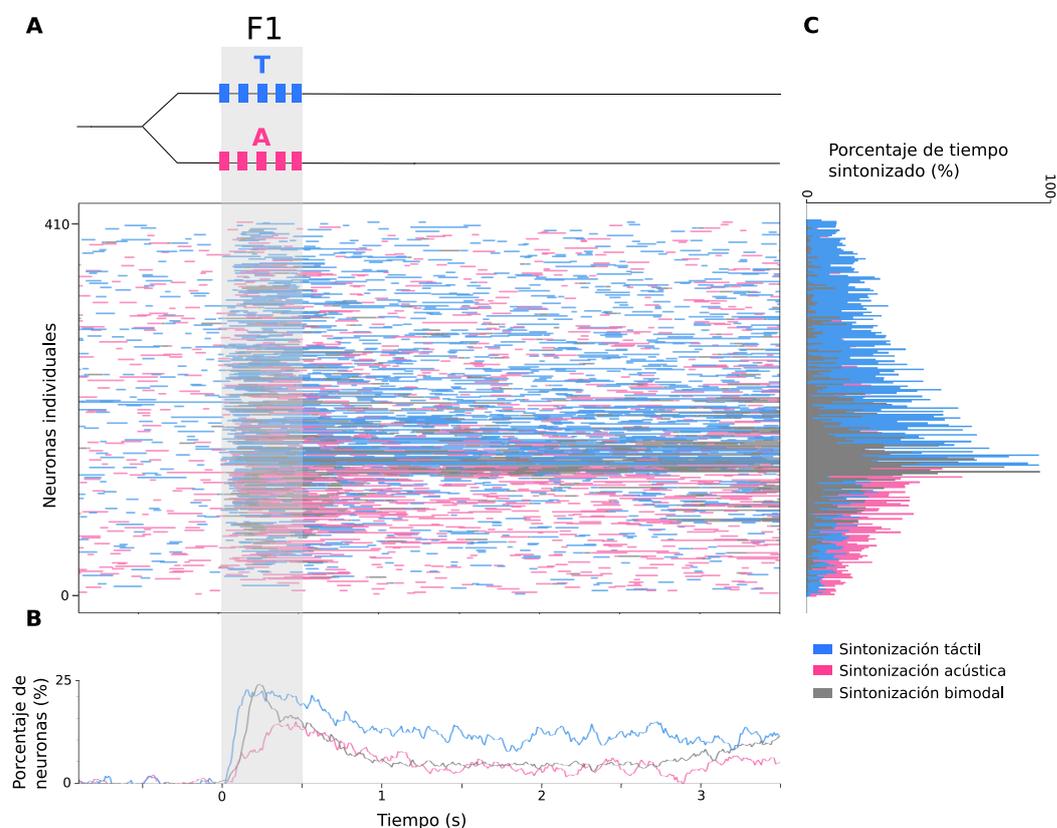


Fig. 4.5: Codificación lineal poblacional. A) La parte superior de la imagen muestra un diagrama con el curso temporal de la TDB hasta el término del periodo de retraso, resaltando el periodo de llegada del primer estímulo, auditivo o táctil, con una barra de color gris. En la gráfica de la parte inferior cada punto del eje de las ordenadas representa una neurona. La extensión de las barras a lo largo del eje de las abscisas, con el código de colores indicado para el tipo de codificación, refleja la cantidad de ventanas sintonizadas en los distintos segmentos de la tarea. B) Porcentaje de neuronas que presentan codificación lineal para las distintas modalidades a lo largo de la tarea. C) Histograma con la distribución de los distintos porcentajes de tiempo que las distintas neuronas permanecen sintonizadas para cada uno de los tres tipos de codificación.

En un paso posterior, tal como se muestra en el panel A y C de la figura 4.5, se estimó, en relación al total de ventanas temporales que conforman la tarea, la distribución del porcentaje de ventanas con sintonización de las distintas neuronas. Esto se llevó a cabo manteniendo la separación entre los tres tipos de codificación. Se encontró que,

para la codificación unimodal auditiva y bimodal, gran parte de las neuronas se mantienen sintonizadas únicamente durante periodos cortos. Por otro lado, en el caso de la codificación unimodal táctil, se encontró una mayor cantidad de neuronas sintonizadas durante periodos más largos, con una caída paulatina en el tamaño de estos segmentos con codificación.

En conjunto, estos resultados corroboran el rol que los trabajos previos, empleando tareas de discriminación únicamente vibrotáctil [13, 15] o acústica [16], le han adjudicado a la CPV en la codificación y mantenimiento en memoria de los estímulos entrantes. Además, gracias a que la tarea de discriminación sensorial empleada en el presente estudio utiliza estímulos de ambas modalidades, fue posible dilucidar que la participación de la CPV en estos procesos parece ser mayoritariamente de tipo unimodal táctil. Estos resultados, de la mano con lo observado en los análisis de neurona individual, sugieren que es la subpoblación de neuronas con sintonización exclusiva a la información somatosensorial la que predomina en esta corteza. El hecho de que el procesamiento en CPV siga dependiendo en gran medida de la modalidad sensorial de la información entrante, indica que esta región posee un bajo grado de abstracción. Esto, en concordancia con [7], posiciona a CPV en los primeros niveles de la jerarquía en la vía de procesamiento implicada en alcanzar una decisión, tratándose entonces de una de las primeras áreas frontales en recibir la información proveniente de las cortezas sensoriales.

4.3. CODIFICACIÓN TEMPORAL Y DE F1 EN CPV

Como se explicó en la subsección 2.3.5, el ACP es una herramienta de reducción de dimensiones basada en varianza. De manera resumida, se trata de una técnica que, operando sobre nuestros datos, arroja tantos eigenvectores o CP como neuronas registradas (dimensiones) tengamos en nuestra población. Estos componentes, que son ortogonales entre sí, siguen un orden descendente basado en la cantidad de varianza explicado por cada uno. Esta organización implica que gran parte de la varianza de los datos originales está explicada por los primeros CP. La utilidad de esta herramienta reside en la posibilidad de proyectar nuestros datos sobre cada uno de estos vectores y así obtener un espacio de mucha menor dimensionalidad que facilite la interpretación del curso que sigue la actividad poblacional de la CPV a lo largo de la tarea [37, 38].

Debido a que no todas las neuronas fueron registradas empleando ensayos con los 14 valores de f_1 , se seleccionaron los valores más abundantes en los registros, de modo que la menor cantidad de neuronas quedara fuera de la proyección. Como resultado de esto, la proyección se llevó a cabo empleando la actividad de las 113 neuronas registradas con los 6 valores de f_1 más utilizados: 6, 12, 14, 20, 24 y 26 Hz. En la figura 4.6 se muestra la actividad poblacional de estas 113 neuronas, proyectada sobre el primer componente principal (CP1), el cual explica el 60.7% de la varianza total. Este procedimiento se llevó a cabo separando entre la actividad proveniente de ensayos somatosensoriales (gráfica derecha) y auditivos (gráfica izquierda). Además, debido a que nuestro interés reside prin-

principalmente en analizar la participación que tiene esta población en el mantenimiento de f1 en memoria de trabajo, se utilizó un código de color para clasificar la actividad proveniente de ensayos con cada uno de los 6 valores de f1 mencionados arriba.

En la figura 4.6 se observa una clara separación entre las curvas asociadas a los distintos valores de f1. Esto implica que la actividad poblacional proyectada sobre este nuevo espacio parece depender en gran medida de la frecuencia del primer estímulo. El hecho de que esta separación surja desde la llegada del estímulo y se mantenga a lo largo del periodo de retraso, reafirma la mencionada participación que parece presentar CPV en la codificación de la memoria de trabajo. Aunque esto se cumple para los estímulos de ambas modalidades, se encontró una separación más clara entre frecuencias altas y bajas en el caso de los estímulos táctiles. Esto reitera la idea de que en esta corteza existe un predominio de un tipo de codificación exclusivo a la modalidad somatosensorial.

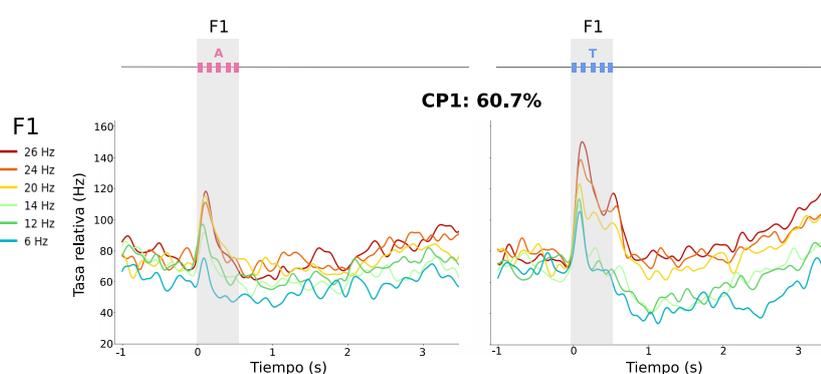


Fig. 4.6: Codificación poblacional de f1. Proyección de la actividad poblacional de CPV sobre el primer componente principal (CP1), el cual explica el 60.7% de la varianza total. La población está conformada por las 113 neuronas de CPV registradas con los valores de f1: 6, 12, 14, 20, 24 y 26 Hz. La actividad poblacional asociada a cada valor de f1 está clasificada por el código de color mostrado en la parte izquierda de la figura. En la gráfica izquierda se proyecta la actividad proveniente de ensayos cuyo primer estímulo fue de modalidad auditiva, y en la derecha los de modalidad táctil. Se aprecia una separación más clara entre los valores de frecuencia altos y bajos en el caso de los ensayos cuyo primer estímulo fue táctil.

Los paneles A y B de la figura 4.7 muestran la proyección de la actividad poblacional sobre el segundo y tercer CP, respectivamente. En ambos casos se observa un amplio solapamiento entre las distintas curvas, denotando la ausencia de codificación de f1. Sin embargo, al igual que en la figura 4.6, puede apreciarse que la actividad poblacional, independientemente de la frecuencia del primer estímulo, parece seguir un patrón de evolución particular a lo largo del tiempo. Este tipo de actividad que parece no depender de los parámetros de los estímulos, pero sí de los tiempos en los que ocurren los distintos eventos de la tarea, se ha reportado anteriormente para cortezas del lóbulo frontal durante tareas de discriminación [51, 52]. Aunque se desconoce el sustrato anatómico y funcional específico de esta codificación temporal, se hipotetiza que puede fungir de marco sobre el cual pueden actuar las neuronas que sí se encuentran codificando los parámetros de los estímulos. No obstante, para identificar y entender el sustrato de esta codificación de los eventos en el tiempo, se necesitará de más trabajos enfocados en seccionar la influencia que tienen los distintos tipos de varianza en la actividad poblacional.

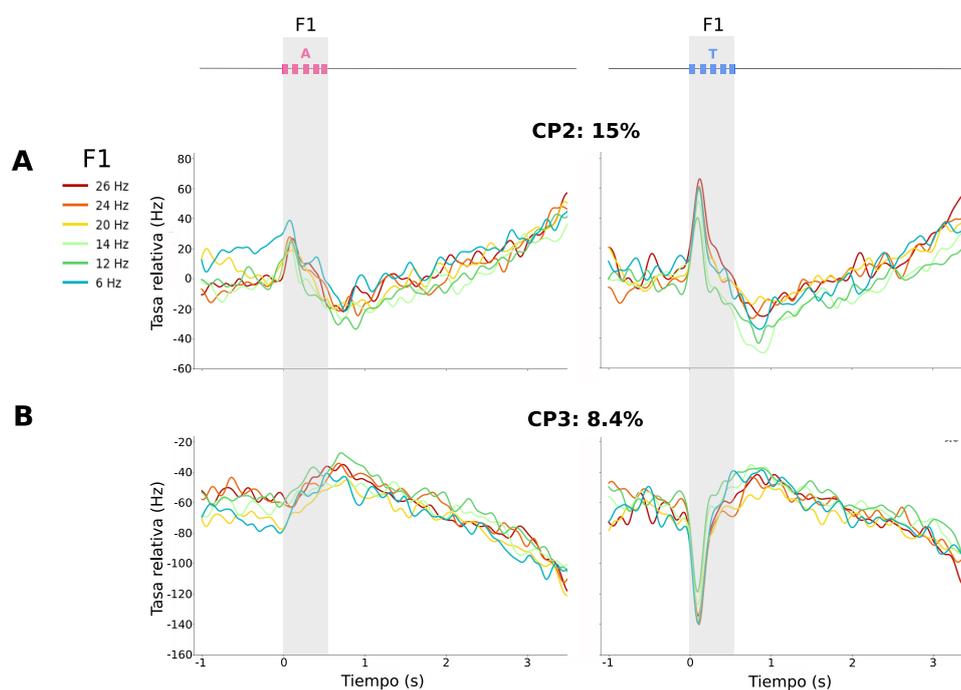


Fig. 4.7: Codificación poblacional temporal. Misma terminología que en la figura 4.6. A) Proyección de la actividad poblacional de CPV sobre el segundo componente principal (CP2), el cual explica el 15% de la varianza total. C) Proyección de la actividad poblacional de CPV sobre el tercer componente principal (CP3), el cual explica el 8.4% de la varianza total. En ambas proyecciones se aprecia un curso temporal particular en la actividad de la población, el cual es independiente de los valores de $f1$.

Por último, tal como se describe en la sección 2.3.6, se llevaron a cabo los distintos cálculos de varianza sobre la actividad poblacional de la CPV. En términos generales, estos análisis permiten evaluar la relación entre el comportamiento de la población y los distintos parámetros que componen a los estímulos a lo largo de la TDB. A su vez, esto ayuda a complementar el entendimiento sobre los tipos de codificación predominantes en la población de neuronas.

En el panel A de la figura 4.8 se muestran los valores de varianza temporal. Estos valores reflejan, en cada ventana temporal, que tanto difiere la actividad poblacional durante la TDB de la actividad basal. Pueden apreciarse valores distintos de cero desde el inicio de la tarea. Esto confirma, de manera general, la participación de la CPV en la serie de procesos cognitivos involucrados en la resolución de la tarea. El pico de varianza observado en el periodo de llegada del primer estímulo, denota que es en ese momento cuando la actividad difiere en mayor medida de su actividad basal. Esto parece apoyar la idea de que estas neuronas tienen un alto grado de participación en los procesos de codificación de la frecuencia de los estímulos. Los valores de varianza distintos de cero a lo largo del periodo de retraso, sugieren una participación de la CPV en los procesos de mantenimiento en memoria de $f1$. No obstante, se deben tomar estas interpretaciones con cuidado ya que se trata de una métrica poco específica que solo indica en qué momentos de la tarea la actividad difiere de la actividad basal.

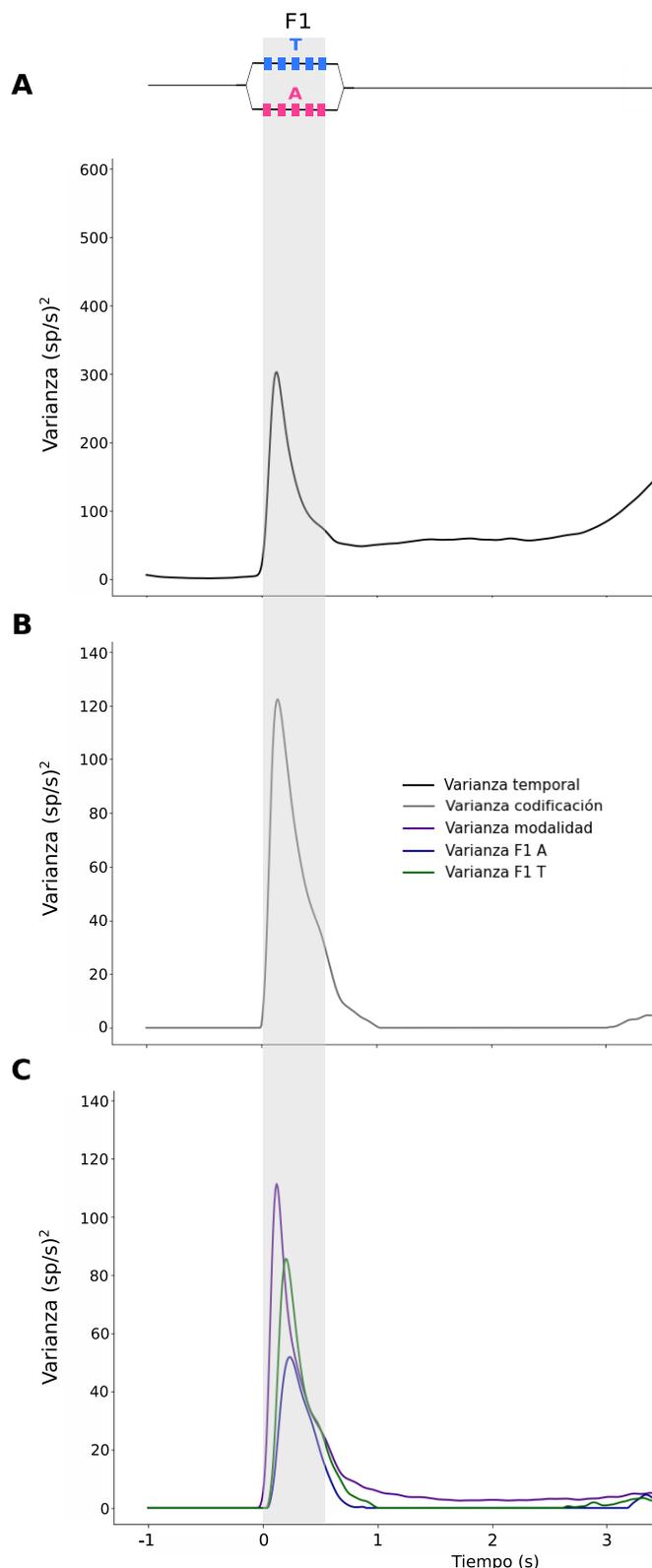


Fig. 4.8: Cálculos de varianza poblacional. A) Cálculo de varianza temporal que consiste en comparar la actividad poblacional en cada una de las ventanas temporales de la TDB, con la actividad basal promedio. B) Cálculo de varianza de codificación que consiste en estimar las diferencias entre la actividad poblacional registrada en las distintas clases de la tarea. C) Cálculo de varianza de modalidad que compara la actividad poblacional entre registros obtenidos en ensayos con f1 táctil y ensayos con f1 auditiva. La varianza de f1 A, utilizando únicamente la actividad registrada en ensayos con f1 auditiva, compara la actividad de la población entre los distintos valores de f1. Para el cálculo de varianza de f1 T se realiza lo mismo que en el de f1 A, solo que en este caso se utilizan únicamente ensayos con f1 de modalidad táctil.

Para estudiar si en efecto los cambios en la actividad de la CPV a lo largo de la tarea se deben a su participación en los procesos de codificación, se aplicó la métrica de varianza de codificación. Esta métrica estima las diferencias en la actividad poblacional dependiendo de la clase específica en la que fue registrada. Como se mencionó anteriormente, la tarea posee 56 clases, cada una descrita por los parámetros de modalidad y frecuencia del primer estímulo. Los resultados se muestran en el panel B de la figura 4.8. Se observa un pico de varianza en el periodo de llegada de f1. Esto denota que en estas ventanas temporales, la actividad poblacional presenta una amplia dependencia de los parámetros de este estímulo. A su vez, esto es un claro indicador del alto grado de participación que tienen estas neuronas en los procesos de codificación. El hecho de que la varianza a lo largo del periodo de retraso vuelva a valores alrededor de cero, sugiere que la participación en los procesos de memoria no difiere significativamente entre las distintas clases. Aunque estos resultados corroboran la participación de la corteza en los procesos de codificación, no ofrecen información sobre posibles diferencias dependiendo de la modalidad sensorial.

Con el objetivo de analizar la influencia de la naturaleza sensorial de los estímulos sobre la actividad poblacional, se empleó la métrica de varianza de modalidad. Estos resultados se presentan en el panel C de la figura 4.8. Puede observarse un pico de varianza en el periodo de llegada del estímulo. Este pico sugiere que la actividad de la CPV en este periodo presenta una amplia dependencia del canal sensorial. Los valores de varianza ligeramente distintos de cero a lo largo del periodo de retraso, parecen sugerir que la influencia de la modalidad sobre la actividad de la corteza se extiende también a este periodo. De manera general, estos resultados confirman que la actividad en la CPV difiere dependiendo de la naturaleza sensorial del estímulo presentado. Sin embargo, esta métrica no nos asegura que las diferencias observadas estén ocurriendo en los patrones de actividad relacionados con la codificación y mantenimiento en memoria de los estímulos. Para esto se utilizan los cálculos de varianza de f1 táctil y auditiva, cuyos resultados se presentan en el mismo panel de la figura. En conjunto, estas dos métricas permiten comparar el grado de participación que tiene la población en la codificación de los estímulos de cada modalidad. Puede apreciarse que la varianza de f1 táctil durante el periodo de llegada del primer estímulo alcanza valores superiores que los de varianza de f1 auditiva. Esto sugiere el predominio de una subpoblación con codificación de tipo unimodal somatosensorial. A su vez, esto apoya los resultados obtenidos al proyectar la actividad poblacional sobre el primer CP. En esta proyección se observó un mayor grado de separación entre las curvas asociadas a distintos valores de f1 en el caso de estímulos táctiles. Por otro lado, se aprecia un alto grado de solapamiento en los valores de varianza de f1 táctil y auditiva en el periodo de retraso. Esto parece indicar que, independientemente de la modalidad sensorial, la población no presenta diferencias en el patrón de actividad relacionado con el mantenimiento en memoria de f1.

V

Discusión

“Lo último que uno sabe, es por donde empezar”

-Blaise Pascal

Se encontró que la CPV tiene una participación activa en los procesos de codificación y mantenimiento en memoria de los estímulos durante la TDB. El empleo de esta tarea, al utilizar estímulos de modalidad somatosensorial y auditiva, permitió identificar que esta corteza está conformada por neuronas somatosensoriales, neuronas auditivas y neuronas independientes de la modalidad de los estímulos. Esto coincide con lo observado al analizar la actividad en la región pre-SMA de CPM durante la TDB [22]. No obstante, una discrepancia importante es que, mientras que en pre-SMA se reporta un predominio de neuronas independientes de la modalidad, en CPV se encontró una mayor abundancia de neuronas con codificación exclusivamente táctil. Estos resultados sugieren que pre-SMA emplea un mismo código de procesamiento, independientemente del canal sensorial a través del cual entra la información, lo cual denota un alto grado de abstracción. En cambio, la alta dependencia de la modalidad sensorial presente en CPV, denota la utilización de un código menos abstracto.

En un estudio reciente se planteó la existencia de una jerarquía en la vía de procesamiento que sigue la información sensorial hasta alcanzarse una decisión [7]. Este planteamiento se sustenta en el análisis de los patrones de respuesta de distintas áreas involucradas en el proceso de toma de decisiones durante una tarea de discriminación somatosensorial. Específicamente, se analizó la latencia de respuesta de estas cortezas, junto con el grado de información que ofrece su actividad sobre la decisión del mono. A partir de los resultados obtenidos, se estableció que la S1, CPV y CPM siguen un orden ascendente en esta jerarquía. En el caso de S1 y CPM, su posición en la jerarquía parece coincidir con el grado de abstracción del código que utilizan para procesar la información sensorial. Mientras que S1 emplea un código nada abstracto completamente dependiente de la modalidad del estímulo, CPM presenta un predominio de neuronas con codificación independiente de la modalidad de los estímulos. Bajo este contexto, los resultados del presente estudio parecen también corroborar la posición intermedia de la CPV en la jerarquía. Esto es porque, a pesar de que esta corteza presenta una subpoblación de neuronas con codificación independiente de la modalidad de los estímulos, el predominio lo sigue teniendo una población con codificación exclusivamente táctil. Sin embargo, para incrementar la certeza con respecto a la posición que ocupan estas áreas en la jerarquía del procesamiento, se necesita de estudios que caractericen la población neuronal del resto de áreas cerebrales participando en los procesos cognitivos implicados en la resolución de la tarea por parte del mono. A su vez, esta caracterización exige, tal como se hizo en este proyecto, la utilización de tareas de discriminación sensorial con estímulos de más de una modalidad.

El predominio de una codificación de tipo unimodal táctil en CPV se vio apoyado por los resultados del ACP. Esta técnica permite proyectar los datos sobre un espacio de mucha menor dimensionalidad, facilitando la interpretación del curso que sigue la actividad poblacional de CPV a lo largo de la tarea. En esta proyección, se observó una codificación

de $f1$ más clara en el conjunto de ensayos en los que el primer estímulo fue de modalidad táctil. Sin embargo, como se mencionó en la sección 4.3, debido a que no se emplearon los mismos valores de $f1$ en todas las sesiones de registro, fue necesario identificar aquellos valores más utilizados y seleccionar a las neuronas registradas con ellos para la proyección. Esto hizo que, del total de 410 neuronas registradas, se procediera únicamente con 113, lo que representa solo un poco más de un cuarto de la población. Por lo tanto, para incrementar la robustez de los resultados aquí obtenidos, será necesario que en trabajos posteriores se mantenga un mayor control sobre los parámetros de la tarea utilizados durante las sesiones de registro. Además, de manera más general, el repetir el estudio incrementando la N de neuronas registradas, permitirá descartar la posibilidad de que el observado predominio de neuronas con codificación unimodal táctil se deba a las características particulares de la población registrada.

Otro rasgo a destacar en los resultados arrojados por el ACP es la presencia de una componente temporal en las distintas proyecciones. Este tipo de actividad, reportada con anterioridad para áreas frontales en tareas de discriminación [51, 52], se aprecia en el curso particular que sigue la evolución de la actividad poblacional a lo largo de la tarea, independientemente del grado de solapamiento o separación entre las curvas asociadas a los distintos valores de $f1$. Sin embargo, se desconocen los procesos cerebrales específicos detrás de esta codificación temporal y su influencia en la conducta del animal a la hora de resolver la tarea. Para abordar esta interrogante, se necesitará de trabajos posteriores que combinen el estudio de la conducta con métricas que permitan seccionar las distintas componentes de la varianza explicada en los datos [37].

Un aspecto importante de este proyecto es el hecho de que la actividad en CPV se registró de manera bilateral. Esto es completamente entendible en el caso de los estímulos auditivos, ya que el sonido es recibido a través de ambos oídos. Sin embargo, en el caso de la modalidad táctil, los estímulos son entregados en una única mano fija. Debido al entrecruzamiento de las fibras somatosensoriales, podría pensarse que lo más plausible es registrar la corteza de forma contralateral, tal como se ha hecho en estudios previos [15]. No obstante, se sabe que además de la proyección ipsilateral desde las áreas somatosensoriales hacia CPV, existen fuertes proyecciones contralaterales entre las CPV derecha e izquierda [25, 26, 27]. Por lo tanto, a pesar de que el estímulo es entregado de forma unilateral, la CPV de ambos hemisferios se ve involucrada en los distintos procesamientos implicados en la resolución de la tarea. Esto se ve apoyado por los resultado de un estudio en el que, analizando la actividad de CPV de forma bilateral durante la tarea de discriminación somatosensorial, se encontraron patrones de respuesta neuronal similares en ambas cortezas [13]. A pesar de todo esto, no se descarta la existencia de una participación diferencial de la CPV derecha e izquierda en los procesamientos relacionados con la resolución de la tarea por parte del mono. Se necesitará de estudios que no solo extiendan el repertorio de métricas utilizadas para analizar la actividad poblacional, sino que también balanceen la lateralidad de la presentación de los estímulos.

*“Nuestro cerebro no es más complejo que el de un primate
Si vemos más lejos es por estar a hombros de gigantes
La capacidad de unir mentes en un ente pensante
Porque nuestro todo es más que la suma de nuestras partes”*

-Ozelot

A partir de los resultados obtenidos por diversos trabajos enfocados en el estudio de la toma de decisiones durante tareas de discriminación sensorial, se ha planteado la existencia de una jerarquía en el nivel de procesamiento que presentan las distintas regiones cerebrales involucradas en la resolución de este tipo de tareas [7]. En el extremo inferior de esta jerarquía se encuentran las áreas cuya población parece participar únicamente en la codificación literal de los parámetros de los estímulos entrantes. Este parece ser el caso de las cortezas sensoriales primarias, cuya codificación depende completamente del tipo de información sensorial. En cambio, en el extremo superior encontramos principalmente regiones del lóbulo frontal, cuyo procesamiento presenta un mayor nivel de generalización, con una codificación y mantenimiento en memoria de trabajo de los estímulos, independientemente de su naturaleza sensorial. Esta posición parece estar siendo ocupada por regiones como la pre-SMA de la CPM, con un predominio de neuronas cuya codificación no depende de la modalidad de los estímulos [22]. El presente estudio, enfocado en la participación de la CPV en la resolución de una TDB somatosensorial y acústica, demuestra un predominio de neuronas con codificación exclusivamente táctil. Estos resultados sugieren que, a pesar de tratarse de un área del lóbulo frontal, el código de memoria de trabajo en esta población sigue dependiendo ampliamente de la naturaleza sensorial de los estímulos presentados. A su vez, esto posiciona a la CPV en un punto intermedio en la vía de procesamiento, sugiriendo entonces que se trata de una de las primeras regiones del lóbulo frontal en recibir la información proveniente de las áreas sensoriales.

VII

Perspectivas

“Nunca dejamos de investigar. Nunca estamos satisfechos de saber lo suficiente para salir adelante. Cada pregunta que respondemos lleva a otra pregunta. Esto se ha convertido en el mayor truco de supervivencia de nuestra especie.”

-Desmond Morris

7.1. UMAP Y SPIKE SORTING

Anteriormente se mencionó que debido a la alta dimensionalidad de los datos conformados por los registros extracelulares, es necesario utilizar técnicas de reducción de dimensiones como ACP y TO. De este modo, la gran cantidad de dimensiones que describe las características de la actividad eléctrica detectada por los electrodos, quedan reducidas a unos cuantos CP y coeficientes de ondícula, respectivamente. Una vez realizada esta reducción de dimensiones es posible, por medio de algoritmos de agrupamiento, separar las formas de espiga con base en estos CP y/o coeficientes de ondícula. Estas herramientas, de forma individual, son ampliamente utilizadas y han demostrado resultados favorables en la literatura científica.

Por otro lado, existen también algoritmos de aprendizaje de máquina no supervisados que realizan una reducción de dimensiones enfocada en que los datos proyectados sobre el espacio de baja dimensionalidad mantengan un buen equilibrio entre la estructura global y local de los datos originales. Esto facilita el trabajo de las técnicas de agrupamiento. El desempeño de estas herramientas recae en la selección adecuada de sus hiperparámetros, lo cual suele llevarse a cabo por medio de prueba y error, repitiendo la aplicación del algoritmo sobre los datos múltiples veces. Un ejemplo es la técnica *t-Distributed Stochastic Neighbor Embedding* (t-SNE). A pesar de que esta ha demostrado una buena separación de los datos proyectados en el espacio de baja dimensionalidad, su cómputo es muy pesado y consume muchos recursos computacionales. Esto hace que la repetición del algoritmo, necesaria para la selección de los hiperparámetros, se vuelva un trabajo arduo. Con el objetivo de reducir el tiempo de cómputo de este tipo de herramientas, recientemente se desarrolló la técnica *Uniform Manifold Approximation and Projection* o UMAP [53]. Este algoritmo, además de reducir ampliamente el tiempo de cómputo, ha demostrado en muchos casos un mejor desempeño en el mantenimiento del equilibrio de estructura global y local, en comparación con otras herramientas de este tipo.

En un trabajo llevado a cabo en el 2021, se desarrolló un algoritmo para la separación de las formas de espiga detectadas en los registros extracelulares de la CPD, durante una tarea de toma de decisiones en macaco [54]. Este estudio no solo encontró una diversidad de tipos neuronales en concordancia a lo reportado por trabajos previos [6], sino que permitió identificar nuevos tipos celulares, con propiedades distintivas en términos de su distribución laminar, patrones de disparo y dinámicas relacionadas con la toma de decisiones [54]. Con base en esto, en el laboratorio se desarrolló, a partir del programa de *Spike Sorting* original, una versión basada en UMAP. Este programa, escrito en Python, complementa la velocidad y potencial de separación de las formas de espiga de UMAP, con el reportado alto desempeño del algoritmo de agrupamiento jerárquico basado en densidad espacial o *HDBSCAN*.

El empleo de este nuevo algoritmo en trabajos futuros permitirá tener un nuevo punto de referencia para evaluar los resultados no solo del presente proyecto, sino de cualquier trabajo cuya separación de neuronas individuales se haya llevado a cabo con un algoritmo de *Spike Sorting* distinto al de UMAP. Además, dado a la mejora significativa en el tiempo de cómputo que ofrece este nuevo algoritmo, se espera que su utilización reduzca la gran cantidad de trabajo y tiempo que exige este tipo de proyectos en el proceso de identificar neuronas individuales.

7.2. ANÁLISIS DE OSCILACIONES DE CAMPO LOCAL

Como ya quedó demostrado a lo largo de este proyecto, es posible estudiar los procesos cognitivos necesarios para la resolución de tareas conductuales en una región particular de la corteza cerebral, a través de analizar los patrones de disparo de las neuronas que componen a la población de interés. Sin embargo, éste no es el único tipo de actividad que ha demostrado tener relevancia en el análisis de estos procesos cerebrales. Un ejemplo son los potenciales de campo local o PCL. Éstos consisten en oscilaciones de voltaje en el espacio extracelular de un conjunto local de neuronas. A su vez, estas oscilaciones surgen de los distintos grados de sincronía entre las corrientes iónicas que subyacen tanto a los potenciales de acción, como a la actividad subumbral de las células que conforman la red [55]. La literatura enfocada en el estudio de estas oscilaciones, ya sea de forma individual o en conjunto con el análisis de los patrones de disparo poblacionales, ha reportado descubrimientos bastante interesantes referente a su relación con estos procesos cognitivos.

En un trabajo previo, enfocado en el análisis de PCL generados en S1, S2, CPM, CPD y el área motora primaria (M1) durante la tarea de discriminación somatosensorial, se reporta una disminución en la amplitud de las oscilaciones en el rango de frecuencias alfa (8 - 14 Hz), principalmente ante la llegada del estímulo en las áreas sensoriales y durante el periodo de memoria de trabajo en las áreas prefrontales y motoras. Esta disminución en la amplitud se ve acompañada por un incremento en la tasa de ocurrencia de potenciales de acción, sugiriendo un efecto inhibitorio de la actividad oscilatoria alfa sobre la actividad de disparo neuronal [56]. Por otro lado, un estudio de PCL en CPM durante la TDB a cargo de una colaboradora del laboratorio, encontró una modulación de la actividad oscilatoria en el rango de frecuencias beta (15 - 30 Hz) dependiente de la frecuencia del estímulo, pero independiente de su modalidad, durante el periodo de memoria de trabajo. También se observó una modulación de estas oscilaciones durante el periodo de comparación y toma de decisiones, las cuales fueron predictivas de la elección del mono [57].

En el presente proyecto, la obtención de las bases de datos con los tiempos de disparo de las neuronas en CPV a lo largo de la TDB, se realizó en simultaneidad con el registro de PCL. La inclusión de los análisis de PCL en los periodos de memoria de trabajo y llegada de los estímulos, lo cual no está reportado por la literatura, permitirá obtener un panorama más completo de las dinámicas neuronales que subyacen a los procesos cognitivos necesarios para la resolución de este tipo de tarea conductual.

Bibliografía

- [1] A. Tanomtong, S. Khunsook, A. Chaveerach, W. Kaensa, and R. Banjongrat, "Comparative Phylogenetic Studies of Rhesus Monkey (*Macaca mulatta*) and Human (*Homo sapiens*) using G-Banding Pattern," *CYTOLOGIA*, vol. 71, no. 1, pp. 87-92, 2006.
- [2] V. Mountcastle, M. Steinmetz, and R. Romo, "Frequency discrimination in the sense of flutter: psychophysical measurements correlated with postcentral events in behaving monkeys," *The Journal of Neuroscience*, vol. 10, pp. 3032-3044, Sept. 1990.
- [3] A. Hernández, E. Salinas, R. Garcia, and R. Romo, "Discrimination in the Sense of Flutter: New Psychophysical Measurements in Monkeys," *The Journal of Neuroscience*, vol. 17, pp. 6391-6400, Aug. 1997.
- [4] R. Romo and E. Salinas, "Touch and Go: Decision-Making Mechanisms in Somatosensation," *Annual Review of Neuroscience*, vol. 24, pp. 107-137, Mar. 2001.
- [5] R. Romo and E. Salinas, "Flutter Discrimination: neural codes, perception, memory and decision making," *Nature Reviews Neuroscience*, vol. 4, pp. 203-218, Mar. 2003.
- [6] R. Rossi-Pool, E. Salinas, A. Zainos, M. Alvarez, J. Vergara, N. Parga, and R. Romo, "Emergence of an abstract categorical code enabling the discrimination of temporally structured tactile stimuli," *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 113, pp. E7966-E7975, Dec. 2016.
- [7] R. Romo and R. Rossi-Pool, "Turning Touch into Perception," *Neuron*, vol. 105, pp. 16-33, Jan. 2020.
- [8] R. Romo, A. Hernández, A. Zainos, and E. Salinas, "Somatosensory discrimination based on cortical microstimulation," *Nature*, vol. 392, pp. 387-390, Mar. 1998.
- [9] R. Romo, A. Hernández, A. Zainos, C. D. Brody, and L. Lemus, "Sensing without Touching," *Neuron*, vol. 26, pp. 273-278, Apr. 2000.
- [10] L. Lemus, A. Hernandez, and R. Romo, "Neural codes for perceptual discrimination of acoustic flutter in the primate auditory cortex," *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 106, pp. 9471-9476, June 2009.
- [11] R. Romo, C. D. Brody, A. Hernández, and L. Lemus, "Neuronal correlates of parametric working memory in the prefrontal cortex," *Nature*, vol. 399, pp. 470-473, June 1999.
- [12] R. Romo, A. Hernández, A. Zainos, L. Lemus, and C. D. Brody, "Neuronal correlates of decision-making in secondary somatosensory cortex," *Nature Neuroscience*, vol. 5, pp. 1217-1225, Nov. 2002.
- [13] A. Hernández, V. Nácher, R. Luna, A. Zainos, L. Lemus, M. Alvarez, Y. Vázquez, L. Camarillo, and R. Romo, "Decoding a Perceptual Decision Process across Cortex," *Neuron*, vol. 66, pp. 300-314, Apr. 2010.

- [14] A. Hernández, A. Zainos, and R. Romo, "Temporal Evolution of a Decision-Making Process in Medial Premotor Cortex," *Neuron*, vol. 33, pp. 959–972, Mar. 2002.
- [15] R. Romo, A. Hernández, and A. Zainos, "Neuronal Correlates of a Perceptual Decision in Ventral Premotor Cortex," *Neuron*, vol. 41, pp. 165–173, Jan. 2004.
- [16] L. Lemus, A. Hernandez, and R. Romo, "Neural encoding of auditory discrimination in ventral premotor cortex," *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 106, pp. 14640–14645, Aug. 2009.
- [17] Y.-D. Zhou and J. M. Fuster, "Visuo-tactile cross-modal associations in cortical somatosensory cells," *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 97, pp. 9777–9782, Aug. 2000.
- [18] Y.-D. Zhou and J. M. Fuster, "Somatosensory cell response to an auditory cue in a haptic memory task," *Behavioural Brain Research*, vol. 153, pp. 573–578, Aug. 2004.
- [19] A. Ghazanfar and C. Schroeder, "Is neocortex essentially multisensory?," *Trends in Cognitive Sciences*, vol. 10, pp. 278–285, June 2006.
- [20] J. Driver and T. Noesselt, "Multisensory Interplay Reveals Crossmodal Influences on 'Sensory-Specific' Brain Regions, Neural Responses, and Judgments," *Neuron*, vol. 57, pp. 11–23, Jan. 2008.
- [21] L. Lemus, A. Hernández, R. Luna, A. Zainos, and R. Romo, "Do Sensory Cortices Process More than One Sensory Modality during Perceptual Judgments?," *Neuron*, vol. 67, pp. 335–348, July 2010.
- [22] J. Vergara, N. Rivera, R. Rossi-Pool, and R. Romo, "A Neural Parametric Code for Storing Information of More than One Sensory Modality in Working Memory," *Neuron*, vol. 89, pp. 54–62, Jan. 2016.
- [23] S. S. Stevens, J. T. Wixted, E. A. Phelps, and L. Davachi, eds., *Stevens' handbook of experimental psychology and cognitive neuroscience*. New York: John Wiley & Sons, Inc, fourth edition ed., 2018.
- [24] K. Mary M. Heinricher, "Principles of Extracellular Single-Unit Recording," in *Micro-electrode recording in movement disorder surgery* (Z. Israel and K. J. Burchiel, eds.), pp. 8–13, New York Stuttgart: Thieme, 2004.
- [25] H. Barbas and D. N. Pandya, "Architecture and frontal cortical connections of the premotor cortex (area 6) in the rhesus monkey," *The Journal of Comparative Neurology*, vol. 256, pp. 211–228, Feb. 1987.
- [26] D. N. Pandya and L. A. Vignolo, "Intra- and interhemispheric projections of the precentral, premotor and arcuate areas in the rhesus monkey," *Brain Research*, vol. 26, pp. 217–233, Mar. 1971.

- [27] D. Boussaoud, J. Tanné-Gariépy, T. Wannier, and E. M. Rouiller, “Callosal connections of dorsal versus ventral premotor areas in the macaque monkey: a multiple retrograde tracing study,” *BMC neuroscience*, vol. 6, p. 67, Nov. 2005.
- [28] A. Hernandez, V. Nacher, R. Luna, M. Alvarez, A. Zainos, S. Cordero, L. Camarillo, Y. Vazquez, L. Lemus, and R. Romo, “Procedure for recording the simultaneous activity of single neurons distributed across cortical areas during sensory discrimination,” *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 105, pp. 16785–16790, Oct. 2008.
- [29] G. Paxinos, ed., *The rhesus monkey brain: in stereotaxic coordinates*. Amsterdam, Heidelberg: Elsevier, Acad. Press, 2. ed ed., 2009.
- [30] W. Schultz and R. Romo, “Responses of nigrostriatal dopamine neurons to high-intensity somatosensory stimulation in the anesthetized monkey,” *Journal of Neurophysiology*, vol. 57, pp. 201–217, Jan. 1987.
- [31] R. Q. Quiroga, “Spike sorting,” *Current Biology*, vol. 22, pp. R45–R46, Jan. 2012.
- [32] M. S. Lewicki, “A review of methods for spike sorting: the detection and classification of neural action potentials,” *Network: Computation in Neural Systems*, vol. 9, pp. R53–R78, Jan. 1998.
- [33] C. Gold, D. A. Henze, C. Koch, and G. Buzsáki, “On the Origin of the Extracellular Action Potential Waveform: A Modeling Study,” *Journal of Neurophysiology*, vol. 95, pp. 3113–3128, May 2006.
- [34] R. Q. Quiroga, Z. Nadasdy, and Y. Ben-Shaul, “Unsupervised Spike Detection and Sorting with Wavelets and Superparamagnetic Clustering,” *Neural Computation*, vol. 16, pp. 1661–1687, Aug. 2004.
- [35] R. Quiroga, “Spike sorting,” *Scholarpedia*, vol. 2, no. 12, p. 3583, 2007.
- [36] S. Alelyani, J. Tang, and H. Liu, “Feature Selection for Clustering: A Review,” in *Data Clustering* (C. C. Aggarwal and C. K. Reddy, eds.), pp. 29–60, Chapman and Hall/CRC, 1 ed., Sept. 2018.
- [37] C. K. Machens, R. Romo, and C. D. Brody, “Functional, But Not Anatomical, Separation of “What” and “When” in Prefrontal Cortex,” *Journal of Neuroscience*, vol. 30, pp. 350–360, Jan. 2010.
- [38] “PRINCIPAL COMPONENTS ANALYSIS (PCA),” in *Encyclopedia of Environmental Change*, 2455 Teller Road, Thousand Oaks, California 91320: SAGE Publications, Ltd., 2014.
- [39] V. Lavrenko and C. Sutton, ““IAML: Dimensionality Reduction.”,” 2011.
- [40] D. Kobak, W. Brendel, C. Constantinidis, C. E. Feierstein, A. Kepecs, Z. F. Mainen, X.-L. Qi, R. Romo, N. Uchida, and C. K. Machens, “Demixed principal component analysis of neural population data,” *eLife*, vol. 5, p. e10989, Apr. 2016.

- [41] M. T. Kaufman, M. M. Churchland, S. I. Ryu, and K. V. Shenoy, "Cortical activity in the null space: permitting preparation without movement," *Nature Neuroscience*, vol. 17, pp. 440–448, Mar. 2014.
- [42] K. W. Latimer, J. L. Yates, M. L. R. Meister, A. C. Huk, and J. W. Pillow, "Single-trial spike trains in parietal cortex reveal discrete steps during decision-making," *Science*, vol. 349, pp. 184–187, July 2015.
- [43] M. Abeles and M. Goldstein, "Multispike train analysis," *Proceedings of the IEEE*, vol. 65, no. 5, pp. 762–773, 1977.
- [44] K. D. Harris, D. A. Henze, J. Csicsvari, H. Hirase, and G. Buzsáki, "Accuracy of Tetrode Spike Separation as Determined by Simultaneous Intracellular and Extracellular Measurements," *Journal of Neurophysiology*, vol. 84, pp. 401–414, July 2000.
- [45] H. G. Rey, C. Pedreira, and R. Quiñan Quiroga, "Past, present and future of spike sorting techniques," *Brain Research Bulletin*, vol. 119, pp. 106–117, Oct. 2015.
- [46] J. C. Letelier and P. P. Weber, "Spike sorting based on discrete wavelet transform coefficients," *Journal of Neuroscience Methods*, vol. 101, pp. 93–106, Sept. 2000.
- [47] E. Hulata, R. Segev, and E. Ben-Jacob, "A method for spike sorting and detection based on wavelet packets and Shannon's mutual information," *Journal of Neuroscience Methods*, vol. 117, pp. 1–12, May 2002.
- [48] G. Strang, "Wavelets and Dilation Equations: A Brief Introduction," *SIAM Review*, vol. 31, pp. 614–627, Dec. 1989.
- [49] E. M. Schmidt, "Computer separation of multi-unit neuroelectric data: a review," *Journal of Neuroscience Methods*, vol. 12, pp. 95–111, Dec. 1984.
- [50] C. R. Caro-Martín, J. M. Delgado-García, A. Gruart, and R. Sánchez-Campusano, "Spike sorting based on shape, phase, and distribution features, and K-TOPS clustering with validity and error indices," *Scientific Reports*, vol. 8, p. 17796, Dec. 2018.
- [51] C. D. Brody, "Timing and Neural Encoding of Somatosensory Parametric Working Memory in Macaque Prefrontal Cortex," *Cerebral Cortex*, vol. 13, pp. 1196–1207, Nov. 2003.
- [52] R. Rossi-Pool, J. Zizumbo, M. Alvarez, J. Vergara, A. Zainos, and R. Romo, "Temporal signals underlying a cognitive process in the dorsal premotor cortex," *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 116, pp. 7523–7532, Apr. 2019.
- [53] L. McInnes, J. Healy, and J. Melville, "Umap: Uniform manifold approximation and projection for dimension reduction," 2020.
- [54] E. K. Lee, H. Balasubramanian, A. Tsolias, S. Anakwe, M. Medalla, K. V. Shenoy, and C. Chandrasekaran, "Non-linear Dimensionality Reduction on Extracellular Waveforms Reveals Cell Type Diversity in Premotor Cortex," preprint, *Neuroscience*, Feb. 2021.

- [55] M. Treviño and R. Gutiérrez, “Las bases celulares de las oscilaciones neuronales,” *Salud mental*, vol. 30, pp. 11 - 18, 04 2007.
- [56] S. Haegens, V. Nacher, R. Luna, R. Romo, and O. Jensen, “-Oscillations in the monkey sensorimotor network influence discrimination performance by rhythmical inhibition of neuronal spiking,” *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 108, pp. 19377–19382, Nov. 2011.
- [57] S. Haegens, J. Vergara, R. Rossi-Pool, L. Lemus, and R. Romo, “Beta oscillations reflect supramodal information during perceptual judgment,” *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 114, pp. 13810–13815, Dec. 2017.