

# UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES Facultad de Ciencias Exactas y Naturales Departamento de Física

# Codificación y decodificación de estímulos en neuronas maduras e inmaduras del giro dentado del hipocampo

Tesis presentada para optar al título de Doctor de la Universidad de Buenos Aires en el área Ciencias Físicas

## Lic. Diego Martín Arribas

Director de tesis: Dr. Luis G. Morelli

Co-Director de tesis: Dra. Antonia Marin Burgin

Consejero de estudios: Dr. Claudio Iemmi

Lugar de trabajo: Instituto de Investigación en Biomedicina de Buenos Aires (IBioBA) - CONICET - Instituto Partner de la Sociedad Max Planck

Fecha de defensa: 22/12/2021

#### INFORME FINAL APROBADO POR:

Autor	Jurado
Director	Jurado
Directory	Iumada
Directora	Jurado

# Agradecimientos

A Luis y Anto Por ser excelentes directores y personas Por su permanente apoyo profesional y personal

> A mi familia, mis amigos y mi pareja Por acompañarme en la vida

A mi mamá y a mi papá Por siempre hacerme sentir que podía ser lo que yo quiera

## Resumen

El hipocampo es una estructura del cerebro mamífero que juega un rol clave en la formación de memorias nuevas y mapas cognitivos. Recibe aferencias provenientes de la corteza entorrinal que llegan al giro dentado, la región de entrada al hipocampo, y contactan con las neuronas principales, las células granulares (GCs, del inglés *Granule Cells*). El giro dentado es una de las dos áreas del cerebro en donde ocurre la neurogénesis adulta. Las GCs que nacen en el adulto atraviesan un proceso de maduración de alrededor de 8 semanas en donde gradualmente cambian sus propiedades eléctricas intrínsecas y de conectividad. De este modo, el agregado continuo de neuronas en el giro dentado incrementa y estructura la variabilidad en la población.

Una de las funciones asociadas al giro dentado del hipocampo, en la cual las GCs inmaduras tienen un rol, es la de separación de patrones, un procesamiento que involucra incrementar las diferencias entre patrones de actividad aferente similares. Nuestra hipótesis es que la heterogeneidad en las propiedades intrínsecas de las GCs de distintas edades que introduce la neurogénesis, resulta beneficiosa para la codificación y discriminación de estímulos realizada por la población, contribuyendo de esta manera a la función del giro dentado.

Para explorar esta hipótesis, en esta tesis nos planteamos los siguiente objetivos:

- Estudiar la influencia de las propiedades intrínsecas de las GCs de distintas edades madurativas en la codificación de estímulos.
- Caracterizar la transformación estímulo-respuesta que realizan las GCs de distintas edades mediante modelos estadísticos.
- Decodificar estímulos empleando estos modelos estadísticos para revelar el impacto de la edad de las GCs en la representación de los mismos.
- Determinar cómo la heterogeneidad en una población de GCs contribuye a una tarea de discriminacion de estímulos.

Para esto, empleamos un abordaje multidisciplinario combinando experimentos de electrofisiología en rodajas de hipocampo, herramientas de análisis de series temporales, conceptos de teoría de la información y modelos estadísticos.

Con el fin de estudiar diferencias en la codificación de estímulos, realizamos experimentos de patch-clamp en GCs de distintas edades marcadas fluorescentemente en ratones transgénicos. Inyectamos corrientes de estimulación fluctuantes, al mismo tiempo que registramos la respuesta de voltaje y potenciales de acción. Este tipo de estímulos fluctuantes que producen respuestas fiables y con una estructura temporal rica, permitieron un análisis profundo de la estructura de las respuestas y la influencia de las propiedades intrínsecas. Hallamos que las GCs inmaduras producen respuestas más variables que las maduras, exhibiendo tiempos de disparo imprecisos y menos alineados con los estímulos.

Luego, ajustamos modelos estadísticos que capturan el potencial de membrana subumbral y las respuestas de disparos de las GCs, obteniendo parámetros que reflejan las diferencias madurativas y sugieren que las GCs inmaduras realizan una codificación de estímulos diferente. Nuestro análisis indica que las GCs inmaduras tienen constantes temporales más largas, que contribuyen a hacer su respuesta más variable, y efectos refractarios de menor magnitud.

A continuación, utilizamos los modelos de las GCs obtenidos para realizar la decodificación de estímulos y evaluar la influencia de la edad en su codificación. Reconstruyendo estímulos a partir de un conjunto dado de respuestas de GCs, evaluamos la calidad de las representaciones estimando el error en la reconstrucción y la información mútua. Realizando la decodificación con GCs individuales, encontramos que tanto la reconstrucción del estímulo como la información mútua mejoran con la edad madurativa de la GC.

Estudiamos también la codificación realizada por poblaciones de GCs y la influencia de la heterogeneidad en las edades de la población. Inesperadamente, a pesar de la calidad inferior de las representaciones de las GCs inmaduras estudiadas individualmente, encontramos que la presencia de GCs inmaduras en una población mejora la fidelidad de la señal codificada.

Por último, dado el rol del giro dentado en la separación de patrones, nos preguntamos si esta mejora en la representación podría contribuir a la discriminacion de estímulos similares. Entonces, diseñamos una tarea que consistió en discriminar entre estímulos correlacionados fluctuantes en el tiempo y encontramos que la heterogeneidad de edades madurativas en las poblaciones ayudan a esta discriminación.

Los resultados obtenidos en esta tesis aportan al entendimiento de posibles mecanismos por los cuales las GCs del giro dentado contribuyen al procesamiento de información. Encontramos que las GCs inmaduras introducen un grado de heterogeneidad en la población que puede ser aprovechado para realizar una mejor representación de los estímulos aferentes y, a la vez, discriminarlos mejor. En un contexto más general, los resultados de esta tesis muestran que la heterogeneidad en las propiedades intrínsecas de las neuronas de una población puede cumplir un rol importante en la plasticidad de la representación de estímulos asociados a la función cerebral.

Palabras clave: hipocampo, neuronas, neurogénesis, electrofisiología, modelos estadísticos.

## Abstract

## Coding and decoding stimuli with mature and immature neurons of the hippocampal dentate gyrus

The hippocampus is a structure of the mammalian brain that plays a key role in the formation of new memories and cognitive maps. It receives afferents from the entorhinal cortex that reach the dentate gyrus, the entrance region to the hippocampus, and contact the principal neurons, the granule cells (GCs). The dentate gyrus is one of the two areas of the brain where adult neurogenesis occurs. The GCs that are born in the adult undergo a maturation process of about 8 weeks where they gradually change their electrical intrinsic and connectivity properties. Thus, the continuous aggregation of neurons in the dentate gyrus increases and structures the variability in the population.

One of the functions associated with the hippocampal dentate gyrus, in which immature GCs play a role, is pattern separation, a processing that involves increasing the differences between similar patterns of afferent activity. We hypothesize that the heterogeneity in the intrinsic properties of GCs of different ages introduced by neurogenesis is beneficial to the coding and discrimination of stimuli performed by the population, thus contributing to dentate gyrus function.

To explore this hypothesis, in this thesis we set the following objectives:

- Study the influence of the intrinsic properties of GCs of different maturational ages on stimulus encoding.
- Characterize the stimulus-response transformation performed by GCs of different ages by using statistical models.
- Decode stimuli using these statistical models to reveal the impact of GC age on stimulus representation.
- Determine how heterogeneity in a population of GCs contributes to a stimulus discrimination task.

To do these, we employed a multidisciplinary approach combining electrophysiology experiments on hippocampal slices, time series analysis tools, information theory concepts and statistical models. In order to study differences in stimulus encoding, we performed patch-clamp experiments on fluorescently labeled GCs of different ages in transgenic mice. We injected fluctuating stimulation currents, while recording the voltage response and action potentials. Such fluctuating stimuli that produce reliable responses with a rich temporal structure allowed an in-depth analysis of the structure of the responses and the influence of intrinsic properties. We found that immature GCs produce more variable responses than mature GCs, exhibiting imprecise and less stimulus-aligned firing times.

We then fitted statistical models that captured the subthreshold membrane potential and spiking responses of the GCs, obtaining parameters that reflect maturational differences and suggest that immature GCs perform different stimulus encoding. Our analysis indicates that immature GCs have weaker refractory effects and longer time constants, which contribute to making their responses more variable.

We then used the obtained GC models to perform stimulus decoding and evaluate the influence of age on their representation. Reconstructing stimuli from a given set of GC responses, we evaluated the quality of the representations by estimating the reconstruction error and the mutual information. Performing decoding with individual GCs, we found that both stimulus reconstruction and mutual information improve with GC age.

We also studied the encoding performed by populations of GCs and the influence of age heterogeneity in the population. Unexpectedly, despite the inferior quality of the representations of immature GCs when studied individually, we found that the presence of immature GCs in a population improves the fidelity of the encoded signal.

Finally, given the role of the dentate gyrus in pattern separation, we wondered whether this improved representation might contribute to the discrimination of similar stimuli. We then designed a task that consisted in discriminating between time-fluctuating correlated stimuli and found that age heterogeneity in the populations aids this discrimination.

The results obtained in this thesis contribute to the understanding of possible mechanisms by which the GCs of the dentate gyrus help information processing. We find that immature GCs introduce a degree of heterogeneity in the population that can be leveraged to perform a better representation of afferent stimuli and, at the same time, discriminate them better. In a more general context, the results of this thesis show that heterogeneity in the intrinsic properties of neurons in a population can play an important role in the plasticity of stimulus representation associated with brain function.

Keywords: hippocampus, neurons, neurogenesis, electrophysiology, statistical models.

## Nota del autor

Esta tesis fue el resultado de un esfuerzo interdisciplinario, que combina experimentos de electrofisiología y modelos computacionales para investigar los interrogantes de la tesis. Los experimentos fueron realizados por el autor y los procedimientos computacionales fueron adaptados e implementados también. La tesis fue pensada para lectoras y lectores de diversa formación y experiencia. Algunas secciones brindan detalles técnicos sobre el ajuste de modelos y los procedimientos computacionales, de manera que la tesis es autocontenida y estos procedimientos pueden ser examinados y reutilizados. Sin embargo, creemos que en la interdisciplina, la falta de conocimientos específicos y técnicos de cualquier tipo no debe ser un obstáculo para el intercambio de ideas. Entonces, buscamos que la comprensión de estos detalles técnicos no sea esencial para la comprensión de la tesis ni de las preguntas biológicas. Marcamos las secciones que brindan detalles técnicas con el símbolo †. Estas secciones pueden ser leídas con más o menos detalle dependiendo del interés y conocimiento previo de la lectora o lector y su lectura no es fundamental para seguir el flujo de ideas. Antes de cada sección marcada con †, explicamos los conceptos que se introducen y cuál es el objetivo de la sección. Esperamos que esto facilite la lectura de la tesis para un público más amplio.

# Índice

In	trod	ucción	1
	0.1.	El giro dentado del hipocampo	2
	0.2.	Neurogénesis adulta en el giro dentado	3
	0.3.	Registros de <i>patch clamp</i> y modelos de neurona	4
	0.4.	Codificación y decodificación de estímulos en GCs maduras e inmaduras del	
		giro dentado del hipocampo	6
1.	$\operatorname{Res}$	puestas de las células granulares ante una estimulación fluctuante	9
	1.1.	Métodos experimentales	9
	1.2.	Propiedades electrofisiológicas de las GCs inmaduras nacidas en el individuo	
		adulto	11
	1.3.	Estimulación de las GCs con muestras de un proceso estocástico	14
		1.3.1. Normalización del estímulo entre diferentes GCs	15
		1.3.2. Determinación de los tiempos de disparo	16
	1.4.	Dependencia temporal entre el estímulo y las respuestas neuronales	18
		1.4.1. Cálculo del Peri-Stimulus Time Histogram †	19
		1.4.2. Correlación cruzada entre el estímulo y las respuestas neuronales	21
	1.5.	Similaridad y coincidencias entre los trenes de disparo de las GCs	22
		1.5.1. Métricas de similaridad entre trenes de disparos. Indice de coinci-	
		dencias y fiabilidad	22
		1.5.1.1. Producto interno entre trenes de disparos $\dagger$	23
		1.5.1.2. Indice de coincidencias y fiabilidad $\dagger$	24
		1.5.2. Indice de coincidencias y fiabilidad para las GCs de diferentes grupos	
		etarios	25
	1.6.	Conclusiones	27
2.	Cod	lificación del estímulo usando el Spike Response Model	29
	2.1.	Spike Response Model	29
	2.2.	Ajuste del Spike Response Model	33
		2.2.1. Métodos generales y notación †	33
		2.2.2. Expansión de los filtros en una base de funciones †	34
		2.2.3. Ajuste de los parámetros subumbral †	35
		2.2.4. Ajuste de los parámetros umbral †	37
		2.2.5. Regularización de los filtros †	41

		2.2.6. Optimización conjunta del potencial de membrana y los trenes de	10
		disparos $\dagger$	42
		2.2.7. Validación de los ajustes y métricas	43
		2.2.7.1. Métricas e impacto de la regularización y la optimización	
		conjunta de los datos †	44
	2.3.	Resultados de los ajustes	46
		2.3.1. Evaluación de la calidad de los ajustes	47
		2.3.2. Análisis de los parámetros poblacionales	50
	2.4.	Conclusiones	54
3.	Dec	odificación de estímulos con GCs maduras e inmaduras	57
	3.1.	Decodificación Bayesiana con modelos	57
		3.1.1. Estimación de la reconstrucción del estímulo y su incerteza	59
		3.1.1.1. Computación del <i>log-prior</i> y sus derivadas †	60
		3.1.1.2. Computación del término de la <i>log-likelihood</i> y sus deriva-	
		das t	61
		3.1.1.3. Computación del <i>log-posterior</i> , optimización y estimación	-
		de la incerteza t	62
		3.1.2 Métricas de decodificación Coeficiente de determinación $r^2$ e infor-	02
		mación mutua	63
		3.1.3 Calculando la información mutua †	64
	39	Decodificando con GCs individuales	65
	0.2.	3.2.1 Decodificación con GCs individuales utilizando los estímulos y trenes	00
		de disparos medidos experimentalmente	66
		3.2.2 Decodificación generando nuevos estímulos y empleando simulacio-	00
		nos do CCs individuales	60
	<b>?</b> ?		09 76
	J.J.	Conclusiones	70
4.	Dec	odificación de estímulos con poblaciones de células granulares	<b>79</b>
	4.1.	Decodificación utilizando pares de GCs	79
	4.2.	Decodificación utilizando poblaciones de GCs construidas siguiendo un pro-	
		cedimiento greedy	83
	4.3.	Conclusiones	89
5.	Sep	Separación de patrones de estimulación	
	5 1	Discriminación de estímulos temporales correlacionados	91
	0.1.		01
Co	onclu	isiones	95
А.	Mét	todos Experimentales	99
в.	Pro	piedades matrices banda y descomposición de Cholesky	101

# Introducción

La variabilidad neurona a neurona es ubicua en el cerebro. In vivo, las neuronas individuales exhiben diversas respuestas ante estímulos externos y variables contextuales. Así, en las cortezas visual y auditiva las neuronas muestran preferencias heterogéneas ante estímulos de diferente orientación y frecuencia respectivamente [1, 2, 3]. También en el hipocampo, distintas neuronas llamadas *place cells* disparan en ubicaciones diferentes, sugiriendo una rol en la representación del espacio en el que el animal se encuentra [4]. Esta variabilidad que se observa en las respuestas experimentales sería beneficiosa, ya que la población de neuronas cubriría el espacio de estímulos y contextos posibles, permitiendo su representación.

Además, en cada región del cerebro existen muchos tipos de neuronas que pueden definirse a partir de propiedades intrínsecas como expresión su génica, su morfología y/o sus propiedades electrofisiológicas [5, 6]. Incluso dentro de un mismo tipo neuronal, existe una variabilidad o heterogeneidad importante en las propiedades biofísicas que estas exhiben. Esta heterogeneidad contribuye a diversificar las respuestas y ha sido estudiada teórica y experimentalmente en diferentes regiones del cerebro y organismos [7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15]. La biofísica de las neuronas determina cómo estas transforman sus *inputs* sinápticos en variaciones del potencial de membrana y potenciales de acción o disparos. Estudiar esta transformación nos ayuda a entender qué tipo de computación las neuronas están adaptadas para realizar y potencialmente qué computación realiza la población [16, 17].

En esta tesis, estudiamos las propiedades intrínsecas electrofisiológicas de la población de células granulares (GCs, del inglés *Granule Cells*) del giro dentado del hipocampo. El giro dentado tiene una heterogeneidad singular, ya que es una de las dos regiones del cerebro en las que existe neurogénesis adulta, y GCs nuevas nacen y se desarrollan más allá del desarrollo [18]. De esta manera, la neurogénesis incrementa y estructura la diversidad en la población de GCs del giro dentado. Aquí, estudiamos la codificación de estímulos fluctuantes, con una estructura temporal rica, que realizan las GCs de diferentes edades al transformar estos estímulos en respuestas. Mediante el uso de modelos, caracterizamos cuantitativamente esta transformación y obtenemos representaciones de las GCs que tienen poder predictivo. Luego, estudiamos la codificación del estímulo que realizan las GCs de diferentes edades de manera aislada y en una población. Esto nos permite explorar cómo impacta la heterogeneidad introducida por la neurogénesis en la codificación de un estímulo aferente. En este capítulo, primero introducimos nuestro sistema de estudio, la literatura previa y las ideas relevantes a esta tesis. Por último, formulamos nuestra hipótesis y nuestros objetivos.

### 0.1. El giro dentado del hipocampo

El giro dentado es una estructura del hipocampo, una región del cerebro mamífero. El hipocampo juega un rol clave en la formación de memorias nuevas y mapas cognitivos. Estudios en humanos han mostrado que pacientes con daño hipocampal son incapaces de generar nuevas memorias episódicas pero retienen las memorias generadas previamente al daño [19]. Por otro lado, estudios en roedores han observado que la actividad de neuronas en el hipocampo está modulada por diferentes variables cognitivas. El correlato más estudiado es la ubicación, que da lugar a las *place cells*, neuronas que se activan cuando el animal ocupa una o más regiones particulares del espacio [20]. Otros trabajos, han mostrado que las neuronas del hipocampo también pueden modular su actividad con variables sensoriales y comportamentales como olores [21], sonidos [22] o el paso del tiempo [23]. Estas observaciones sugieren que el hipocampo puede representar relaciones entre diferentes variables cognitivas, estructurando el conocimiento aprendido.

La mayor parte de las aferencias corticales del hipocampo provienen de la corteza entorrinal, forman la denominada vía perforante, y conectan principalmente con células granulares en el giro dentado [24]. Dentro del hipocampo, las células granulares del giro dentado proyectan a CA3, que a su vez proyecta a CA1 que luego envía axones nuevamente a la corteza entorrinal (Fig. 1). Se considera que un rol importante del giro dentado es



**Figura 1:** Esquema de una rodaja de hipocampo mostrando el principal flujo de información.

incrementar las diferencias entre patrones de actividad aferente, haciéndolos más distinguibles [25, 26, 27]. Esta computación se conoce como *pattern separation* o separación de patrones. *In vivo*, animales con lesiones en el giro dentado o con la transmisión sináptica debilitada muestran dificultades para discriminar contextos espaciales [28, 29]. En cambio CA3, presumiblemente gracias a su mayor conectividad recurrente, tiene la capacidad de recuperar patrones de activación guardados en la red a partir de variantes degradadas o incompletas de actividad, realizando *pattern completion* o completación de patrones [30]. Las neuronas principales del giro dentado, que envían sus axones a CA3, son las células granulares (GCs del inglés *Granule Cells*). Esta población de neuronas está sujeta a una forma de plasticidad particular, que tiene lugar únicamente en el giro dentado y en otra región del cerebro, la neurogénesis adulta.

### 0.2. Neurogénesis adulta en el giro dentado

La neurogénesis adulta es una forma de plasticidad en la que nuevas células granulares (GCs) nacen y se desarrollan en el individuo adulto [18]. Las GCs nuevas maduran de manera estereotipada durante alrededor de 8 semanas. Alcanzada esta edad son electrofisiológicamente indistinguibles de otras GCs maduras nacidas durante el desarrollo [31, 32]. Aunque muchas GCs inmaduras mueren durante la maduración, una fracción importante se integra de manera permanente al hipocampo [33].

Las GCs inmaduras establecen sinapsis funcionales que pueden activar neuronas postsinápticas en CA3 alrededor de 4 semanas después de su nacimiento [34, 35, 36]. A esta edad, también reciben *inputs* presinápticos desde el mismo hipocampo [37] y desde la corteza entorrinal [18, 32, 37, 38, 39]. En consecuencia, a las 4 semanas de edad las GCs inmaduras están integradas al circuito hipocampal y pueden jugar un rol en la codificación de información. A la vez, las propiedades electrofisiológicas de las GCs inmaduras evolucionan continuamente y son distintas a las de las maduras. Experimentos en rodajas han mostrado que las GCs de 4 semanas exhiben un aumento en el balance excitación/inhibición [36, 39, 40], tienen una membrana más excitable, una constante temporal más lenta y un menor umbral de disparo [32].

In vivo, las GCs inmaduras también se activan de manera diferente a las maduras. En tareas de exploración y memoria espacial, se ha observado que se activan de manera preferencial, en posiciones más inespecíficas, y disparan a mayor frecuencia [41, 42]. Además, las GCs inmaduras juegan un rol en la separación de patrones que realiza el giro dentado [25]. Experimentos comportamentales han mostrado que suprimir o inhibir las GCs inmaduras perjudica la discriminación de contextos [41, 43, 44], mientras que aumentar la neurogénesis o inhibir las GCs maduras la mejora [45, 46]. Si bien varios estudios han observado que la neurogénesis es beneficiosa para la separación de patrones, el mecanismo mediante el cuál esto ocurre se desconoce. Registrar la actividad *in vivo* de las GCs inmaduras es difícil experimentalmente, por lo que su contribución a la codificación de información no ha sido muy explorada. En este trabajo, exploramos la influencia de las propiedades biofísicas de las GCs de diferentes edades en la discriminación de estímulos. Para caracterizar estas propiedades biofísicas, hacemos uso de la técnica de *patch clamp* y de modelos computacionales de neurona.

# 0.3. Registros de *patch clamp* y modelos de neurona

La técnica de *patch clamp* es el estándar para caracterizar electrofisiológicamente una neurona aislada [47, 48]. Usando esta técnica es posible inyectar corriente en una neurona mientras se registran las variaciones en su potencial de membrana, o controlar el potencial mientras se registra la corriente. En su descripción pasiva, ignorando los potenciales de acción, las neuronas se representan como un circuito RC, esto es una resistencia y un capacitor en paralelo. Bajo estas consideraciones, es posible caracterizar una neurona por sus propiedades pasivas: su potencial de reposo; su resistencia de membrana, que determina la magnitud de la variación en el potencial; y su constante temporal, que determina el tiempo que le lleva alcanzar el nuevo potencial (Fig. 2a) [16, 49]. Otra caracterización, consiste en inyectar corrientes breves de distinta amplitud y medir el umbral del potencial de acción, su ancho y altura (Fig. 2b). Otra posibilidad es inyectar escalones de corriente de distinta amplitud y computar la frecuencia de disparo de la neurona (Fig. 2c) [50].

Las neuronas regulan su potencial de membrana a través de sus canales iónicos, que se abren y cierran controlando el flujo de iones a través de la membrana. Hay cientos de canales diferentes y una neurona individual puede llegar a expresar del orden de 10 [51]. A su vez, los canales dejan pasar diferentes iones y su apertura y cierre se produce a diferentes potenciales de membrana y escalas temporales. En consecuencia, ante corrientes fluctuantes o ruidosas, la interacción entre el potencial de membrana y la dinámica de los canales da lugar a respuestas complejas y difíciles de caracterizar en términos de unos pocos observables (Fig. 2d). No obstante, capturar esta complejidad es posible mediante el uso de modelos computacionales de neurona.

Los primeros en modelar las interacciones entre los diferentes canales y el potencial de membrana resultante fueron Hodgkin y Huxley en su trabajo sobre el potencial de acción en el axón gigante de calamar [52]. El modelo de Hodgkin-Huxley es un modelo mecanístico, que describe en detalle cada canal y corriente involucrada, sus dinámicas de activación e inactivación y cómo interactúan para dar lugar a variaciones en el potencial de membrana (Fig. 3a). Este modelo describe un sistema dinámico, y ha sido simplificado en otros modelos mecanísticos que son capaces de producir los mismos comportamientos cualitativos pero tienen menor dimensionalidad y cantidad de parámetros. Ejemplos de esto son los modelos de FitzHugh-Nagumo [53], Morris-Lecar [54] e Izhikevich [16]. Si bien todos estos modelos son capaces de generar un repertorio de dinámicas, es complicado determinar sus parámetros a partir de registros como los de la Fig. 2. Por un lado, no está definido qué aspecto de los registros querríamos que nuestro modelo capture, la frecuencia de disparo promedio, un comportamiento oscilatorio, todo el potencial de membrana o los tiempos a los que ocurre cada potencial de acción. Además es común que existan compensaciones entre los parámetros de estos modelos, y conjuntos de parámetros diferentes den lugar a observaciones muy parecidas [55]. Por otro lado, no hay métodos computacionales estándares y robustos que nos permitan inferir los parámetros de estos modelos a partir de registros como los de la Fig. 2. Para construir su modelo y determinar los parámetros,



Figura 2: Registros de patch clamp en *current clamp*, inyectando diferentes corrientes y midiendo las variaciones en el potencial de membrana. (a) Medición de propiedades pasivas inyectando una corriente negativa de amplitud pequeña  $I_s$ . La resistencia de membrana R determina la magnitud de la variación y la constante temporal  $\tau$  el tiempo que tarda en estabilizarse el nuevo valor de potencial. (b) Medición del umbral de disparo y otras propiedades del potencial de acción inyectando corrientes breves de diferente amplitud. (c) Medición de la frecuencia de disparo en función de la magnitud del escalón de corriente inyectado. (d) Registro inyectando una corriente fluctuante.

Hodgkin y Huxley tuvieron que medir o inferir cada uno de los mecanismos involucrados. Sin acceso a múltiples mediciones de las diferentes corrientes subyacentes, es difícil obtener los parámetros de un modelo mecanístico para que este tenga poder predictivo cuantitativo y no solo capture cualitativamente la dinámica.



Figura 3: Dos familias de modelos diferentes. (a) Modelo mecanístico (Hodgkin-Huxley). La neurona es representada como un conjunto de conductancias en paralelo que representan los canales de diferentes tipos. Las conductancias son variables y cambian con la diferencia de potencial como función de múltiples parámetros. (b) Modelo estadístico (*Generalized Linear Model*). El estímulo y la historia de disparos definen una probabilidad de disparo a cada instante de tiempo a partir de parámetros que se denominan filtros.

En las últimas dos décadas en el campo de la neurociencia ha ganado popularidad otro tipo de paradigma, que usa modelos estadísticos de carácter fenomenológico, usualmente conocidos como *Generalized Linear Models* (GLMs) (Fig. 3b) [15, 56, 57, 58, 59, 49]. Aunque no describen los detalles mecanísticos de las corrientes y canales, por construcción, los parámetros de estos modelos pueden inferirse utilizando métodos estadísticos estándar y tienen gran capacidad predictiva. Describen la actividad neuronal en términos de la actividad pasada y variables predictivas externas, como estímulos sensoriales, corrientes de estimulación o *inputs* de otras neuronas. En esta tesis, hacemos uso este paradigma para modelar nuestro sistema de estudio: las células granulares de diferentes edades del giro dentado.

## 0.4. Codificación y decodificación de estímulos en GCs maduras e inmaduras del giro dentado del hipocampo

En esta tesis, exploramos la idea de que la heterogeneidad en las propiedades intrínsecas que introduce la neurogénesis puede ser beneficiosa para la codificación de estímulos aferentes al giro dentado. Trabajos experimentales y teóricos previos han mostrado que la heterogeneidad en las propiedades de una población de neuronas ayuda a la codificación de estímulos [7, 8, 9, 10, 11, 12]. En el giro dentado tenemos dos fuentes de variabilidad en las propiedades de la población de GCs. Por un lado, GCs de la misma edad exhiben diversidad en sus propiedades intrínsecas, de igual manera que células de un mismo tipo muestran variabilidad en cualquier región del cerebro. Por otro lado, la maduración posterior al nacimiento de GCs nuevas es estereotipada, lo que sugiere que GCs de edades diferentes tendrán propiedades más distintas que GCs de la misma edad. Esta última fuente de variabilidad es particular al giro dentado y da lugar a preguntas específicas. Por ejemplo, ¿Qué diferencias hay en la codificación de un estímulo que realizan una GC inmadura y una madura? ¿Son estas diferencias complementarias?

Para explorar estas preguntas, hacemos uso de modelos estadísticos en la familia de los GLMs Estos modelos han sido ampliamente utilizados para describir la actividad de neuronas ex vivo [15, 56] e in vivo [57, 58, 59] y en diferentes regiones como la retina [56] y diferentes áreas corticales [57, 58, 59]. En su formulación más común, los GLMs predicen los disparos o potenciales de acción de las neuronas, sin modelar los detalles mecanísticos y las corrientes involucradas durante estos. Utilizan como predictores la propia historia de disparos de la neurona y variables externas, como estímulos sensoriales, corrientes de estimulación o *inputs* de otras neuronas. Ajustando los parámetros del modelo, se obtiene una descripción reducida de la dinámica de las neuronas, con poder predictivo cuantitativo, y cuyos parámetros se vinculan a las propiedades biofísicas de las neuronas y/o a las propiedades del estímulo que tienden a producir disparos.

Además, nuestro modelo nos permite decodificar el estímulo que da lugar a un conjunto de respuestas neuronales [60]. Esto es, dado un conjunto de respuestas, podemos estimar una reconstrucción del estímulo que produjo estas respuestas y una incerteza al respecto de la reconstrucción. Usamos la decodificación para cuantificar la capacidad de una o múltiples GCs para representar y transmitir un estímulo. Utilizando respuestas neuronales, estimamos una reconstrucción del estímulo que las produjo. Luego, cuantificando la fidelidad de la reconstrucción estudiamos cómo el estímulo se preserva en las respuestas. El procedimiento también nos permite estimar la información mútua entre estímulos y respuestas. Nuestra hipótesis es que la heterogeneidad en las propiedades intrínsecas de las GCs de distintas edades que introduce la neurogénesis, resulta beneficiosa para la codificación y discriminación de estímulos realizada por la población, contribuyendo de esta manera a la función del giro dentado. Para explorar esta hipótesis, en esta tesis nos planteamos los siguiente objetivos:

- 1. Estudiar la influencia de las propiedades intrínsecas de las GCs de distintas edades madurativas en la codificación de estímulos.
- 2. Caracterizar la transformación estímulo-respuesta que realizan las GCs de distintas edades mediante modelos estadísticos.
- 3. Decodificar estímulos empleando estos modelos estadísticos para revelar el impacto de la edad de las GCs en la representación de los mismos.

4. Determinar cómo la heterogeneidad en una población de GCs contribuye a una tarea de discriminacion de estímulos.

En los capítulos 1 y 2 abordamos los objetivos 1 y 2. En el capítulo 1, analizamos sin utilizar modelos las respuestas y los patrones de disparos de las GCs ante un mismo estímulo. En el capítulo 2 introducimos y utilizamos el *Spike Response Model* (un tipo de GLM) para modelar las respuestas observadas, extraemos parámetros para cada GC registrada y estudiamos los parámetros hallados para cada grupo etario. En los capítulos 3 y 4 abordamos el objetivo 3. En el capítulo 3 introducimos el formalismo de la decodificación utilizando el *Spike Response Model* y decodificamos estímulos utilizando respuestas de GCs individuales para evaluar la calidad de la codificación que realizan. En el capítulo 4 construímos poblaciones de GCs con diferente proporción de GCs inmaduras y analizamos el impacto que esta heterogeneidad tiene en la codificación. Finalmente, en el capítulo 5 abordamos el objetivo 4 utilizando las poblaciones del capítulo 4 para estudiar el impacto de la heterogeneidad en la discriminación de estímulos similares.

# Capítulo 1

# Respuestas de las células granulares ante una estimulación fluctuante

En la sección 0.2 vimos que las neuronas inmaduras del giro dentado tienen propiedades electrofisiológicas diferentes a las maduras y dicutimos cómo estas propiedades cambian de manera estereotipada con la maduración. Luego, la variabilidad que introduce la neurogénesis, a diferencia de la variabilidad en las propiedades de neuronas del mismo tipo, no es aleatoria. La neurogénesis introduce diversidad en la red del giro dentado y esta diversidad es estructurada. Una de las preguntas centrales en este trabajo es si esta diversidad puede enriquecer o ayudar a las funciones del giro dentado.

En este capítulo exploramos la posibilidad de que las propiedades electrofisiológicas de las GCs inmaduras les permitan procesar una corriente de estimulación de manera diferente a las maduras. Dado un estímulo con cierta estructura temporal, ¿es diferente la estructura temporal en la respuesta de una GC inmadura y una madura? ¿en qué radican estas diferencias? Empezamos el presente capítulo detallando los métodos experimentales para marcar y registrar GCs inmaduras en rodajas de cerebro de ratón. Midiendo las propiedades pasivas de las GCs, obtenemos resultados consistentes con reportes previos. Luego, introducimos la corriente fluctuante que utilizamos en la mayor parte del trabajo para estimular a las GCs y analizamos la correlación entre el estímulo y las respuestas. Finalmente, estudiamos la estructura temporal en las respuestas de las GCs comparando sus patrones de disparo ante idénticos estímulos fluctuantes.

### 1.1. Métodos experimentales

Para realizar registros electrofisiológicos en GCs inmaduras, precisamos poder identificarlas visualmente en la rodaja. Para ello utilizamos una línea de ratones transgénicos Ascl1-CreERT2-Tom. Ascl1 es un factor de transcripción involucrado en la diferenciación neuronal que está presente en las células granulares recién nacidas en el giro dentado de un ratón adulto. CreERT2 codifica una proteína que contiene la recombinaza Cre y que solo



Figura 1.1: Marcado de GCs inmaduras. (a) Esquema cronológico del protocolo de marcado fluorescente de GCs inmaduras. (b) Rodaja de cerebro de ratón mostrando parte del giro dentado. Las línas punteadas delimitan la capa de células granulares, donde se encuentran los cuerpos o somas de las GCs. Se observan los contornos redondeados de las GCs individuales y en blanco la presencia de dos GCs inmaduras marcadas. Saliendo de una de ellas se observa la pipeta de *patch clamp*.

puede llevar a cabo la recombinación y producir la expresión del reportero fluorescente tdTomato en presencia de tamoxifeno. Luego, la inyección intraperitoneal de tamoxifeno en un ratón de esta línea produce la expresión indeleble del reportero tdTomato en las GCs nuevas, que expresan Ascl1 [61]. Utilizando este mecanismo, podemos marcar células granulares de la edad deseada realizando rodajas de cerebro una vez que transcurrió el tiempo requerido desde la inyección de tamoxifeno (Fig. 1.1a). Por ejemplo, si hacemos la inyección de tamoxifeno el día 0, rodajas realizadas 28 días más tarde tendrán GCs fluorescentes de 28 días de edad, con una ventana de variabilidad (Fig. 1.1b). Para garantizar el marcado robusto de GCs, siempre realizamos dos inyecciones en dos días consecutivos de 120 $\mu$ g de tamoxifeno por cada gramo del ratón inyectado [61]. Los ratones utilizados eran adultos de ambos sexos de entre 6 y 8 semanas de edad al recibir las inyecciones. Conservamos a los ratones en cajas con una rueda ya que se ha reportado que el ejercicio voluntario incrementa la neurogénesis [62]. Luego, pasada una cantidad de días igual a la edad de las GCs deseada realizamos rodajas de los cerebros.

Realizamos experimentos de patch clamp en GCs de 4 y 5 semanas marcadas fluorescentemente (4wGCs y 5wGCs respectivamente). Agrupamos como 4wGCs a GCs que registramos entre 28 y 30 días después de la inyección de tamoxifeno y como 5wGCs a GCs que registramos entre 34 y 36 días después. Como se estima que el porcentaje de GCs inmaduras es menor al 5%, la probabilidad de elegir una GC inmadura eligiendo al azar entre las no marcadas es baja [33]. Más aún, eligiendo GCs sin marcar de la parte externa de la capa de células granulares, reducimos aún más esta probabilidad ya que las GCs inmaduras tienden a encontrarse en la parte interna. Luego, los registros realizados en mGCs, son experimentos realizados en GCs sin marcar de la parte externa de la capa de células granulares a las que consideramos como maduras [32, 61]. En toda la tesis mantenemos el código de color de la Fig. 1.1a, representamos con naranja a las 4wGCs, con rojo a las 5wGCs y con negro a las mGCs. Todos los resultados mostrados son de experimentos de *current clamp*, donde nosotros controlamos y determinamos la corriente de estimulación a inyectar en cada GC y medimos el potencial de membrana resultante con sus potenciales de acción. El voltaje de reposo de las GCs ni bien se realiza el *patch clamp* es variable y además cambia al transcurrir los minutos en el experimento. Para controlar esta variabilidad, antes de cada protocolo de estimulación siempre adaptamos la corriente basal inyectada en las GCs para mantener-las cerca de un potencial de reposo de -70mV. El potencial de membrana resultante fue analizado de diferentes maneras según el experimento como describimos en lo que sigue. El resto de los detalles experimentales se encuentran en el apéndice A.

## 1.2. Propiedades electrofisiológicas de las GCs inmaduras nacidas en el individuo adulto

Comenzamos por analizar las propiedades pasivas de las GCs de los diferentes grupos etarios registrados: 4wGCs, 5wGCs y mGCs. Realizamos este experimento para controlar la consistencia de nuestros experimentos con reportes previos y además, en el capítulo 2 relacionamos las propiedades pasivas con otras cantidades que obtenemos a partir del ajuste de modelos estadísticos. Para este análisis realizamos 22 registros de 4wGCs, 20 de 5wGCs y 21 de mGCs.

Para medir las propiedades pasivas de las GCs, inyectamos una corriente constante para mantener el voltaje de membrana en un rango alrededor de -70mV. Luego inyectamos 5 repeticiones de escalones de corriente negativa. Adaptamos la amplitud del escalón inyectado a cada GC de manera tal que la desviación en el voltaje sea pequeña - menor a 4mV - y luego la relación entre la amplitud de la corriente y la desviación del voltaje sea aproximadamente lineal (Fig. 1.2). En este régimen, el voltaje en función del tiempo v(t)



Figura 1.2: Registro de respuesta de voltaje (arriba) a una corriente hiperpolarizante (abajo). Las barras negras indican las escalas de los ejes.

puede aproximarse bien por una relajación exponencial de la forma

$$v(t) = v_h + I_s R(1 - e^{-t/\tau})$$
(1.1)

donde  $v_h$  es el voltaje de holding,  $I_s$  es el valor (negativo en nuestro caso) del escalón de corriente, R la resistencia de membrana y  $\tau$  la constante temporal de la membrana. Las propiedades pasivas dadas por R y  $\tau$  están vinculadas a la biofísica de las neuronas. Dada la amplitud del escalón de corriente, la resistencia de membrana R determina la magnitud de la desviación en el voltaje mientras que la constante temporal  $\tau$  determina cuánto tiempo se tarda en alcanzar el valor estacionario y está relacionada a la escala temporal de integración de una corriente. Realizamos un ajuste de cuadrados mínimos de la función de la Ec. 1.1 a los registros de voltaje y extrajimos los parámetros R y  $\tau$  para cada uno de los registros. Consistente con los reportes previos [32, 61], observamos que tanto la resistencia de membrana como la constante temporal de las células granulares del giro dentado decrecen con la edad (Fig. 1.3).



**Figura 1.3:** Propiedades pasivas de las GCs del giro dentado para los diferentes grupos etarios. Resistancia de membrana y constante temporal medidas en registros como el de la Fig. 1.2. Correlación de Spearman edad-R,  $\rho = -0.64$ ,  $p = 1.4 \times 10^{-8}$  y edad- $\tau$ ,  $\rho = -0.36$ ,  $p = 4.2 \times 10^{-3}$ .

A continuación, medimos la frecuencia de disparo al inyectar escalones de corriente depolarizantes (Fig. 1.4) [32, 61]. Para escalones de amplitud creciente la frecuencia de disparo de una neurona aumenta y podemos caracterizar estos registros graficando la frecuencia de disparo vs. la amplitud del escalón. Promediando las curvas de las GCs de cada grupo etario podemos ver que, a un mismo valor de corriente, la frecuencia de disparo de las GCs inmaduras es mayor (Fig. 1.5). En parte, esto es esperable ya que vimos que las GCs inmaduras tienen una mayor resistencia de membrana, y por lo tanto estarán sujetas a una mayor desviación de voltaje para un mismo valor de corriente. Sin embargo, al interpretar esta observación debe tenerse en cuenta que las GCs inmaduras tienen un menor número de contactos presinápticos e *in vivo* reciben corrientes de menor



Figura 1.4: (a) Registro de potencial de membrana con disparos o potenciales de acción (arriba) generado por un escalón de corriente constante (abajo). (b) Registros resultantes para escalones de corriente de diferente amplitud. Las barras negras indican las escalas de los ejes.



Figura 1.5: Dependencia de la frecuencia de disparo con la amplitud del escalón de corriente inyectado.

amplitud que las maduras. Luego, estas observaciones permiten estudiar la dependencia de la frecuencia de disparo con la amplitud del *input* pero no permiten concluir que las GCs inmaduras dispararán a mayor frecuencia *in vivo*.

Los escalones de estimulación son útiles para realizar una caracterización electrofisiológica rápida y simple de las neuronas. Sin embargo, las propiedades obtenidas pueden no reflejar el procesamiento que las neuronas realizan *in vivo*. Por un lado, las propiedades pasivas se miden para desviaciones de voltaje pequeñas en ausencia de disparos y no es obvio como impactan cuando las neuronas están fisiológicamente activas procesando un estímulo. Por otro lado, reducir la respuesta de una neurona a una frecuencia de disparo no contempla patrones de adaptación de frecuencia como los observados en la Fig. 1.4. Además, *in vivo* las neuronas reciben inputs excitatorios e inhibitorios fluctuantes que dan lugar a respuestas con una estructura temporal más rica que la observada al inyectar una corriente constante. Una de las preguntas principales de esta tesis es si las propiedades intrínsecas particulares de las GCs inmaduras les permiten realizar un procesamiento de un estímulo diferente al de las maduras. Para abordar esta pregunta, en lo que sigue nos enfocamos en estímulos con mayor estructura temporal que escalones y analizamos propiedades de las respuestas que contemplen esta estructura.

## 1.3. Estimulación de las GCs con muestras de un proceso estocástico

Para caracterizar la estructura temporal de las respuestas de las GCs buscamos un procedimiento que nos permitiera generar estímulos en función del tiempo i(t) que contengan fluctuaciones en alguna escala temporal. Utilizamos estímulos generados a partir de muestras de un proceso de Ornstein-Uhlenbeck definido en tiempo continuo como

$$\frac{d\eta(t)}{dt} = -\eta(t)/\tau + \epsilon(t) \tag{1.2}$$

donde  $\epsilon(t)$  es ruido blanco y  $\tau$  es la constante temporal del proceso. En tiempo discreto, con  $t \ge 0$ , simulamos muestras de este proceso de manera iterativa usando [63]

$$\eta(t + \Delta t) = \eta(t)e^{-\Delta t/\tau} + \sqrt{1 - e^{-2\Delta t/\tau}}\mathcal{N}(0, 1) \quad \text{y} \quad \eta(0) = \mathcal{N}(0, 1) \tag{1.3}$$

donde  $\eta(t)$  es el valor de la muestra a tiempo t,  $\Delta t$  es el intervalo de muestreo temporal,  $\tau$ es la constante temporal del proceso y  $\mathcal{N}(0, 1)$  es un número generado de una distribución normal con media 0 y varianza 1. El valor medio y la varianza en el tiempo de las muestras generadas siguiendo la Ec. 1.3 son 0 y 1 respectivamente. Luego, para generar corrientes i(t) de valor medio  $\mu$  y varianza  $\sigma^2$  arbitrarios, tomamos una muestra  $\eta(t)$  y hacemos  $i(t) = \sigma \eta(t) + \mu$ , como ilustra la Fig. 1.6a. El parámetro  $\tau$  define la escala temporal de las fluctuaciones del proceso y su autocorrelación, que es exponencial y está determinada por  $C(t) = e^{-|t|/\tau}$  (Fig. 1.6b).

La Fig. 1.7 muestra un registro de una mGC utilizando 10 segundos de este tipo de estímulo con  $\tau=3$  ms (panel superior). Vemos que la respuesta de potencial (panel medio)



Figura 1.6: (a) Muestra de un proceso de Ornstein-Uhlenbeck de valor medio  $\mu=15$  pA, desviación estándar (amplitud de las fluctuaciones)  $\sigma=7.5$  pA y constante temporal  $\tau=3$  ms. (b) La autocorrelación del proceso es una exponencial de constante de decaimiento  $\tau$ .

tiene una estructura temporal que no tiene la respuesta a un escalón; con fluctuaciones en el potencial de membrana subumbral e intervalos entre disparos de duración variable y no monótona. Cada fila del panel inferior representa con barras los tiempos de disparo de la GC ante la inyección repetida de exactamente el mismo estímulo del panel superior. Vemos que hay variabilidad en los tiempos de disparo debido a las diferentes fuentes de ruido pero estos exhiben una estructura temporal relativamente consistente, mayor a la que se obtiene con escalones como se mostró previamente [64]. Esta reproducibilidad nos permitirá (i) estudiar la dependencia temporal de la respuesta con el estímulo, (ii) comparar la reproducibilidad de las diferentes GCs y (iii) comparar la estructura en la respuesta entre GCs distintas de la misma o diferente edad.

#### 1.3.1. Normalización del estímulo entre diferentes GCs

En todos los experimentos que siguen, inyectaremos estímulos de Ornstein-Uhlenbeck en las GCs de diferentes edades generados como describimos en la sección 1.3. En particular, nos interesaba comparar cómo dos GCs diferentes responden ante estímulos de idéntica estructura temporal. Para generar dos estímulos con la misma estructura temporal, primero generamos una única muestra  $\eta(t)$  de un proceso de Ornstein-Uhlenbeck con constante temporal  $\tau$ , media 0 y varianza 1. Luego, podemos definir dos estímulos  $i_1(t)$ y  $i_2(t)$  como  $i_1(t) = \sigma_1 \eta(t) + \mu_1$  y  $i_2(t) = \sigma_2 \eta(t) + \mu_2$ . Estos dos estímulos comparten su estructura temporal pero tienen valores medios  $\mu_1$  y  $\mu_2$  y desviaciones estándar  $\sigma_1$  y  $\sigma_2$ diferentes.

Además, estamos interesados en comparar la estructura temporal en la respuestas de las GCs independizándonos de diferencias en sus frecuencias de disparo y vimos que, si las inyectamos una GC inmadura y una madura con dos escalones de igual amplitud, en



**Figura 1.7:** Registro inyectando un estímulo generado con la Ec. 1.3. Corriente inyectada (parte superior), potencial de membrana (parte medio) y tiempos de disparo ante inyecciones repetidas del mismo estímulo (parte inferior).

general la inmadura disparará a mayor frecuencia. Luego, adaptamos el valor medio y la varianza del estímulo a cada GC estimulada con el objetivo de lograr frecuencias de disparo comparables entre los diferentes grupos etarios (Fig. 1.8a). Entonces, medimos las respuestas de las GCs (4wGCs n=22, 5wGCs n=20, mGCs n=21) generando una única muestra de un proceso de Ornstein-Uhlenbeck con una constante temporal rápida  $\tau = 3$ ms y utilizando diferentes valores medios y desviaciones estándar en cada GC registrada (Fig. 1.8b). Siguiendo este procedimiento, inyectamos en cada GC 9 repeticiones del mismo estímulo obteniendo registros como el de la Fig. 1.7. Vemos que usando valores de  $\mu$  y  $\sigma$ mayores en las GCs más maduras, logramos mantener frecuencias de disparo similares en los diferentes grupos etarios (Fig. 1.8c, Test de Kruskal-Wallis p = 0.29).

#### 1.3.2. Determinación de los tiempos de disparo

Cuando inyectamos corrientes de estimulación fluctuantes en las GCs, medimos las desviaciones del potencial de membrana resultantes, que contienen a los potenciales de acción o disparos. Dado que las neuronas presumiblemente transmiten información mediante los disparos, nos interesará estudiar la estructura de los tiempos a los que estos ocurren. Luego, dado un registro de potencial (Fig. 1.7 panel medio) nos interesará definir un procedimiento para extraer los tiempos de los potenciales de acción (panel inferior). Es sencillo establecer un valor umbral por arriba de los fluctuaciones subumbral y hallar los máximos locales por arriba de este valor (Fig. 1.9, panel superior). Sin embargo, en estos tiempos el potencial de acción está comenzando a terminar, ya que la neurona está vol-



Figura 1.8: Adaptando  $\mu$  y  $\sigma$  a las GCs de diferente edad (a) A partir de una muestra prototipo, generamos dos estímulos que comparten su estructura temporal pero tienen diferente valor medio y desviación estándar. (b) Valores de  $\mu$  y  $\sigma$  inyectados en las GCs de diferente edades registradas. (c) Distribuciones de frecuencia de disparo para cada grupo etario.

viendo a su potencial de reposo. En el capítulo 2, nos será de importancia determinar los tiempos de disparo como los tiempos en los que se inicia el potencial de acción, no su pico. Para determinar estos tiempos, definimos un criterio utilizando un umbral en la derivada numérica del registro de potencial de membrana (Fig. 1.9, panel inferior). Al inicio de los potenciales de acción la derivada salta y detectamos este salto utilizando un valor umbral por encima del ruido. Como la derivada es una señal ruidosa, utilizamos también los picos de los potenciales de acción detectados para validar los tiempos de disparo hallados con el criterio de la derivada. En resumen,

- 1. Establecemos un valor umbral de potencial y hallamos los picos de los potenciales de acción como los máximos locales por arriba de este valor umbral.
- 2. Establecemos un valor umbral en la derivada del potencial y hallamos los puntos en los que la derivada cruza este umbral.
- 3. Para hacer más robusto al algoritmo ante el ruido en la derivada, definimos los tiempos de disparo como los tiempos obtenidos en 2) que están seguidos de los tiempos obtenidos en 1).



**Figura 1.9:** Determinación de los tiempos de disparo. (superior) Potencial de membrana medido. Valor umbral (línea punteada), picos de los potenciales de acción (puntos verdes) y valores finales utilizados como tiempos de disparo (puntos naranjas). (inferior) Derivada numérica de la señal del panel superior. Cruces del umbral en la derivada (puntos rojos) que finalmente utilizamos como tiempos de disparo.

# 1.4. Dependencia temporal entre el estímulo y las respuestas neuronales

En esta sección nos interesa estudiar el grado de alineamiento que tienen las respuestas de las diferentes GCs con el estímulo inyectado. Inyectamos, en cada GC, 9 repeticiones del mismo estímulo. Los estímulos de distintas GCs comparten la misma estructura temporal, como describimos en la sección 1.3.1 (4wGCs n=22, 5wGCs n=20, mGCs n=21). Para cuantificar el alineamiento entre el estímulo y la respuesta calculamos la correlación cruzada entre ambos. Como para cada GC realizamos múltiples repeticiones de la misma

estimulación, necesitamos primero calcular una respuesta promedio de las repeticiones. Para ello, calcularemos el Peri-Stimulus Time Histogram o PSTH de las respuestas. El cálculo del PSTH involucra realizar un suavizado temporal de los trenes de disparos y un promedio entre todas las repeticiones. El suavizado temporal le confiere un "ancho" a los disparos, añadiendo una incerteza deseada al tiempo preciso del disparo y suavizando la señal resultante. Realizamos este suavizado utilizando un filtro o *kernel*, que determina la forma del "ancho" de cada disparo. Luego de realizar el promedio entre repeticiones, obtenemos una única serie temporal por cada GC que representa su respuesta promedio en el tiempo (ver Fig. 1.10). La siguiente sección introduce el formalismo matemático del cálculo del PSTH.

#### 1.4.1. Cálculo del Peri-Stimulus Time Histogram †

Dados un conjunto de disparos producidos ante la inyección repetida de un estímulo (Fig. 1.7), queremos obtener una señal que cuantifique la respuesta temporal promedio. Para ello, computamos el PSTH realizando un promedio de las repeticiones de los trenes de disparo [49]. Un tren de disparos s(t) con tiempos de disparo  $D = \{t_1, t_2, ..., t_d, ...\}$  puede definirse matemáticamente en tiempo continuo como

$$s(t) = \sum_{t_d \in D} \delta(t - t_d) \tag{1.4}$$

donde  $\delta(u)$  es la delta de Dirac. Por un lado, dado un conjunto de J trenes de disparos  $s^{j}(t)$  con j = 1, 2, ..., J obtenidos como repeticiones del mismo experimento, podemos definir el tren de disparos promedio como

$$\nu(t) = \frac{1}{J} \sum_{j=1}^{J} s^{j}(t).$$
(1.5)

Por otro lado, podemos añadir incerteza sobre el tiempo exacto de cada disparo suavizando el tren, añadiendo un ancho a los disparos. Hacemos esto realizando la convolución del tren s(t) con un kernel  $h_{\Delta}(u)$ ,

$$s_{\Delta}(t) = (h_{\Delta} * s)(t) = \int_{-\infty}^{\infty} h_{\Delta}(u)s(t-u)du, \qquad (1.6)$$

donde \* es el operador convolución y  $\Delta$  es un parámetro que determina la ventana temporal del suavizado. En este contexto, un kernel  $h_{\Delta}(u)$  razonable debe alcanzar su valor máximo en u = 0 y debe tender a 0 cuando  $|u| \gg \Delta$ . De esta manera, el suavizado confiere a cada disparo un "ancho". Finalmente, el PSTH es el promedio de los trenes de disparos suavizados (equivalente al suavizado del promedio) y se define como

$$\nu_{\Delta}(t) = \frac{1}{J} \sum_{j=1}^{J} s_{\Delta}^{j}(t) = \int_{-\infty}^{\infty} h_{\Delta}(u) \nu(t-u) du = \frac{1}{J} \sum_{j=1}^{J} \int_{-\infty}^{\infty} h_{\Delta}(u) s^{j}(t-u) du.$$
(1.7)

El PSTH es una manera de estimar una frecuencia de disparo instantánea en función del tiempo.

En lo que sigue, utilizamos como kernel  $h_{\Delta}(u) = \Theta(u+\Delta)\Theta(u-\Delta)$ , esto es una función rectangular que vale 1 en una ventana de ancho  $2\Delta$  alrededor de u = 0 y 0 fuera de la ventana (Fig. 1.10a). Utilizamos siempre  $\Delta = 4$  ms que es aproximadamente la duración de un potencial de acción. La Fig. 1.10b muestra el PSTH obtenido para los trenes de la Fig. 1.7, este kernel produce ventanas de ancho  $2\Delta$  alrededor de cada disparo.



Figura 1.10: Cálculo del PSTH utilizando un kernel rectangular. (a) Kernel rectangular  $h_{\Delta}(u)$ . (b) PSTH producido al promediar y suavizar los trenes de disparo con el kernel de (a) con  $\Delta = 40$  ms. Usamos este valor de  $\Delta$  solo en esta figura para poder visualizar el suavizado temporal correctamente. En el resto de la tesis utilizamos  $\Delta = 4$  ms.

# 1.4.2. Correlación cruzada entre el estímulo y las respuestas neuronales

En esta sección estudiamos si las respuestas de las GCs de diferente edad se alinean de manera distinta con el estímulo que las generó. En general, esperamos que los disparos en la respuesta estén precedidos por deflexiones positivas del estímulo con respecto a su media. Disparos presentes en muchas repeticiones o disparos consecutivos en ráfaga deberían estar precedidos por deflexiones más prominentes mientras que disparos más variables o silencios esperamos que estén precedidos por variaciones menos consistentes o deflexiones negativas. Diferentes neuronas pueden dar respuestas menos robustas o ruidosas ante la misma variación relativa en el estímulo y estas diferencias podrían ser consistentes entre los distintos grupos etarios.

Para comenzar a explorar estos interrogantes, usamos la correlación cruzada entre el estímulo i(t) y el PSTH de cada GC  $\nu_{\Delta}(t)$  (Ec. 1.7). La correlación cruzada mide la correlación entre dos señales a diferentes retardos entre ellas. Concretamente, se define como

$$\operatorname{Corr}(i,\nu_{\Delta}) = (i \star \nu_{\Delta})(u) = \int_{-\infty}^{\infty} i(t)\nu_{\Delta}(t+u)dt, \qquad (1.8)$$

donde  $\star$  es el operador correlación y u es el retardo. Para independizarnos de la media y varianza del estímulo y del PSTH, antes de calcular la correlación cruzada, a cada señal le sustraemos su media y la dividimos por su desviación estándar. O sea, reemplazamos en la Ec. 1.8 i(t) y  $\nu_{\Delta}(t)$  por  $(i(t) - \mu_i)/\sigma_i$  y  $(\nu_{\Delta}(t) - \mu_{\nu_{\Delta}})/\sigma_{\nu_{\Delta}}$  respectivamente. De esta manera, independizamos el resultado de la correlación de la amplitud del estímulo y de la frecuencia de disparo de la GC. La correlación cruzada resultante es equivalente a calcular la correlación de Pearson entre el estímulo y la respuesta para diferentes retardos y resulta en una cantidad normalizada que toma valores entre -1 (máxima correlación negativa) y 1 (máxima correlación positiva), pasando por 0 (ausencia de correlación).

La Fig. 1.11a muestra un ejemplo de la correlación cruzada para una GC madura. La correlación tomó valores generalmente positivos indicando que variaciones positivas (negativas) del estímulo estaban asociadas con variaciones positivas (negativas) de la respuesta. El pico se alcanzó siempre en un valor de retardo positivo dado que el estímulo precede a la respuesta y la correlación tomó valores cercanos a 0 para retardos grandes dado que las señales de descorrelacionan. Usamos el valor de la correlación en el pico como medida del grado de alineación entre el estímulo y la respuesta y cuantificamos también el valor del retardo temporal en el que se alcanza el pico. El retardo indica la rápidez de la respuesta y puede relacionarse a la velocidad de integración de la membrana. Tanto el retardo como la amplitud en el pico de la correlación cruzada estaban correlacionados con la edad (Fig. 1.11b; Correlación de Spearman edad-retardo,  $\rho = -0.30$ , p = 0.010; Correlación de Spearman edad-amplitud,  $\rho = 0.25$ , p = 0.047). Luego, con la maduración la respuesta de las GCs se vuelve más rapida y exhibe mayor alineamiento con el estímulo. Estos resultados son consistentes con la observación de que la constante temporal pasiva es también menor. En lo que sigue, comparamos directamente las respuestas entre diferentes GCs y estudiamos si estas diferencias en el alineamiento se relacionan con diferencias en la estructura de las respuestas.



Figura 1.11: (a) Correlación cruzada de Pearson entre el estímulo y el PSTH de la respuesta neuronal en función del retardo para una GC madura típica. Los valores de retardo y amplitud en el pico son las distancias a las líneas punteadas vertical y horizontal respectivamente. (b) Valor del retardo y de la correlación en el punto máximo de la correlación cruzada para todas las GCs registradas. Los puntos grandes representan los promedios por edad y sus barras de error representan  $\pm 1$  error estándar.

## 1.5. Similaridad y coincidencias entre los trenes de disparo de las GCs

En la sección anterior vimos que las GCs maduras muestran mayor alineación con el estímulo, no obstante ¿qué tan reproducible es esta observación entre repeticiones y GCs diferentes?. En esta sección nos interesa comparar la estructura temporal en las respuestas de las diferentes GCs y grupos etarios. Dada la misma estructura temporal en la estimulación, ¿qué tan reproducible es la respuesta temporal de una GC ante repeticiones del mismo estímulo? ¿qué tan similares son los trenes de disparo producidos por dos GCs diferentes? y ¿qué diferencias hay entre los grupos etarios? Para explorar estos interrogantes, empezamos por definir métricas que, dados dos conjuntos de trenes de disparos, cuantifiquen la similaridad entre ellos.

#### 1.5.1. Métricas de similaridad entre trenes de disparos. Indice de coincidencias y fiabilidad

En esta sección metodológica introducimos el formalismo y las cantidades que utilizamos para cuantificar la similaridad entre conjuntos de trenes de disparos. Dados dos
trenes de disparos, podemos cuantificar su grado de similaridad calculando un producto interno entre ellos (sección 1.5.1.1) [65, 66, 49]. Como en el cálculo que realizamos del PSTH, este producto interno utiliza un filtro o *kernel* que determina la ventana en la que se considera que dos disparos son coincidentes y cómo pesar la separación temporal entre ellos. El producto interno que utilizamos simplemente calcula la cantidad de coincidencias entre los dos trenes en una ventana como ilustra la Fig. 1.12.

Como por cada GC tenemos varias repeticiones que conforman su respuesta, en la sección 1.5.1.2 mostramos cómo calcular la similaridad entre conjuntos de trenes de disparos. Para calcular la similaridad entre las respuestas de dos GCs diferentes introducimos el índice de coincidencias entre ellas. Para calcular el índice de coincidencias, primero calculamos el producto interno entre todos los pares de trenes de disparos de los dos conjuntos. Luego normalizamos esta cantidad para obtener un número entre 0, si no hay ninguna coincidencia, y 1, si todos los trenes de disparos de los dos conjuntos coinciden. Por último, nos interesa dada una única GC, calcular qué tan variable o reproducible es su respuesta a lo largo de las repeticiones. Calculando el producto interno entre los diferentes trenes de disparos y normalizando definimos la fiabilidad de cada GC. La fiabilidad toma valores entre 0, si no hay coincidencias en los disparos de las repeticiones, y 1, si los tiempos de disparos de todas las repeticiones coinciden. En la sección 1.5.2 analizamos los índices de coincidencias entre las GCs de diferentes grupos etarios y su fiabilidad. La Fig. 1.13 ilustra las dos cantidades introducidas.

#### 1.5.1.1. Producto interno entre trenes de disparos †

Podemos cuantificar el grado de similaridad entre dos trenes de disparos s(t) y s'(t) definiendo un producto interno entre ellos [49, 65, 66]. En general, podemos escribir

$$\langle s, s' \rangle = \int_0^T dt \int_{-\infty}^\infty du \int_{-\infty}^\infty du' K(u, u') s(t-u) s'(t-u')$$
 (1.9)

donde K(u, u') es un kernel bidimensional que determina cómo se computa la similaridad. Para computar la similaridad en la estructura temporal entre los dos trenes, K(u, u')debería ser no negativo, tener un máximo en u = u' = 0 y decaer a 0 cuando  $|u|, |u'| \gg 0$ . En lo que sigue, usamos el kernel de coincidencias  $K(u, u') = h_{\Delta}(u)\delta(u')$ , donde  $h_{\Delta}(u) = \Theta(u+\Delta)\Theta(u-\Delta)$  es el mismo kernel rectangular unidimensional que usamos en la sección anterior para obtener los PSTH de las respuestas (Fig. 1.10a). Vimos que la convolución de un tren de disparos con  $h_{\Delta}(u)$  produce ventanas de ancho  $2\Delta$  alrededor de cada disparo. Luego, para  $\Delta$  pequeño, el producto interno con este kernel resulta ser simplemente el número de disparos  $n_{\Delta}(s, s')$  de s y s' que coinciden en una ventana  $2\Delta$  (Fig. 1.12),

$$\langle s, s' \rangle = n_{\Delta}(s, s') = \int_0^T dt \int_{-\infty}^\infty du \int_{-\infty}^\infty du' h_{\Delta}(u) \delta(u') s(t-u) s'(t-u')$$
  
= 
$$\int_0^T dt \int_{-\infty}^\infty du h_{\Delta}(u) s(t-u) s'(t) = \int_0^T s_{\Delta}(t) s'(t) dt.$$
(1.10)

La norma asociada a este producto interno es



Figura 1.12: Ilustración del producto interno entre dos trenes de disparos.

$$\langle s,s\rangle = ||s||^2 = \int_0^T s_\Delta(t)s(t)dt.$$
(1.11)

Si la ventana  $\Delta$  es más chica que el intervalo mínimo entre dos disparos del tren s(t), entonces la norma al cuadrado de la Ec. 1.11 es directamente el número de disparos en el tren s(t). En la siguiente sección utilizamos el producto interno para computar cantidades que cuantifiquen la similaridad entre conjuntos de trenes de disparos.

#### 1.5.1.2. Índice de coincidencias y fiabilidad †

En nuestros experimentos, tenemos para cada GC múltiples trenes de disparos generados repitiendo la inyección del mismo estímulo (Fig. 1.7). Dados dos conjuntos de trenes de disparos de dos neuronas diferentes  $S = \{s^1(t), s^2(t), ..., s^J(t)\}$  y  $S' = \{s'^1(t), s'^2(t), ..., s'^K(t)\}$ , nos interesa entonces calcular una medida de la similaridad entre los dos conjuntos. Es natural calcular el promedio de los productos internos entre todos los pares de trenes,

$$\frac{1}{JK}\sum_{j,k=1}^{J,K} \langle s^j, s'^k \rangle = \langle \nu, \nu' \rangle, \qquad (1.12)$$

que resulta equivalente a calcular el producto interno entre los trenes de disparos promedio de cada conjunto  $\nu(t) \ge \nu'(t)$  (Ec. 1.5). Esta observación es especialmente importante desde el punto de vista computacional, ya que el orden de complejidad de calcular el producto interno entre todos los pares es O(JK) mientras que calcular los dos trenes de disparos promedio es de orden O(J) + O(K). Con el kernel rectangular  $h_{\Delta}(u) = \Theta(u + \Delta)\Theta(u - \Delta)$ , la cantidad de la Ec. 1.12 es el promedio de las coincidencias entre los trenes del conjunto S y los trenes del conjunto S'.

Nos interesa luego normalizar esta cantidad para obtener un valor que sea independiente del número de disparos que emitió cada neurona. Esta normalización debe hacerse con cierto cuidado ya que la norma de  $\nu(t)$  calculada como

$$||\nu||^{2} = \langle \nu, \nu \rangle = \frac{1}{J^{2}} \sum_{j=1}^{J} \langle s^{j}, s^{j} \rangle + \frac{1}{J^{2}} \sum_{\substack{j,k=1\\j \neq k}}^{J} \langle s^{j}, s^{k} \rangle = \frac{1}{J^{2}} \sum_{\substack{j=1\\j=1}}^{J} ||s^{j}||^{2} + \frac{1}{J^{2}} \sum_{\substack{j,k=1\\j \neq k}}^{J} \langle s^{j}, s^{k} \rangle \quad (1.13)$$

mezcla dos términos de carácter diferente [66]. Mientras que el primer término de la última igualdad involucra el promedio de las normas de los trenes individuales, el segundo término involucra el promedio de coincidencias entre trenes diferentes del mismo conjunto. Definimos entonces el promedio de las normas del conjunto como

$$L(S) = \frac{1}{J} \sum_{j=1}^{J} ||s^j||^2$$
(1.14)

y el índice de coincidencias (Fig. 1.13) como

$$C(S,S') = \frac{\langle \nu, \nu' \rangle}{(L(S) + L(S'))/2}$$
(1.15)

Con la elección de kernel rectangular, C(S, S') tiene un significado intuitivo: es el valor promedio de coincidencias entre los trenes de los conjuntos  $S ext{ y } S'$  normalizado al número de disparos promedio en los conjuntos. El índice C(S, S') toma valores entre 0 y 1 y es, en otras palabras, la proporción promedio de disparos que coinciden entre los dos conjuntos.

Nos interesa cuantificar también la reproducibilidad de los trenes de disparos producidos por la misma neurona ante el mismo estímulo. Definimos la fiabilidad R(S) del conjunto S (Fig. 1.13) como el número de coincidencias promedio entre trenes diferentes del conjunto normalizado al número promedio de disparos en el conjunto,

$$R(S) = \frac{\frac{1}{J(J-1)} \sum_{j=1}^{J} \sum_{k\neq j}^{J} \langle s^{j}, s^{k} \rangle}{L(S)} = \frac{\frac{2}{J(J-1)} \sum_{j=1}^{J} \sum_{k>j}^{J} \langle s^{j}, s^{k} \rangle}{L(S)}$$
(1.16)

La fiabilidad es igual al índice de coincidencias de una neurona consigo misma, usando solo trenes diferentes en la suma del numerador, y cuantifica el grado de reproducibilidad en la respuesta de una neurona. Toma valores entre 0, si no hay ninguna coincidencia entre las repeticiones, y 1, si los disparos de todos los trenes coinciden.

# 1.5.2. Índice de coincidencias y fiabilidad para las GCs de diferentes grupos etarios

El índice de coincidencias nos permite cuantificar el grado de similaridad o superposición entre los tiempos de disparo de dos conjuntos de trenes. Haciendo uso de él nos preguntamos, dada la misma estructura temporal en el estímulo, ¿qué tan similares son los patrones de disparo entre las GCs de diferente edad? ¿qué tan reproducibles son las respuestas de una GC? Vimos que las respuestas neuronales manifiestan distintos grados de alineación con el estímulo, sin embargo las partes del estímulo que producen respuestas robustas en una neurona podrían diferir de las que producen respuestas robustas en otra. Para explorar estos interrogantes, en primer lugar computamos el índice de coincidencias entre todos los pares de GCs de todos los grupos etarios y los representamos como una matriz en la Fig. 1.14. El índice de coincidencias toma un amplio rango de valores con pares de GCs que coinciden en menos del 5% de sus disparos y pares que coinciden en



Figura 1.13: Diagrama que representa el índice de coincidencias entre dos conjuntos y la fiabilidad dentro de cada conjunto. Estas cantidades miden la proporción promedio de disparos coincidentes entre los trenes de disparos de los dos conjuntos o de un mismo conjunto respectivamente. Un valor cercano a 1 en el índice de coincidencias indica que las dos GCs comparten la mayor parte de la estructura temporal en sus respuestas. Un valor cercano a 1 de fiabilidad indica que la respuesta de una GC es robusta.



Figura 1.14: Matriz de índice de coincidencias.

más del 60%. La diagonal de la matriz, o sea el índice de coincidencias entre dos copias de la misma GC, es la fiabilidad (Ec. 1.16), donde el promedio de coincidencias se realiza utilizando los pares de trenes distintos.

Luego para estudiar la contribución de la edad, realizamos para cada GC el promedio del índice de coincidencias sobre todos los pares que la contienen, separando por la edad de la segunda GC (Fig. 1.15). Esto equivale a realizar el promedio de cada fila (o columna) por separado en cada "rectángulo" de combinación de edades en la matriz de la Fig. 1.14. De esta manera, cada punto en la Fig. 1.15 es el índice de coincidencias promedio de cada fila (o cada GC cuando se la empareja con todas las otras GCs de edad determinada por la segunda fila de edades del eje horizontal. El índice de coincidencias tiende a ser mayor cuando las GCs se emparejan con GCs más maduras. Usando solo pares de GCs de la misma edad, observamos que el índice de coincidencias correlaciona con la edad del par (Fig. 1.15, correlación de Spearman,  $\rho = 0.42$ ,  $p = 7.1 \times 10^{-4}$ ).



**Figura 1.15:** Indice de coincidencias promedio de GCs individuales cuando se las empareja con GCs de diferente edad. Para cada GC de edad dada por la primera fila de etiquetas, promediamos el índice de coincidencias sobre todas las GCs de edad dada por la segunda fila. Para primera GC de 4w, correlación de Spearman entre edad de la segunda GC e índice de coincidencias  $\rho = 0.18$ , p = 0.14, para primera GC de 5w  $\rho = 0.28$ ,  $p = 2.9 \times 10^{-2}$ , y para primera GC m $\rho = 0.27$ ,  $p = 2.9 \times 10^{-2}$ . Para pares de la misma edad, correlación de Spearman entre la edad del par y el índice de coincidencias  $\rho = 0.42$ ,  $p = 7.1 \times 10^{-4}$ . Las barras representan el promedio  $\pm 1$  error estándar.

Estos resultados sugieren que los trenes de disparos de las GCs más jovenes tienden a ser menos similares a los trenes de otras GCs, sin importar su edad. Esto podría atribuirse a que las GCs más jóvenes tienen una respuesta más ruidosa, con una mayor variabilidad en los tiempos de disparo. Para explorar esta hipótesis, analizamos la fiabilidad en la respuesta de las GCs de diferentes edades (Fig. 1.16). Efectivamente, hallamos una correlación positiva entre la fiabilidad y la edad (correlación de Spearman,  $\rho = 0.44$ ,  $p = 3 \times 10^{-4}$ ) indicando que las GCs jóvenes dan respuestas menos reproducibles. En definitiva, hallamos que en general las GCs inmaduras producen respuestas más ruidosas ante un estímulo generando un menor número de coincidencias con otras GCs de la misma y diferente edad.

### **1.6.** Conclusiones

En el presente capítulo, comenzamos por estudiar las propiedades electrofisiológicas generales de las GCs de diferentes edades. Recuperamos resultados previos donde se observó que tanto la resistencia como la constante temporal pasivas de la membrana disminuyen con la edad. Luego, estudiamos las respuestas a estímulos fluctuantes generados a partir de un proceso estocástico, con mayor riqueza temporal que escalones. Encontramos que



**Figura 1.16:** Fiabilidad de las GCs de diferente edad. Las barras representan el promedio  $\pm 1$  error estándar.

las GCs maduras exhiben una mayor alineación con el estímulo y el máximo de esta correlación ocurre en una escala temporal más corta. Además, consistentemente, producen respuestas más robustas y reproducibles ante repeticiones de la misma estimulación. En este capítulo, hicimos un análisis agnóstico, usando cantidades que no asumen una relación funcional entre el estímulo y la respuesta. Este análisis, nos permitió estudiar propiedades generales de las respuestas pero no establece relaciones concretas entre nuestras observaciones. En el capítulo siguiente, utilizaremos un modelo estadístico que puede ajustarse a nuestros datos y que asume una relación funcional y probabilística entre el estímulo y las respuestas neuronales. Este procedimiento, nos permitirá estudiar otras propiedades de las GCs y estudiar como una dada GC codifica un estímulo en un tren de disparos.

## Capítulo 2

## Codificación del estímulo usando el Spike Response Model

En el capítulo 1 analizamos la estructura temporal de las respuestas neuronales. Estudiamos la reproducibilidad de esta estructura y la comparamos con la estructura del estímulo y la de las respuestas de otras neuronas. Para ello, empleamos métricas que no hacen suposiciones al respecto de cómo los estímulos producen las respuestas. Al contrario, en este capítulo caracterizaremos la transformación estímulo-respuesta que realiza cada GC utilizando un modelo estadístico, el *Spike Response Model*. Introducimos el *Spike Response Model* y sus parámetros, describimos el ajuste del modelo y obtenemos parámetros individuales para cada célula granular. Mostramos que los parámetros obtenidos con el SRM reproducen propiedades relevantes en las respuestas, son biofísicamente relevantes y diferencian a las GCs según su edad.

## 2.1. Spike Response Model

El Spike Response Model (SRM) es un modelo estadístico utilizado para describir la actividad de neuronas [49]. El SRM describe el potencial de membrana subumbral como una señal continua en el tiempo y los potenciales de acción o disparos como eventos discretos e instantáneos. El modelo tiene, además de parámetros escalares, parámetros que son funciones del tiempo y se denominan *filtros*. El SRM es un tipo de *Generalized Linear Model* (GLM), estos han sido utilizados en muchos trabajos para describir la actividad neuronal *in vivo* y *ex vivo* en diversos escenarios [15, 56, 57, 58, 59, 67]. Dados registros de actividad neuronal, los parámetros del SRM pueden obtenerse a partir de métodos estadísticos estándar y representan propiedades biofísicas y electrofisiológicas de la neurona.

El diagrama de la Fig. 2.1 ilustra cómo el SRM procesa un estímulo i(t) para producir un potencial de membrana v(t) y una respuesta de disparos s(t). En primer lugar, el estímulo i(t) es convolucionado (filtrado) con un filtro de membrana k que determina cómo la corriente de estimulación se traduce en variaciones de v(t). Por otra parte, un potencial de acción puede producir la apertura o cierre de canales específicos modificando el potencial de membrana. El filtro  $h_v$  da cuenta de estos efectos produciendo una desviación



Figura 2.1: Diagrama del Spike Response Model (SRM).

en el potencial de membrana después de cada disparo emitido. Entonces, el potencial de membrana subumbral v(t) del SRM es la suma de un valor basal  $v_b$  que determina el voltaje en ausencia de estímulo, el estímulo i(t) filtrado por k y la desviación del voltaje  $h_v$  que ocurre luego de cada disparo,

$$v(t) = v_b + \int_0^t k(u)i(t-u)du + \sum_{t_d \in D} h_v(t-t_d)$$
(2.1)

donde D es el conjunto de los tiempos de disparos. Notamos que los filtros  $k y h_v$  son funciones de retardos temporales.  $k(u) y h_v(t-t_d)$  definen respectivamente cómo el valor del estímulo a tiempo t - u y un disparo a tiempo  $t_d$  afectan el potencial de membrana a tiempo t. Los filtros solo están definidos para valores positivos de su argumento, de manera que v(t) solo depende de los valores del estímulo y de los disparos previos a t, respetando la causalidad.

Luego, el SRM produce disparos de manera estocástica usando una tasa de disparo o intensidad  $\lambda(t)$  definida a partir del potencial de membrana v(t). En general, esperamos que la tasa de disparo sea no negativa y tome valores cercanos a 0 cuando v(t) está muy por debajo de algún valor umbral y crezca a medida que v(t) se acerca al umbral. De esta manera, para definir la intensidad  $\lambda(t)$  se sustrae un umbral de voltaje móvil del potencial de membrana v(t), el resultado es dividido por un factor  $\Delta v$  y exponenciado. El umbral móvil es la suma de una constante  $v_{th}$  y una desviación postdisparo  $h_{th}$ , análoga a  $h_v$  pero que actúa directamente sobre la intensidad y no sobre el potencial de membrana. Luego,  $h_{th}$  puede producir efectos refractarios que no se traducen en una variación del potencial de membrana. La intensidad  $\lambda(t)$  es entonces

$$\lambda(t) = \exp\left(\left(v(t) - v_{th}(t)\right)/\Delta v\right)$$

$$con \quad v_{th}(t) = v_{th} + \sum_{t_d \in D} h_{th}(t - t_d).$$
(2.2)

Dados los parámetros del SRM y la historia de disparos, las Ecs. 2.1 y 2.2 determinan el potencial de membrana v(t) y la intensidad  $\lambda(t)$  a tiempo t. En una simulación del modelo, con el tiempo discretizado en intervalos  $\Delta t$ , los disparos son generados de manera estocástica usando la intensidad  $\lambda(t)$ , con probabilidad

$$P(\text{disparo en } t) = 1 - \exp(-\lambda(t)\Delta t).$$
(2.3)

Si a tiempo  $t_d$  se produce un disparo, este influye sobre  $v(t > t_d)$  y  $\lambda(t > t_d)$  mediante los filtros postdisparo  $h_v$  y  $h_{th}$  como indican las Ecs. 2.1 y 2.2.

La Fig. 2.2 muestra una simulación de las cantidades del SRM para un conjunto plausible de parámetros. Los filtros de ejemplo en la Fig. 2.2a son decaimientos exponenciales con diferentes constantes temporales. Graficamos k(-t) para representar que este filtro integra los valores pasados de i(t). El segundo panel de la Fig. 2.2b muestra que la elección exponencial para el filtro k(t) resulta en que el término de convolución (k \* i)(t) en la Ec. 2.1 es el estímulo suavizado. En este mismo panel vemos el término de  $h_v$  en la Ec. 2.1, cada vez que el SRM emite un disparo (último panel) este término sufre una desviación dada por  $h_v$  que se suma sobre los valores anteriores, afectando directamente al potencial de membrana v(t). Luego, el tercer panel muestra v(t) dado por la Ec. 2.1 y  $v_{th}(t)$  el umbral móvil definido como la suma de  $v_{th}$  y el término de  $h_{th}$  (Ec. 2.2). Análogo al efecto de  $h_v$ , observamos que cada vez que el SRM emite un disparo, el umbral móvil  $v_{th}(t)$  sufre una desviación dada por  $h_{th}$ . Finalmente, v(t) y  $v_{th}(t)$  dan lugar a  $\lambda(t)$  (cuarto panel) siguiendo la Ec. 2.2 y los disparos son generados estocásticamente usando la Ec. 2.3 (quinto panel). Como describimos, cuando se produce un disparo, estos afectan el comportamiento futuro de la simulación a través de  $h_v$  y  $h_{th}$ .

Los parámetros del SRM  $\{v_b, k, h_v, v_{th}, h_{th}, \Delta v\}$  resumen el efecto de las diferentes propiedades biofísicas de la neurona en su actividad. Por otra parte, el SRM y los GLMs en general, son modelos de neuronas diseñados para inferir sus parámetros a partir de datos de manera directa, utilizando métodos estadísticos estándar. Supongamos que tenemos un conjunto de tiempos de disparos D con los que construimos una serie temporal de disparos s(t) cuyos valores para todo tiempo escribimos como s. De igual manera, tenemos el estímulo i(t) que provocó los disparos cuyos valores para todo tiempo escribimos como i. Utilizando el SRM, y dado un conjunto de parámetros que escribimos como  $\theta$ , podemos definir la probabilidad de ocurrencia  $P(s \mid i; \theta)$  de un tren de disparos s dados el estímulo i y los parámetros  $\theta$ . El logaritmo de  $P(s \mid i; \theta)$  puede escribirse a partir de  $\lambda(t)$  como [49, 68]

$$\log P(\boldsymbol{s} \mid \boldsymbol{i}; \boldsymbol{\theta}) = \sum_{t_d \in D} \log \lambda(t_d) - \int_0^T \lambda(t) dt$$
(2.4)

donde T es la duración total de las series temporales y para el SRM  $\lambda(t)$  está dado por la Ec. 2.2. En particular, si s y i son conocidos,  $P(s \mid i; \theta)$  es una función de  $\theta$ y se denomina *likelihood* y su logaritmo *log-likelihood*. En este contexto, para cada  $\theta$ la (log-)likelihood devuelve un número que puede usarse para evaluar qué tan bien los diferentes conjuntos de parámetros describen los datos, ya que representa la probabilidad de que dado el estímulo, el modelo con sus parámetros genere los disparos observados.



**Figura 2.2:** Simulación del SRM. (a) Parámetros ejemplo del SRM.  $v_b$  y k (izquierda),  $h_v$  (medio) y  $v_{th}$ ,  $h_{th}$  y  $\Delta v$  (derecha). Los filtros son de la forma  $f(t) = A \exp(-t/\tau)$ .  $k(t): \tau = 40$  ms, A = 25 M $\Omega$ /ms;  $h_v(t): \tau = 50$  ms, A = -2 mV;  $h_{th}(t): \tau = 5$  ms, A = 5 mV. Invertimos el eje temporal en el filtro k(t) para enfatizar que actúa sobre valores pasados del estímulo. (b) Cantidades generadas por el SRM en 1 s de simulación usando los parámetros de la Fig. 2.2a y una muestra de un proceso de Ornstein-Uhlenbeck como estímulo i(t) (sección 1.3).

Aún más, si queremos hallar el mejor conjunto de parámetros que describe los datos observados, podemos directamente maximizar esta cantidad mediante métodos numéricos de optimización. Como mostramos luego, la likelihood juega un rol central en el ajuste del SRM y de los GLMs. Además, la probabilidad  $P(s \mid i; \theta)$  vuelve a aparecer cuando introducimos el formalismo de decodificación de estímulos en el capítulo 3. Continuando con estas ideas, en la próxima sección mostramos en detalle cómo obtener los parámetros del SRM para describir un dado conjunto de datos de actividad neuronal.

## 2.2. Ajuste del Spike Response Model

Como vimos, dado un conjunto de parámetros, el SRM modela la transformación de un estímulo i(t) en, primero un voltaje subumbral v(t) y luego un tren de disparos s(t). De esta manera, para determinar sus parámetros necesitamos datos de voltaje subumbral, disparos y el estímulo que los produjo. En nuestros experimentos, nosotros determinamos a priori el estímulo en función del tiempo i(t) en cada registro. Generamos i(t) utilizando muestras de un proceso de Ornstein-Uhlenbeck con una constante temporal  $\tau = 3$  ms, como describimos en la sección 1.3. Para ajustar los parámetros del SRM, utilizamos un único estímulo, sin repeticiones, de 99 s de duración (Fig. 2.3). A partir de la señal de voltaje medida, extraemos los disparos como describimos en la sección 1.3.2 y el potencial de membrana subumbral excluyendo los valores de la señal de voltaje alrededor de los disparos.

Como los filtros del SRM son funciones que dependen del tiempo, para ajustarlos a datos necesitamos parametrizarlos. En la sección 2.2.2 introducimos una parametrización en términos de funciones rectangulares. Luego, mostramos cómo realizar el ajuste del SRM en dos pasos. Primero, en la sección 2.2.3, utilizamos el potencial de membrana subumbral para obtener  $v_b$ , k(t) y  $h_v(t)$ , buscando el conjunto de parámetros que minimizan el error entre los datos y la predicción del SRM. Luego, en la sección 2.2.4, utilizamos los tiempos de disparos para obtener los parámetros  $v_{th}$ ,  $h_{th}(t)$  y  $\Delta v$ , buscando el conjunto de parámetros que maximizan la log-likelihood (Ec. 2.4). La Fig. 2.5 muestra un ejemplo del ajuste del potencial de membrana subumbral y las Figs. 2.6b y 2.7 muestran los parámetros restantes y simulaciones de trenes de disparos utilizando el SRM. Las secciones 2.2.5 y 2.2.6 introducen modificaciones del procedimiento de ajuste que mejoran la calidad de las predicciones y ayudan a evitar el sobreajuste. Por último, en la sección 2.2.7, introducimos las métricas que utilizamos para evaluar la calidad de las predicciones del SRM y mostramos cómo validamos los ajustes y controlamos el sobreajuste.

#### 2.2.1. Métodos generales y notación †

Los datos a los que ajustamos el SRM son series temporales discretas con un intervalo de muestreo  $\Delta t$ . Una serie temporal consiste entonces de N muestras con valores discretos de tiempo  $t \in \{0, \Delta t, 2\Delta t, ..., T\}$  con  $T = (N - 1)\Delta t$ . A partir de la serie temporal de potencial de membrana (Fig. 2.3), extraemos los tiempos de disparos  $D = \{t_1, t_2, ..., t_d, ...\}$ (ver sección 1.3.2) y construímos la serie temporal s(t) con s(t) = 1 si  $t \in D$  y s(t) = 0 si no. En un trabajo previo se mostró que registros de esta duración son suficientes para ajustar los parámetros de un modelo similar al SRM [67]. El intervalo de muestreo experimental fue de 0.1 ms mientras que la duración de los potenciales de acción es de algunos milisegundos. Como los disparos generados por el SRM son instantáneos y el modelo no describe la forma del potencial de acción ni su duración, reducimos el costo computacional de los ajustes submuestreando las series temporales con un intervalo de muestreo de 1 ms.

Para aliviar la notación y facilitar algunas operaciones matemáticas, escribimos las series temporales como vectores que denotamos con letra negrita, por ejemplo la serie



**Figura 2.3:** Ejemplo de registro utilizado para ajustar el SRM. (a) Registro entero de 99 s de duración del estímulo. (b) Recorte del registro donde se resuelven los potenciales de acción y las flucutaciones del potencial de membrana subumbral.

temporal i(t) la escribimos como el vector  $\mathbf{i} = (i(0), i(\Delta t), ..., i(T))$ . De igual manera escribimos el potencial de membrana subumbral v(t) y el tren de disparos s(t) como los vectores  $\mathbf{v}$  y  $\mathbf{s}$ . Notamos como  $\mathbf{v}^T$  al vector traspuesto de  $\mathbf{v}$  y utilizamos letras negritas mayúsculas, como por ejemplo  $\mathbf{X}$ , para denotar matrices. En la mayor parte del desarrollo, asumimos un único conjunto  $\mathbf{i}, \mathbf{v}$  y  $\mathbf{s}$  de series medidas. En general, si queremos ajustar el SRM a múltiples registros independientes la extensión es sencilla e indicamos brevemente como realizarla donde corresponda.

#### 2.2.2. Expansión de los filtros en una base de funciones †

El SRM tiene 3 parámetros escalares:  $v_b$ ,  $v_{th}$  y  $\Delta v$  y 3 parámetros que son curvas o filtros temporales: k(t),  $h_v(t)$  y  $h_{th}(t)$ . Dado que los filtros pueden tomar un valor diferente para cada valor de tiempo, debemos constreñirlos de alguna manera para poder estimarlos a partir de datos. En general, es estándar escribir los filtros como una combinación lineal de funciones base, esto es

$$k(t) = \sum_{j=1}^{J} a_j f_j(t) \qquad h_v(t) = \sum_{l=1}^{L} b_l f_l(t) \qquad h_{th}(t) = \sum_{m=1}^{M} c_m f_m(t), \qquad (2.5)$$

donde  $a_j$ ,  $b_l$  y  $c_m$  son los coeficientes de la expansión y  $f_*(t)$  son las funciones base predeterminadas. Luego, para estimar los filtros, tenemos que determinar únicamente los coeficientes de la expansión  $\{a_j\}_{j=1}^J$ ,  $\{b_l\}_{l=1}^L$  y  $\{c_m\}_{m=1}^M$ . Si la base es suficientemente flexible, podemos en principio describir filtros de complejidad arbitraria.

En este trabajo, usamos como base funciones rectangulares (Fig. 2.4a), o sea

$$f_j(t) = \begin{cases} 1 & \text{si } t_j \le t < t_{j+1} \\ 0 & \text{si no.} \end{cases}$$
(2.6)

Usamos el mismo tamaño de bin para todas las funciones base de un mismo filtro y elegimos los  $t_j$  de manera que no solapen entre sí, o sea cada  $f_j(t)$  comienza donde termina  $f_{j-1}(t)$  (Fig. 2.4b). Achicando el tamaño del bin, esta base puede representar funciones de complejidad arbitraria (Fig. 2.4c). Para el filtro k(t) usamos 44 bines de 8 ms desde  $t_1 = 0$  ms hasta  $t_{44} = 344$  ms, para el filtro  $h_v(t)$  usamos 17 bines de 25 ms desde  $t_1 = 25$  ms hasta  $t_{17} = 425$  ms y para el filtro  $h_{th}(t)$  usamos 18 bines de 25 ms desde  $t_1 = 0$  ms hasta  $t_{18} = 425$  ms. Por ende, el filtro k(t) queda parametrizado por 44 coeficientes mientras que los filtros  $h_v(t)$  y  $h_{th}(t)$  quedan parametrizados por 17 y 18 coeficientes respectivamente. Para poder realizar el ajuste de los coeficientes de manera directa es fundamental que las expansión tienen la ventaja de que no hacen muchas suposiciones sobre la forma funcional de los filtros.



Figura 2.4: (a) Función rectangular. (b) Base de funciones rectangulares. (c) Función exponencial aproximada usando la base.

#### 2.2.3. Ajuste de los parámetros subumbral †

En esta sección, mostramos cómo obtenemos  $v_b$ , k(t) y  $h_v(t)$  a partir del registro de potencial de membrana subumbral v. Empezamos por escribir los filtros k(t) y  $h_v(t)$ , siguiendo la Ec. 2.5, en términos de los coeficientes a determinar  $\{a_j\}_{j=1}^J$  y  $\{b_l\}_{l=1}^L$ . Tenemos que determinar entonces J + L + 1 parámetros que escribimos como las componentes del vector  $\boldsymbol{\theta}_{sub} = (v_b, a_1, a_2, ..., a_J, b_1, b_2, ..., b_L)$ . Dados el estímulo i(t) y el tren de disparos s(t) con sus tiempos D, reescribimos el potencial de membrana predicho por el SRM (Ec. 2.1) como

$$\hat{v}(t) = v_b + \sum_{u=0}^{t} \sum_{j=1}^{J} a_j f_j(u) i(t-u) + \sum_{t_d \in D} \sum_{l=1}^{L} b_l f_l(t-t_d)$$
(2.7)

$$= v_b + \sum_{j=1}^{J} \left( \sum_{u=0}^{t} f_j(u) i(t-u) \right) a_j + \sum_{l=1}^{L} \left( \sum_{t_d \in D} f_l(t-t_d) \right) b_l = \boldsymbol{x}(t)^T \boldsymbol{\theta}_{\text{sub}}$$
(2.8)

donde discretizamos la convolución con el estímulo y definimos

$$\boldsymbol{x}(t) = \left(1, \sum_{u=0}^{t} f_1(u)i(t-u), \dots, \sum_{u=0}^{t} f_J(u)i(t-u), \\ \sum_{t_d \in D} f_1(t-t_d), \dots, \sum_{t_d \in D} f_L(t-t_d)\right).$$
(2.9)

Notamos que si bien usamos el símbolo f para todas las funciones rectangulares  $\{f_j\}_{j=1}^J$ y  $\{f_l\}_{l=1}^L$ , estas son diferentes para cada filtro y las elegimos como describimos en la sección 2.2.2. Si definimos la matriz  $\boldsymbol{X} \in \mathbb{R}^{N \times J+L+1}$  cuyas filas son  $\boldsymbol{x}(t)$  (Ec. 2.9), el potencial del SRM se escribe en forma vectorial como  $\hat{\boldsymbol{v}} = \boldsymbol{X}\boldsymbol{\theta}_{\text{sub}}$ , y resulta lineal en los parámetros lo que facilita el ajuste.

Luego, buscamos los parámetros que minimicen alguna medida del error entre el potencial de membrana predicho por el SRM y el potencial medido. No obstante, el SRM no describe la forma de los potenciales de acción, solo predice los tiempos en los que estos ocurren. Por lo tanto, para calcular el error removemos del potencial la ventana temporal de 25 ms que sigue a cada tiempo de disparo y usamos  $t_1 = 25$ ms para el filtro  $h_v(t)$ (Fig. 2.5b). Definimos el conjunto de tiempos que no están en ninguna ventana de 25 ms consecutiva a un disparo como V, y usamos solo el potencial de membrana en estos tiempos para minimizar el error.

Luego, buscamos los parámetros  $\hat{\theta}_{sub}$  que minimizan el error cuadrático medio (ECM) entre el potencial de membrana predicho por el SRM  $\hat{v}(\theta_{sub})$  y el potencial medido v,

$$\hat{\boldsymbol{\theta}}_{\text{sub}} = \underset{\boldsymbol{\theta}_{\text{sub}}}{\operatorname{argmin}} \operatorname{ECM}(\hat{\boldsymbol{v}}(\boldsymbol{\theta}_{\text{sub}}), \boldsymbol{v})$$
(2.10)

 $\cos$ 

$$\operatorname{ECM}(\hat{\boldsymbol{v}}(\boldsymbol{\theta}_{\mathrm{sub}}), \boldsymbol{v}) = \frac{1}{|\mathbf{V}|} ||\hat{\boldsymbol{v}} - \boldsymbol{v}||^2 = \frac{1}{|\mathbf{V}|} \sum_{t \in \mathbf{V}} (\hat{v}(t) - v(t))^2.$$
(2.11)

En las Ecs. 2.10 y 2.11, arg<br/>min es el operador que devuelve el punto donde se minimiza la función y |V| es la cantidad de valores de tiempo en V. Com<br/>o $\hat{\boldsymbol{v}}$  es lineal en los parámetros,  $\hat{\boldsymbol{\theta}}_{\rm sub}$  puede obtenerse analíticamente [49, 69] como

$$\hat{\boldsymbol{\theta}}_{\text{sub}} = \underset{\boldsymbol{\theta}_{\text{sub}}}{\operatorname{argmin}} \operatorname{ECM}(\hat{\boldsymbol{v}}(\boldsymbol{\theta}_{\text{sub}}), \boldsymbol{v}) = (\boldsymbol{X}^T \boldsymbol{X})^{-1} \boldsymbol{X}^T \boldsymbol{v}.$$
(2.12)

En general, si queremos ajustar múltiples registros solo tenemos que agregar las filas correspondientes a la matriz X, concatenar sus potenciales de membrana subumbral en v y minimizar el ECM promediando sobre todos ellos.

La Fig. 2.5 muestra el resultado del procedimiento descripto sobre los datos de la Fig. 2.3. Los primeros valores previos a t = 0 ms del filtro k(t) muestran un decaimiento rápido que se atribuye a la resistencia del electrodo de registro (Fig. 2.5a) [67, 70]. La cola del filtro k(t) es aproximadamente exponencial y puede usarse para extraer una constante temporal de integración del estímulo. Vemos que el filtro  $h_v(t)$  produce una hiperpolarización del potencial seguida de cada disparo (Fig. 2.5a), inhibiendo disparos sucesivos y contribuyendo a efectos refractarios. Con estos parámetros, podemos determinar  $\hat{v}(t)$ , el potencial de membrana predicho por el SRM, utilizando la Ec. 2.1 y los tiempos de disparo medidos experimentalmente (Fig. 2.5b). Vemos que el SRM puede capturar la estructura en las fluctuaciones del potencial de membrana subumbral. La raíz del error cuadrático medio (RECM), 1.7mV para estos datos, cuantifica el error cometido en el ajuste. Una vez que obtenemos los parámetros subumbral  $\hat{\theta}_{sub}$ , utilizamos el potencial de membrana predicho y el tren de disparos para ajustar los parámetros umbral.

#### 2.2.4. Ajuste de los parámetros umbral †

Determinados  $v_b$ ,  $k \neq h_v$ , en esta sección mostramos cómo obtener  $v_{th}$ ,  $h_{th} \neq \Delta v$  usando el tren de disparos s. Dado el estímulo i, la *log-likelihood* en tiempo continuo de un tren de disparos s a tiempos D, es [49, 68]

$$\log P(\boldsymbol{s} \mid \boldsymbol{i}; \boldsymbol{\theta}) = \sum_{t_d \in D} \log \lambda(t_d) - \int_0^T \lambda(t) dt$$
(2.13)

donde  $\lambda(t)$  es la intensidad del proceso dada por la Ec. 2.2 para el SRM y T es la duración del total de la serie temporal. La log-likelihood se escribe como el logaritmo de la densidad de probabilidad de un tren de disparos s generado por una intensidad  $\lambda(t)$ . En general, maximizamos la log-likelihood como función de los parámetros para encontrar los parámetros que mejor capturan los datos.

Hallamos entonces los parámetros umbral  $v_{th}$ ,  $h_{th}$  y  $\Delta v$  maximizando la log-likelihood de un tren de disparos s dado por nuestros datos. Utilizamos la expansión de  $h_{th}(t)$  en términos de los coeficientes  $\{c_m\}_{m=1}^M$  (Ec. 2.5) para reescribir la intensidad  $\lambda(t)$  (Ec. 2.2) como

$$\lambda(t) = \exp\left(\boldsymbol{y}(t)^{T}\boldsymbol{\theta}_{th}\right)$$
$$\boldsymbol{y}(t) = \left(\hat{v}(t), -1, -\sum_{t_d \in D} f_1(t - t_d), ..., -\sum_{t_d \in D} f_M(t - t_d)\right) \in \mathbb{R}^{2+M}$$
(2.14)
$$\boldsymbol{\theta}_{th} = \Delta v^{-1}(1, v_{th}, c_1, c_2, ..., c_M),$$

donde  $\hat{v}(t)$  es el potencial de membrana generado por el SRM (Ec. 2.1) usando el estímulo i(t), el tren de disparos s(t) y los parámetros  $\hat{\theta}_{sub}$ , previamente determinados. Reescribimos



Figura 2.5: Resultados de ajustar el SRM a los datos de la Fig 2.3. (a) Parámetros subumbral  $\hat{\theta}_{sub}$  obtenidos. (b) Potencial de membrana subumbral medido (azul), predicho por el SRM (naranja) y valor medido al tiempo de disparo determinado (verde). Las zonas grises indican las ventanas removidas para el ajuste donde transcurren los potenciales de acción.

la log-likelihood de la Ec. 2.13 discretizando la integral y usando las definiciones de la Ec. 2.14,

$$\log P(\boldsymbol{s} \mid \boldsymbol{i}; \boldsymbol{\theta}_{\text{th}}) = \sum_{t_d \in D} \boldsymbol{y}(t_d)^T \boldsymbol{\theta}_{\text{th}} - \Delta t \sum_{t=0}^T \exp\left(\boldsymbol{y}(t)^T \boldsymbol{\theta}_{\text{th}}\right)$$
(2.15)

Para llevar a cabo la computación y maximización de la log-likelihood es conveniente escribir las sumatorias en la Ec. 2.15 como productos matriciales. Luego, definimos la matriz  $\boldsymbol{Y} \in \mathbb{R}^{N \times 2+M}$  cuyas filas son los  $\boldsymbol{y}(t)$  para cada valor de t y reescribimos  $\lambda(t)$  en forma vectorial como  $\boldsymbol{\lambda} = \exp(\boldsymbol{Y}\boldsymbol{\theta}_{\rm th})$  donde la exponencial actúa sobre cada uno de los elementos del vector argumento. La log-likelihood queda entonces

$$\log P(\boldsymbol{s} \mid \boldsymbol{i}; \boldsymbol{\theta}_{\text{th}}) = \boldsymbol{s}^T \log \boldsymbol{\lambda} - \Delta t \, \boldsymbol{1}^T \boldsymbol{\lambda}$$
$$= \boldsymbol{s}^T \boldsymbol{Y} \boldsymbol{\theta}_{\text{th}} - \Delta t \, \boldsymbol{1}^T e^{\boldsymbol{Y} \boldsymbol{\theta}_{\text{th}}}$$
(2.16)

donde s vale 1 en los tiempos de disparo y 0 en los otros tiempos y  $\mathbf{1} \in \mathbb{R}^N$  es el vector  $\mathbf{1} = (1, 1, 1, ..., 1)$  de manera que el producto entre  $\mathbf{1}^T$  y un vector resulta en la suma de las componentes del vector. Si queremos ajustar múltiples registros solo tenemos que agregar las filas correspondientes a la matriz  $\mathbf{Y}$  y concatenar los trenes de disparos, esto resulta en la suma de sus log-likelihood.

Nos interesa entonces encontrar los parámetros  $\theta_{\rm th}$  que maximizan la log-likelihood de la Ec. 2.16,

$$\hat{\boldsymbol{\theta}}_{th} = \underset{\boldsymbol{\theta}_{th}}{\operatorname{argmax}} \log P(\boldsymbol{s} \mid \boldsymbol{i}; \boldsymbol{\theta}_{th}).$$
(2.17)

Desafortunadamente, a diferencia de como hicimos con  $\theta_{sub}$ , los parámetros que maximizan esta log-likelihood no pueden ser hallados de forma analítica. Sin embargo, la log-likelihood con la no-linealidad exponencial en  $\lambda$  es una función cóncava de los parámetros  $\theta_{th}$  lo que garantiza que tiene un único máximo global [49, 68]. Luego, podemos hallar el máximo por ascenso de gradiente utilizando software de optimización y/o usando la forma explícita del gradiente y (opcionalmente) el hessiano,

$$\boldsymbol{g} := \nabla_{\boldsymbol{\theta}_{\rm th}} \log P(\boldsymbol{s} \mid \boldsymbol{i}; \boldsymbol{\theta}_{\rm th}) = \boldsymbol{s}^T \boldsymbol{Y} - \Delta t \left( e^{\boldsymbol{Y} \boldsymbol{\theta}_{\rm th}} \right)^T \boldsymbol{Y}$$
(2.18)

$$\boldsymbol{H} := \nabla_{\boldsymbol{\theta}_{\rm th}} \left( \nabla_{\boldsymbol{\theta}_{\rm th}} \log P(\boldsymbol{s} \mid \boldsymbol{i}; \boldsymbol{\theta}_{\rm th}) \right) = -\Delta t \, \boldsymbol{Y}^T \operatorname{diag} \left( e^{\boldsymbol{Y} \boldsymbol{\theta}_{\rm th}} \right) \boldsymbol{Y}$$
(2.19)

donde diag $(e^{\boldsymbol{Y}\boldsymbol{\theta}_{\mathrm{th}}})$  es una matriz diagonal cuya diagonal es el vector  $\boldsymbol{Y}\boldsymbol{\theta}_{\mathrm{th}}$ . Concretamente, inicializamos los parámetros  $\boldsymbol{\theta}_{\mathrm{th}}$  en valores plausibles y actualizamos los parámetros de manera iterativa usando el método de Newton hasta la convergencia, haciendo en cada iteración

$$\boldsymbol{\theta}_{\rm th}^{n+1} = \boldsymbol{\theta}_{\rm th}^n - \gamma \boldsymbol{H}^{-1} \boldsymbol{g} \tag{2.20}$$

donde  $\pmb{\theta}_{\rm th}^n$  son los parámetros en la iteración <br/> n de la optimización y  $\gamma$  es el tamaño de paso.

La Fig. 2.6 muestra el ajuste de los parámetros umbral  $\theta_{\rm th}$  a los datos de la Fig. 2.3 utilizando los parámetros subumbral obtenidos (Fig. 2.5a). Vemos que la log-likelihood aumenta de manera monótona hasta que detenemos la optimización cuando se alcanza el criterio de convergencia, en el que el incremento de log-likelihood es menor que un valor umbral (Fig. 2.6a). La Fig. 2.6b muestra los parámetros  $v_{th}$ ,  $h_{th}$  y  $\Delta v$  obtenidos. Vemos que el filtro  $h_{th}$  toma valores generalmente positivos, indicando un aumento en el umbral de voltaje después de cada disparo, inhibiendo disparos sucesivos.

Una vez obtenidos todos los parámetros del SRM, los utilizamos para generar múltiples trenes de disparos simulados (como describimos en la sección 2.1) y comparar las simulaciones con los datos (Fig. 2.7). El SRM es capaz de predecir buena parte de la estructura del tren de disparos utilizado para el ajuste. Los trenes de disparos generados por el SRM son estocásticos, por lo que podríamos preguntarnos si la variabilidad que



Figura 2.6: Resultados de ajustar el SRM a los datos de la Fig 2.3 usando los parámetros subumbral de la Fig. 2.5a. (a) Maximización de la log-likelihood. (b) Parámetros umbral  $\hat{\theta}_{\rm th}$  obtenidos.



**Figura 2.7:** Tren de disparos medido (azul) y trenes generados con el SRM (naranja) junto con sus respectivos PSTH (sección 1.4.1). Los PSTH fueron generados utilizando un *kernel* Gaussiano.

exhiben captura la variabilidad de la neurona ante repeticiones del estímulo. Sin embargo, los datos que usamos para ajustar consisten de un único registro por lo que no podemos evaluar esto. En la sección 2.2.7, introducimos métricas para evaluar la calidad del ajuste y utilizamos datos que sí contienen múltiples respuestas ante la misma estimulación para validar nuestros ajustes. De esta manera comparamos la variabilidad experimental con la de las simulaciones del modelo.

#### 2.2.5. Regularización de los filtros †

Debido a que utilizamos un conjunto finito de datos sujetos a diversas fuentes de ruido para los ajustes, los coeficientes de los filtros pueden verse afectados. Por ejemplo, un filtro resultante puede exhibir variaciones grandes en sus coeficientes para lograr compensaciones precisas que capturen los datos del ajuste lo mejor posible. Sin embargo, estas compensaciones pueden estar capturando ruido que es particular a los datos de ajuste, con lo que los parámetros obtenidos no describirán correctamente otros datos ni a la neurona en general. En esta sección describimos como regularizamos los parámetros para obtener filtros más suaves y aliviar estos problemas. La idea es constreñir de manera razonable los coeficientes de los filtros durante la optimización. Usando como ejemplo el filtro  $h_{th}$ , para imponer suavidad podemos pedir que la diferencia entre coeficientes sucesivos sea pequeña en promedio. Hacemos esto agregando un término de regularización de la forma

$$-\sum_{m=1}^{M-1} (c_{m+1} - c_m)^2 \tag{2.21}$$

en la función a optimizar; donde  $\{c_m\}_{m=1}^M$  son los coeficientes del filtro. Este término es siempre nulo o negativo, vale 0 si todos los coeficientes son iguales y toma valores más negativos cuanto más grandes sean los saltos entre coeficientes  $c_m$  sucesivos. Luego, en lugar de maximizar solo la log-likelihood de la Ec. 2.16, maximizamos una función objetivo compuesta por la log-likelihood y un término de penalización,

$$\mathcal{L}(\boldsymbol{\theta}_{\rm th}) = \log P(\boldsymbol{s} \mid \boldsymbol{i}; \boldsymbol{\theta}_{\rm th}) - \alpha \sum_{m=1}^{M-1} (c_{m+1} - c_m)^2$$
(2.22)

donde  $\alpha \ge 0$  es un coeficiente que controla el peso que queremos darle a la restricción impuesta por el término de penalización y fijamos antes de comenzar la optimización.

Para valores grandes de  $\alpha$ , la optimización dará más importancia a la regularización imponiendo mayor suavidad en el filtro resultante y sacrificando más log-likelihood. Es importante notar que este término de regularización es cóncavo en los parámetros por lo que la función a optimizar es una suma de dos funciones cóncavas y preserva esta propiedad garantizando que los parámetros encontrados son el máximo global.

La Fig. 2.8 muestra los resultados de maximizar esta función (Ec. 2.22) para distintos valores del peso de la regularización  $\alpha$  usando los datos de la Fig. 2.3. Vemos que a medida que le damos más peso a la regularización la optimización sacrifica más log-likelihood y resulta en filtros más suaves y con coeficientes más pequeños. En este ejemplo,  $\alpha = 10$  es suficiente para eliminar las fluctuaciones en los coeficientes de la cola del filtro.  $\alpha = 10^3$  es un ejemplo de un ajuste sobreregularizado, produciendo en el filtro encontrado una cola exagerada. En la sección 2.2.7 discutimos cómo determinamos el valor de  $\alpha$  para controlar el sobreajuste utilizando datos de validación.



Figura 2.8: Resultados de realizar el ajuste de los parámetros umbral  $\theta_{th}$  regularizando el filtro  $h_{th}$ . (a) Función objetivo a maximizar (izquierda), log-likelihood (centro) y término de regularización (derecha) durante la optimización. La función objetivo está dada por la Ec. 2.22. (b) Filtros  $h_{th}$  obtenidos para los diferentes valores del peso de regularización  $\alpha$ .

### 2.2.6. Optimización conjunta del potencial de membrana y los trenes de disparos †

En las secciones 2.2.3 y 2.2.4 describimos cómo realizar el ajuste del SRM en dos pasos, primero ajustando los parámetros subumbral al potencial de membrana y luego ajustando los parámetros umbral a los tiempos de disparo. En el cerebro, las neuronas se comunican mediante sus disparos y, de hecho en el capítulo 3, utilizaremos solo los trenes de disparo para decodificar estímulos. Luego, como nos interesa particularmente capturar los trenes de disparo, el ajuste en dos pasos descripto resulta subóptimo, ya que cuando ajustamos el SRM a los tiempos de disparo los parámetros subumbral ya fueron ajustados y están fijos. Entonces proponemos también ajustar todos los parámetros de manera conjunta al potencial de membrana y a los disparos maximizando la función

$$\mathcal{L}(\boldsymbol{\theta}) = \log P(\boldsymbol{s} \mid \boldsymbol{i}; \boldsymbol{\theta}) - \alpha_v \text{ECM}(\hat{\boldsymbol{v}}(\boldsymbol{\theta}_{\text{sub}}), \boldsymbol{v})$$
(2.23)

donde  $\alpha_v$  controla el peso relativo que le damos al ajuste en el potencial con respecto al ajuste en los disparos y el ECM está dado por la Ec. 2.11. El problema de optimizar esta función es que debido a la redundancia en los parámetros, esta no es cóncava y los parámetros encontrados dependen de sus valores iniciales en la optimización. Luego, siempre que optimizamos esta función inicializamos los parámetros en el resultado del ajuste en dos pasos. Realizar esta optimización conjunta a continuación del ajuste en dos pasos resultó beneficioso para capturar mejor nuestros datos en muchos casos.

La regularización en los filtros y esta optimización conjunta precisan determinar los pesos relativos, los diferentes  $\alpha$ , que le damos a cada término. En general, como describimos en la sección siguiente, es común determinar estos hiperparámetros realizando múltiples ajustes con diferentes valores y usar los que mejor performance dan en datos de validación.

#### 2.2.7. Validación de los ajustes y métricas

Para evaluar los ajustes del SRM obtenidos para las diferentes GCs, definimos en esta sección diferentes métricas que cuantifican la calidad de la predicción en el potencial de membrana y en los disparos. Para evaluar la predicción del potencial de membrana subumbral, calculamos la raíz del error cuadrático medio (RECM) entre los potenciales de membrana subumbral medido y predicho por el SRM (Fig. 2.5b). La RECM tiene unidades de voltaje y es una medida de la desviación promedio entre ambos potenciales. Es una cantidad positiva o vale 0 cuando el error es nulo y la predicción es perfecta. Para evaluar la predicción de los trenes de disparos, definimos la métrica L que calcula la log-likelihood del modelo relativa la log-likelihood obtenida por un proceso de tasa de disparo constante. Esto es, un proceso que tiene la misma frecuencia de disparo de los datos pero que no puede capturar ninguna estructura temporal [49]. Valores de L mayores significan una mejor predicción y L = 0 quiere decir que la predicción del modelo es equivalente a la predicción del modelo de tasa de disparo constante. Finalmente, utilizamos una última métrica, M, que evalúa la similaridad entre los trenes de disparos medidos y simulados por el SRM. M toma valores entre 0, máxima disimilaridad, y 1, máxima similaridad.

Además, para evaluar el ajuste de un modelo, es importante hacerlo no solo sobre los datos ajustados o de entrenamiento si no también sobre datos de validación. Esto es, datos que no fueron utilizados durante el ajuste y que solo se usan para evaluar la capacidad del modelo para reproducir datos nuevos. Si no validamos nuestro modelo, corremos el riesgo de estar sobreajustando el modelo a los datos de entrenamiento, que se usaron para realizar el ajuste. En este escenario, el modelo captura mucho mejor los datos de entrenamiento que otros datos, generados de la misma manera que los de entrenamiento y que esperamos que nuestro modelo capture también. Es problemático extraer conclusiones de un modelo que solo describe correctamente los datos de entrenamiento ya que es un modelo que no generaliza correctamente y no tiene poder predictivo. En las secciones anteriores, introdujimos variaciones en el ajuste del SRM que potencialmente permiten hallar mejores parámetros para describir los datos, controlando el sobreajuste. En general, como detallamos luego, para cada GC realizamos múltiples ajustes y nos quedamos con el ajuste que obtuvo mejor performance sobre los datos de validación. Para validar nuestros ajustes, utilizamos los datos analizados en el capítulo 1 (Fig. 1.7), que fueron medidos sobre las mismas GCs y consisten en registros de menor duración (10 s) pero con múltiples repeticiones, lo que nos permite comparar la variabilidad de los datos y de la predicción del SRM.

La Fig. 2.9 muestra, para los datos de entrenamiento de la Fig. 2.3, la predicción sobre los datos de validación del mejor ajuste obtenido. Vemos que el SRM es capaz de predecir buena parte de la estructura en los disparos medidos. La Tabla 2.1 resume los valores de las métricas obtenidas con este ajuste para estos datos. En la sección 2.2.7.1 escribimos las ecuaciones que definen las métricas RECM, L y M y exploramos cómo las modificaciones al ajuste del SRM que introdujimos en las secciones 2.2.5 y 2.2.6 ayudan a mejorar los ajustes.



**Figura 2.9:** Predicción del SRM sobre datos de validación. Trenes de disparos medidos (azul) y generados con el SRM (naranja) junto con sus respectivos PSTH. Los PSTH fueron generados utilizando un *kernel* Gaussiano.

	RECM (mV)	log-likelihood (bits por disparo)	M (adim)
Entrenamiento	1.75	4.42	-
Validación	1.68	3.48	0.88

**Tabla 2.1:** Tabla de métricas ajustando el SRM a los datos de la Fig. 2.3 y utilizando como validación los datos de la Fig. 2.9.

## 2.2.7.1. Métricas e impacto de la regularización y la optimización conjunta de los datos $\dagger$

La raíz del error cuadrático está definida como

$$RECM = \sqrt{ECM(\hat{\boldsymbol{v}}, \boldsymbol{v})}$$
(2.24)

con ECM( $\hat{\boldsymbol{v}}, \boldsymbol{v}$ ) dado por la Ec. 2.11. Para cuantificar la calidad de la predicción de los disparos, usamos en primer lugar la log-likelihood de los datos. El valor de la log-likelihood cuantifica directamente la probabilidad de que el SRM con los parámetros obtenidos produzca los disparos dados. Para poder comparar la log-likelihood de GCs diferentes, que pueden tener respuestas más o menos estructuradas y diferentes frecuencias de disparo, calculamos la log-likelihood relativa a la obtenida por un processo poissoniano de intensidad constante sobre los mismos datos [49]. Si tenemos un proceso de intensidad constante  $\lambda = n(\boldsymbol{s})/T$  con  $n(\boldsymbol{s})$  el número total de disparos en el tren  $\boldsymbol{s}$ , la log-likelihood resulta

$$\log P(n(\boldsymbol{s}) \mid \lambda) = \sum_{t_d \in D} \log \lambda - \int_0^T \lambda dt$$
$$= n(\boldsymbol{s}) \log \lambda - \lambda T = n(\boldsymbol{s}) (\log \frac{n(\boldsymbol{s})}{T} - 1).$$
(2.25)

Luego, definimos

$$\mathbf{L} = \frac{1}{n(\boldsymbol{s})} \log_2 \left( \frac{P(\boldsymbol{s} \mid \boldsymbol{i}; \boldsymbol{\theta})}{P(n(\boldsymbol{s}) \mid \lambda)} \right), \tag{2.26}$$

que se mide en bits por disparo y cuantifica el incremento por disparo en log-likelihood del SRM con respecto al proceso de intensidad constante.

Si bien la log-likelihood es útil para evaluar la calidad de los ajustes, un modelo con buena log-likelihood no resulta necesariamente en un modelo que genere muestras fieles a los datos [71]. La log-likelihood no evalúa la calidad de las muestras generadas por el modelo, y un modelo de buena log-likelihood puede igualmente generar muestras poco representativas de los datos. Para evaluar este aspecto, generamos muestras utilizando el SRM ajustado y utilizamos el formalismo de producto interno entre trenes de disparos que describimos en la sección 1.5. Dados un conjunto de trenes medidos experimentalmente  $\{s^1, s^2, ..., s^J\}$  y un conjunto de trenes simulados por el SRM  $\{s'^1, s'^2, ..., s'^K\}$ , calculamos [49, 66]

$$\mathbf{M} = \frac{\langle \nu, \nu' \rangle}{(L(S)R(S) + L(S')R(S'))/2}$$
(2.27)

donde  $\langle \nu, \nu' \rangle$  es el producto interno entre los trenes de disparos promedio (Ec. 1.12) y L(S)y R(S) son la cantidad de disparos promedio y la fiabilidad de S (Ecs. 1.14 y 1.16). M toma valores entre 0 y 1 y cuantifica la cantidad de coincidencias entre los dos conjuntos normalizada a la cantidad de coincidencias intra-conjuntos. A diferencia del índice de coincidencias de la Ec. 1.15, M pesa la variabilidad dentro de cada conjunto usando las fiabilidades R(S) y R(S') en el denominador. Luego, por ejemplo, para dos conjuntos de trenes independientes poissonianos de la misma intensidad las coincidencias entre ambos conjuntos serán pequeñas, pero también serán pequeñas las coincidencias intra-conjunto. En este ejemplo tendríamos M  $\approx 1$  indicando que los dos conjuntos fueron generados por el mismo proceso a pesar de que habría pocas coincidencias entre ellos.

Utilizamos los datos de validación no solo para evaluar la performance de los ajustes si no también para determinar los hiperparámetros de la regularización (sección 2.2.5) y/o optimización conjunta usados (sección 2.2.6). En primer lugar, ilustramos usando los datos de la Fig. 2.3 el efecto de la regularización en el filtro  $h_{th}$  sobre la performance del ajuste de los parámetros umbral (Fig. 2.10). Mientras que para los datos de entrenamiento aumentar el peso de la regularización  $\alpha_{h_{th}}$  reduce la log-likelihood del ajuste, para los datos de validación existen valores óptimos de este peso en los que L es mayor que en la ausencia de regularización, que corresponde a  $\alpha_{h_{th}} = 0$  (Fig. 2.10a). Si bien en este ejemplo M de validación no se beneficia de regularizar el filtro  $h_{th}$ , el óptimo de  $\alpha_{h_{th}}$  para L de validación tiene un M muy parecido por lo que lo elegiríamos como  $\alpha_{h_{th}}$  óptimo (Fig. 2.10b).

En la Fig. 2.11 vemos los efectos sobre las diferentes métricas si realizamos el ajuste conjunto de los disparos y el potencial de membrana inicializando los parámetros en los valores del ajuste en dos pasos (sección 2.2.6), usando  $\alpha_{h_{th}} = 0$ . Para estos datos, la RECM de entrenamiento y de validación decrecen monótonamente al aumentar el peso del potencial y darle más importancia a su ajuste (Fig. 2.11a). Valores de  $\alpha_v$  grandes priorizan el ajuste del potencial de membrana y luego los valores de la RECM se aproximan a los valores del ajuste en dos pasos (línea punteada), ya que en el ajuste en dos pasos todos los



**Figura 2.10:** Regularización sobre el filtro  $h_{th}$ . (a) Efectos del peso de la regularización sobre L para los datos de entrenamiento y validación y (b) sobre M para los datos de validación. No calculamos M sobre los datos de entrenamiento ya que estos no contienen respuestas repetidas ante el mismo estímulo.

parámetros subumbral se determinan solo ajustando el potencial. De diferente manera, las métricas de disparos L y M, se benefician de la optimización conjunta, ya que tenemos un mayor número de parámetros para ajustar los disparos. Notablemente,  $\alpha_v$  funciona como un parámetro de regularización; mientras que para los datos de entrenamiento es mejor ignorar el potencial ( $\alpha_v = 0$ ) los datos de validación encuentran su óptimo con valores intermedios de  $\alpha_v$ .

En general, para cada conjunto de datos ajustado, probamos múltiples valores de  $\alpha_{h_{th}}$  y  $\alpha_v$  en una grilla y usamos los que maximizaron la log-likelihood de los datos de validación, seleccionando primero los ajustes cuyo M de validación era al menos el 95 % del mejor. La Fig. 2.9 muestra la predicción del modelo sobre los datos de validación para los parámetros obtenidos con este criterio. El modelo fue ajustado a los datos de la Fig. 2.3. Este ajuste se obtuvo con  $\alpha_{h_{th}} = 1$  y  $\alpha_v = 100$  (Figs. 2.10 y 2.11) y la Tabla 2.1 resume las métricas resultantes.

## 2.3. Resultados de los ajustes

Como detallamos en la sección 2.2.7, realizamos múltiples ajustes para cada GC probando diferentes valores en una grilla de pesos de regularización y potencial. Para obtener un único conjunto de parámetros para cada GC, priorizamos las métricas de disparos, L y M, por sobre el RECM en el voltaje. Para calcular M generamos para cada ajuste 100 trenes de disparos simulados que contrastamos con los experimentales. Por ello, para cada GC, primero seleccionamos todos los ajustes cuyo M de validación era como mínimo el 95% del mejor valor de M de validación obtenido para la GC. De este conjunto filtrado, elegimos el ajuste para el cual obtuvimos la mayor L sobre los datos de validación, obte-



**Figura 2.11:** Optimización conjunta de todos los parámetros para ajustar el potencial de membrana y los disparos. (a) Efectos del peso  $\alpha_v$  del error en el potencial de membrana sobre la RECM, (b) L y (c) M.

niendo finalmente un único conjunto de parámetros del SRM por GC. Descartamos 5 GCs de este análisis que tuvieron una log-likelihood de validación menor a 0.8 bits/disparo o un M menor a 0.5 ya que no pudimos controlar el sobreajuste para estas GCs debido al ruido presente en los datos de entrenamiento o validación. Finalmente, utilizamos n=20 4wGCs, n=17 5wGCs y n=18 mGCs para el resto del análisis a continuación. En el resto del capítulo, reportamos las métricas de los ajustes resultantes y estudiamos los parámetros obtenidos en relación a las propiedades de las GCs de diferentes edades.

#### 2.3.1. Evaluación de la calidad de los ajustes

La Fig. 2.12 muestra los parámetros del SRM obtenidos para todas las GCs separados por edad. Observamos que hay algunas tendencias con la edad en algunos parámetros

	4w	$5 \mathrm{w}$	m
Entrenamiento	$3.0 \pm 1.0$	$3.4\pm0.9$	$4.0\pm1.0$
Validación	$2.2\pm0.7$	$2.6\pm0.8$	$3.0 \pm 1.0$

**Tabla 2.2:** Valores de L, log-likelihood relativa a un proceso poissoniano con unidades de bits por disparo, para cada grupo etario. Reportamos promedio  $\pm 1$  error estándar.

aunque también exhiben una variabilidad importante. En esta sección nos enfocamos en evaluar la calidad de los ajustes mientras que dejamos la interpretación de los parámetros de cada grupo etario para la sección 2.3.2.

La Fig. 2.13 muestra los valores de las métricas evaluadas, la RECM, L y M para todas las GCs ajustadas. Como era de esperar, las métricas fueron en general peores en los datos de validación ya que estos no fueron usados para ajustar el modelo. La RECM en el potencial de membrana subumbral promedio entre todos los ajustes de las GCs fue  $1.9\pm0.1$ mV y  $2.6\pm0.1$ mV (promedio  $\pm 1$  error estándar) para los datos de entrenamiento y validación respectivamente (Fig. 2.13a). Además, no observamos diferencias entre las RECM de los distintos grupos etarios (Test de Kruskal-Wallis p = 0.13 y p = 0.44 para RECM de entrenamiento y validación respectivamente), indicando que no hay diferencias apreciables en la calidad de la predicción del potencial de membrana subumbral de las GCs de diferente edad.

En cambio, los valores de log-likelihood L (Fig. 2.13b) correlacionaron con la edad de las GCs indicando que, en términos de L, el SRM captura mejor los datos de las GCs más maduras (Correlación de Spearman  $\rho = 0.32$ ,  $p = 1.9 \times 10^{-2}$  en datos de entrenamiento y  $\rho = 0.41$ ,  $p = 1.7 \times 10^{-3}$  en validación). La Tabla 2.2 resume los valores promedio de log-likelihood obtenidos. Sin embargo, para calcular la log-likelihood no generamos datos sintéticos con el modelo y esta cantidad no evalúa la calidad de los datos simulados por el modelo. Para evaluar la calidad de los ajustes para generar datos sintéticos utilizamos M (Ec. 2.27), que estima el promedio de disparos coincidentes normalizado entre los trenes de disparos experimentales y trenes de disparos simulados del modelo. No encontramos diferencias en M entre los diferentes grupos etarios (Test de Kruskal-Wallis p = 0.62), por lo que no habría diferencias en la calidad del SRM como modelo generativo para los diferentes grupos etarios. El valor promedio de M obtenido por las muestras de los ajustes fue  $0.78 \pm 0.01$  (promedio  $\pm 1$  error estándar).

Para ganar intuición sobre la calidad de las muestras generadas con el SRM, podemos calcular también su frecuencia de disparo y su fiabilidad (Ec. 1.16) y comparar estos valores con los obtenidos para los datos experimentales. Vemos que el SRM reproduce en promedio la frecuencia de disparo de la mayoría de las GCs, sin embargo la fiabilidad de los trenes experimentales es mayor a la de los trenes simulados (Fig. 2.14), o sea que los trenes generados por el modelo son más variables que los trenes medidos. Creemos que esto se debe a que la no-linealidad exponencial en  $\lambda(t)$  del SRM no es lo suficientemente empinada como para producir disparos mas precisos. Afortunadamente, hay una fuerte correlación lineal entre las dos fiabilidades (Correlación de Pearson  $\rho = 0.92$ ,  $p = 1.3 \times 10^{-22}$ ), indicando



Figura 2.12: Parámetros del SRM obtenidos para todas las GCs. (a) Parámetros escalares. (b) Filtros.

que las diferencias en fiabilidad entre GCs diferentes están generalmente preservadas en las muestras generadas por el SRM. Además, no observamos diferencias entre los grupos etarios en la diferencia entre la fiabilidad experimental y simulada (Test de Kruskal-Wallis



Figura 2.13: Métricas de los ajustes. (a) RECM. (b) L. (c) M. Los percentiles indicados en los diagramas de caja son 2.5, 25, 50, 75 y 97.5.

p = 0.50). Estos resultados indican que las diferencias en fiabilidad están generalmente preservadas entre las diferentes GCs y grupos etarios por lo que consideramos que las muestras generadas por el SRM son representativas de estas diferencias. En la sección siguiente, analizamos e interpretamos los parámetros obtenidos, mostramos que pueden vincularse a cantidades biofísicas y vemos que son representativos de la edad de las GCs.



Figura 2.14: (a) Frecuencia de disparo y (b) Fiabilidad calculadas simulando trenes de disparos con el SRM vs. las obtenidas con los trenes de disparos experimentales para todas las GCs. Las líneas punteadas representan la identidad, y = x.

#### 2.3.2. Análisis de los parámetros poblacionales

La Fig. 2.15 muestra los valores promedio por grupo etario para los parámetros del SRM. La inspección visual de esta figura, revela que en algunos parámetros, como en el



Figura 2.15: Parámetros poblacionales por grupo etario. Las barras y sombreados representan el promedio  $\pm 1$  error estándar.

filtro k, se distinguen la edad de las GCs. Sin embargo, dada la cantidad de parámetros y que la relación entre ellos no es trivial, esperamos la presencia de compensaciones que pueden complicar el análisis. Entonces empezamos por preguntarnos ¿pueden usarse los parámetros extraídos con el SRM para distinguir la edad de las GCs? ¿qué parámetros son más relevantes? Para responder estas preguntas realizamos un Análisis del Discriminante Lineal [69] (LDA del inglés) utilizando los parámetros escalares  $\{v_b, v_{th}, \Delta v\}$  y los primeros coeficientes de los filtros  $\{k, h_v, h_{th}\}$ . Este análisis asume que para cada grupo etario, los parámetros utilizados salen de distribuciones gaussianas que comparten la misma matriz de covarianza. Luego el LDA encuentra proyecciones lineales de los parámetros en los que los diferentes grupos etarios se separan. Además, es un algoritmo de clasificación que nos permite estimar la edad de una GC a partir de sus parámetros del SRM. La Fig 2.16 muestra todas los parámetros de las GCs proyectadas en este espacio. Vemos que los grupos etarios de separan pero hay solapamiento. Usando el LDA obtuvimos una precisión en la clasificación sobre datos de validación de 65.4 %. Reajustando el modelo a todos los datos obtenemos la Fig. 2.16 donde el 74.5% de las neuronas están correctamente clasificadas. De manera consistente, mientras que el 75% de las 4wGCs y el 89% de las mGCs están correctamente clasificadas, este porcentaje disminuye a 59% para las 5wGCs, que se encuentran en el medio madurativamente. Si nos movemos siguiendo las líneas azules, nos



**Figura 2.16:** Proyección determinada por el Análisis de Discriminante Lineal (LDA) de los parámetros del SRM para cada GC. Las cruces muestran los promedios por grupo etario.



**Figura 2.17:** Coeficientes de cada parámetro de las componentes extraídas del Análisis del Discriminante Lineal (LDA).  $k^j$  representa el coeficiente j del filtro k y lo mismo vale para  $h_v$  y  $h_{th}$  y sus coeficientes.

movemos siguiendo la maduración de las GCs. Vemos que el eje horizontal distingue mejor los tres grupos etarios que el vertical, diferenciando mejor las GCs inmaduras (4wGCs y 5wGCs) de las mGCs. El eje vertical distingue principalmente a las 5wGCs de las 4wGCs y las mGCs.

La Fig. 2.17 muestra el peso de cada parámetro en las componentes del LDA. Vemos que la componente 1, que captura la mayor parte de la varianza, está dominada por los coeficientes del filtro k mientras que en la componente 2 adquieren más importancia  $v_b$ , y las primeras componentes de los filtros  $h_v$  y  $h_{th}$ . El LDA es importante para mostrar que los parámetros del SRM son sensibles a la edad de las GCs y pueden usarse para distinguirlas, con las precisiones reportadas. En lo que sigue interpretamos los parámetros obtenidos.

El filtro k, en modelos y datos como estos, puede aproximarse por la suma de dos decaimientos exponenciales, uno rápido dado por el electrodo y el otro más lento dado por



Figura 2.18: Resistencia eléctrica y constante temporal extraídas del filtro k.

la membrana de la neurona [67]. Ajustando un decaimiento exponencial de la forma

$$f(t) = \frac{R_k}{\tau_k} e^{-t/\tau_k} \tag{2.28}$$

podemos extraer del filtro k una resistencia eléctrica  $R_k$  y una constante temporal de membrana  $\tau_k$  (Fig. 2.18). Esta resistencia y constante de membrana disminuyen con la maduración (Correlación de Spearman edad-resistencia  $\rho = -0.5$ ,  $p = 1.0 \times 10^{-4}$  y edadconstante temporal con bootstrap  $\rho = -0.47$ ,  $p = 1.0 \times 10^{-3}$ ), como la resistencia y constante temporal pasivas (Fig. 1.3). De hecho, las propiedades del filtro k están correlacionadas con las pasivas pero tienden a ser menores (Fig. 2.19). A diferencia de las pasivas, las propiedades extraídas del filtro k son propiedades medidas mientras las GCs están activas disparando potenciales de acción. Consistente con nuestras observaciones, trabajos previos han mostrado que la membrana de las neuronas se vuelve más rápida cuando estas están activas [72].

Los filtros  $h_v$  y  $h_{th}$  cuantifican las deflexiones postdisparo en el potencial de membrana y en el umbral de disparo respectivamente. Calculamos sus amplitudes usando el primer coeficiente de cada filtro (Fig. 2.20). Mientras que las mGCs tienden a hiperpolarizarse luego de un disparo, este efecto fue generalmente más pequeño en las GCs inmaduras (Correlación de Spearman  $\rho = -0.37$ ,  $p = 6.0 \times 10^{-3}$ ). Esta hiperpolarización podría atribuirse a corrientes de potasio que se activan luego de cada disparo, que se ha reportado son más pequeñas en GCs inmaduras [32, 61]. Por otro lado, observamos que el umbral aumenta luego de un disparo para todas las GCs, produciendo un efecto refractario. Sin embargo, la amplitud del filtro  $h_{th}$  fue también mayor para GCs más maduras (Correlación de Spearman  $\rho = -0.35$ ,  $p = 8.1 \times 10^{-3}$ ).

Finalmente, notamos que los parámetros del SRM extraídos pueden usarse para explicar observaciones del capítulo 1. La Fig. 2.21 muestra que la constante temporal de k y la fiabilidad de las GCs están negativamente correlacionadas (Correlación de Spearman  $\rho = -0.61$ ,  $p = 6 \times 10^{-7}$ ). Luego, la membrana de las GCs se vuelve más rápida con la maduración y esto impacta en que la respuesta que producen es más fiable.



Figura 2.19: Relación entre la resistencia eléctrica y constante temporal extraídas del filtro k y utilizando escalones hiperpolarizantes (Fig. 1.3).



**Figura 2.20:** Amplitudes de los filtros  $h_v$  y  $h_{th}$  medidas como el primer coeficiente de cada filtro.

## 2.4. Conclusiones

En este capítulo introdujimos un modelo estadístico, el *Spike Response Model* (SRM), para construir representaciones de las GCs que tienen poder predictivo cuantitativo. Introdujimos la estructura del modelo y diferentes métodos de ajuste y detallamos cómo validamos los ajustes usando diferentes métricas. Luego, mostramos que los parámetros del SRM son representativos de las edades de las GCs, interpretamos los parámetros y analizamos las diferencias entre los diferentes grupos etarios. El SRM reproduce observaciones del capítulo 1, donde vimos que las GCs inmaduras producen respuestas más variables, y nos permite entender que una parte de esta variabilidad se debe a que tienen constantes temporales más lentas.

En el capítulo siguiente, nos basamos en los ajustes del SRM obtenidos para investigar cómo las diferentes GCs representan los estímulos utilizados. Explotando la naturaleza



**Figura 2.21:** Constante temporal de membrana obtenida del filtro k vs. fiabilidad de cada GC (Fig. 1.16).

probabilistica del SRM, utilizamos un formalismo Bayesiano para decodificar estímulos a partir de respuestas neuronales. De esta manera exploramos si las GCs de diferentes edades tienen capacidades distintas para codificar estímulos.

# Capítulo 3 Decodificación de estímulos con GCs maduras e inmaduras

En el capítulo 2 utilizamos el *Spike Response Model* para estudiar cómo las células granulares de diferentes edades transforman un estímulo en una respuesta. En este capítulo, usando los ajustes obtenidos, exploramos el problema inverso. Esto es, dado uno o más trenes de disparo procedentes de una o múltiples neuronas y generados por la misma estimulación, ¿qué podemos decir sobre el estímulo que los produjo? Para responder esta pregunta, utilizamos el SRM para decodificar y reconstruir estímulos a partir de respuestas neuronales. La decodificación nos permite estudiar hasta qué punto y de qué manera el estímulo se preserva en un conjunto de respuestas.

Comenzamos este capítulo introduciendo el formalismo de decodificación Bayesiano utilizando el SRM. Mostramos cómo reconstruir un estímulo a partir de respuestas producidas por este y vemos que también podemos estimar la incerteza en la reconstrucción. Luego introducimos el coeficiente de determinación  $r^2$  y la información mútua, las métricas que utilizaremos para evaluar la calidad de la decodificación a partir de un conjunto de respuestas. Finalmente, utilizamos las respuestas de GCs individuales para la decodificación y de esta manera estudiamos la capacidad de las GCs de diferentes edades para representar estímulos.

### 3.1. Decodificación Bayesiana con modelos

En el capítulo anterior, vimos que dados un estímulo i y parámetros  $\theta$ , podemos escribir la probabilidad  $P(s \mid i; \theta)$  de que el SRM produzca un tren de disparos s (Ec. 2.4). La probabilidad  $P(s \mid i; \theta)$  define un modelo de codificación de un estímulo en trenes de disparos. Al contrario, en este capítulo apuntamos a decodificar el estímulo a partir de uno o más trenes de disparos dados, buscando estimar  $P(i \mid s; \theta)$  (Fig. 3.1) [60]. Si el estímulo es desconocido, este procedimiento permite reconstruirlo para estudiarlo posteriormente. Si el estímulo es conocido, como en nuestro caso de estudio, estudiar la decodificación nos permite entender hasta qué punto y en qué aspectos el estímulo se preserva en la respuesta. De esta manera, la decodificación nos brinda información sobre qué tan bueno



**Figura 3.1:** Diagrama que ilustra la reconstrucción de un estímulo a partir de un conjunto de trenes de disparos generados por este y parámetros que capturan la codificación.

es un proceso de codificación para representar un estímulo.

En lo que sigue, asumimos que  $i(t) = \sigma \eta(t) + \mu$  donde  $\sigma$  y  $\mu$  son conocidos y definen una amplitud y un valor basal respectivamente. De esta manera, toda la estructura temporal queda contenida en  $\eta$  por lo que nos referimos a esta cantidad como estímulo directamente. Dadas una o más respuestas s producidas por un modelo de codificación con parámetros  $\theta$ , toda la información sobre el estímulo  $\eta$  está contenida en la distribución de probabilidad  $P(\eta \mid s; \theta)$ . A partir de esta distribución, podríamos estimar por ejemplo el estímulo promedio y cuantificar la incerteza. Por el teorema de Bayes [69], la distribución *posterior*  $P(\eta \mid s; \theta)$  es

$$P(\boldsymbol{\eta} \mid \boldsymbol{s}; \boldsymbol{\theta}) = \frac{P(\boldsymbol{s} \mid \boldsymbol{\eta}; \boldsymbol{\theta}) P(\boldsymbol{\eta})}{P(\boldsymbol{s} \mid \boldsymbol{\theta})}.$$
(3.1)

Desafortunadamente, para GLMs y en particular para el SRM, el término  $P(\boldsymbol{s} \mid \boldsymbol{\theta})$  no puede escribirse analíticamente y no podemos obtener la distribución  $P(\boldsymbol{\eta} \mid \boldsymbol{s}; \boldsymbol{\theta})$  de manera cerrada. Sin embargo, a continuación mostramos que es posible estimar el máximo o moda de esta distribución,  $\boldsymbol{\eta}_{\text{MAP}}$ . El estímulo  $\boldsymbol{\eta}_{\text{MAP}}$  se denomina *Maximum A Posteriori* y es el estímulo más probable dada la información que tenemos.

En la sección siguiente, mostramos cómo maximizar la distribución posterior  $P(\eta \mid s; \theta)$  para obtener el estímulo más probable  $\eta_{\text{MAP}}$ . Para ello, utilizamos un procedimiento de optimización iterativo por ascenso de gradiente que requiere computar las derivadas de  $P(\eta \mid s; \theta)$  con respecto a  $\eta$ . Además de estimar una reconstrucción del estímulo  $\eta_{\text{MAP}}$ , este formalismo nos permite estimar una medida de la incerteza en nuestra reconstrucción (zona sombreada en el panel inferior de Fig. 3.1) [60]. La incerteza en función del tiempo es grande cuando el algoritmo no puede precisar correctamente la reconstrucción del estímulo. Una vez obtenidas una reconstrucción del estímulo y su incerteza para un conjunto de disparos, mostramos en la sección 3.1.2 que podemos cuantificar la calidad de la representación mediante métricas como el error en la reconstrucción y la información
mútua. A continuación, detallamos cómo optimizamos el *posterior*  $P(\eta \mid s; \theta)$  computando las derivadas necesarias y hallamos la reconstrucción del estímulo  $\eta_{MAP}$  y su incerteza.

#### 3.1.1. Estimación de la reconstrucción del estímulo y su incerteza

Vimos en la sección anterior que no es posible obtener  $P(\boldsymbol{\eta} \mid \boldsymbol{s}; \boldsymbol{\theta})$  (Ec. 3.1) de manera cerrada ya que el término  $P(\boldsymbol{s} \mid \boldsymbol{\theta})$  no puede escribirse analíticamente. Sin embargo, aplicando logaritmo de ambos lados en la Ec. 3.1 obtenemos

$$\log P(\boldsymbol{\eta} \mid \boldsymbol{s}; \boldsymbol{\theta}) = \log P(\boldsymbol{s} \mid \boldsymbol{\eta}; \boldsymbol{\theta}) + \log P(\boldsymbol{\eta}) + \text{constante}$$
(3.2)

donde constante =  $-\log P(\mathbf{s} \mid \boldsymbol{\theta})$  es un término que no depende de  $\boldsymbol{\eta}$ . Luego, la Ec. 3.2 nos dice que dado  $\mathbf{s}$ , si conocemos  $P(\mathbf{s} \mid \boldsymbol{\eta}; \boldsymbol{\theta})$  y asumimos una distribución prior  $P(\boldsymbol{\eta})$ , podemos encontrar el estímulo más probable *a posteriori*  $\boldsymbol{\eta}_{\text{MAP}}$  maximizando la Ec. 3.2 como función de  $\boldsymbol{\eta}$  [60], esto es

$$\boldsymbol{\eta}_{\text{MAP}} = \underset{\boldsymbol{\eta}}{\operatorname{argmax}} \log P(\boldsymbol{\eta} \mid \boldsymbol{s}; \boldsymbol{\theta}) = \underset{\boldsymbol{\eta}}{\operatorname{argmax}} \Big( \log P(\boldsymbol{s} \mid \boldsymbol{\eta}; \boldsymbol{\theta}) + \log P(\boldsymbol{\eta}) \Big).$$
(3.3)

En nuestro trabajo, la likelihood  $P(\boldsymbol{s} \mid \boldsymbol{\eta}; \boldsymbol{\theta})$  es la definida por el SRM (Ec. 2.4) y el prior  $P(\boldsymbol{\eta})$  es una distribución gaussiana multivariada determinada por el proceso de Ornstein-Uhlenbeck que utilizamos (secciones 1.3 y 3.1.1.1). De esta manera, aunque no podemos estimar toda la distribución  $P(\boldsymbol{\eta} \mid \boldsymbol{s}; \boldsymbol{\theta})$  podemos estimar una reconstrucción del estímulo encontrando el estímulo más probable  $\boldsymbol{\eta}_{MAP}$  utilizando métodos de optimización (Fig. 3.1).

Una vez hallada nuestra reconstrucción  $\eta_{MAP}$ , podemos estimar la incerteza sobre ella. Si aproximamos el *posterior* sobre el estímulo por una distribución gaussiana multivariada de media  $\eta_{MAP}$  y matriz de covarianza  $\boldsymbol{C} \in \mathbb{R}^{N \times N}$ , tenemos

$$P(\boldsymbol{\eta} \mid \boldsymbol{s}; \boldsymbol{\theta}) \approx \mathcal{N}(\boldsymbol{\eta}_{\text{MAP}}, \boldsymbol{C}).$$
 (3.4)

Bajo esta aproximación, la matriz de covarianza C contiene toda la información sobre la incerteza de la distribución a medida que nos movemos en el espacio de estímulos  $\eta$ . En particular, la raíz cuadrada de la diagonal de esta matriz es la desviación estándar de la distribución en función del tiempo (zona sombreada en el panel inferior de la Fig. 3.1). Además, bajo la aproximación gaussiana, el determinante de esta matriz está directamente relacionado con la entropía, que puede utilizarse para cuantificar con un único valor la incerteza en la distribución, y también para calcular la información mútua (sección 3.1.2). En la sección 3.1.1.3 detallamos cómo obtener la matriz de covarianza C de la aproximación gaussiana del *posterior* y así estimar la incerteza.

En resumen, el problema de decodificar un estímulo a partir de disparos nos lleva a buscar obtener la distribución  $P(\eta | s; \theta)$ . Esta distribución no puede obtenerse de manera analítica para el SRM, pero podemos obtener su máximo y aproximar su covarianza para estimar el estímulo y su incerteza respectivamente. Para hallar  $\eta_{MAP}$  (Ec. 3.3) y la matriz de covarianza C, necesitamos calcular derivadas del *log-posterior* (Ec. 3.2) con respecto al estímulo  $\boldsymbol{\eta}$ . El log-posterior es la suma de los términos de log-likelihood log  $P(\boldsymbol{s} \mid \boldsymbol{\eta}; \boldsymbol{\theta})$  y log-prior log  $P(\boldsymbol{\eta})$ . En las secciones 3.1.1.1, 3.1.1.2 y 3.1.1.3 mostramos cómo computamos estos términos y sus derivadas y damos detalles computacionales del procedimiento de decodificación.

#### 3.1.1.1. Computación del log-prior y sus derivadas †

En esta sección, detallamos cómo escribir y computar log  $P(\boldsymbol{\eta})$  (Ec. 3.2), el *log-prior* del estímulo utilizado. Vimos en la sección 1.3, Ec. 1.3, que el valor de  $\eta(t + \Delta t)$  sale de una distribución gaussiana determinada por el valor de  $\eta(t)$ , específicamente

$$P(\eta(t+\Delta t) \mid \eta(t)) = \mathcal{N}(\beta\eta(t), 1-\beta^2) = \frac{1}{\sqrt{2\pi(1-\beta^2)}} \exp\left(\frac{\left(\eta(t+\Delta t) - \beta\eta(t)\right)^2}{2(1-\beta^2)}\right)$$

con $\beta=e^{-\Delta t/\tau}.$ Luego, podemos componer la probabilidad sobre toda la serie temporal $\pmb{\eta}$  como

$$P(\boldsymbol{\eta}) = P(\eta(0), \eta(1), ..., \eta(T)) = P(\eta(0)) \prod_{t=0}^{T-\Delta t} P(\eta(t+\Delta t) \mid \eta(t)).$$
(3.5)

Tomando logaritmo, tenemos

$$\log P(\boldsymbol{\eta}) = \log P(\eta(0)) + \sum_{t=0}^{T-\Delta t} \log P(\eta(t+\Delta t) \mid \eta(t))$$
  
=  $-\frac{1}{2}\eta(0)^2 - \frac{1}{2(1-\beta^2)} \sum_{t=0}^{T-\Delta t} \left(\eta(t+\Delta t) - \beta\eta(t)\right)^2 + \text{constante}(\boldsymbol{\eta})$  (3.6)

donde usamos que  $P(\eta(0)) = \mathcal{N}(0,1)$  y constante $(\boldsymbol{\eta})$  son términos que no dependen de ningún valor de  $\eta(t)$ . Notamos que al ser una composición de distribuciones gaussianas (Ec. 3.5),  $P(\boldsymbol{\eta})$  resulta en una distribución gaussiana multivariada [69]. Luego, log  $P(\boldsymbol{\eta})$ puede escribirse como

$$\log P(\boldsymbol{\eta}) = -\frac{1}{2}\boldsymbol{\eta}^T \boldsymbol{\Lambda} \boldsymbol{\eta} + \text{constante}(\boldsymbol{\eta})$$
(3.7)

donde  $\Lambda$  es la matriz de precisión de la gaussiana, la inversa de su matriz de covarianza  $\Sigma$ . Inspeccionando la Ec. 3.6, vemos que  $\Lambda$  es la matriz simétrica tridiagonal definida por

$$\Lambda_{ij} = \frac{1}{1 - \beta^2} \cdot \begin{cases} 1 & \text{si } i = j = 1 \text{ o } i = j = N \\ 1 + \beta^2 & \text{si } i = j \text{ con } 1 < i < N \\ -\beta & \text{si } |i - j| = 1 \\ 0 & \text{en otro caso.} \end{cases}$$
(3.8)

Calculamos el gradiente y la matriz hessiana de log  $P(\eta)$  con respecto a  $\eta$  y obtenemos

$$\nabla_{\boldsymbol{\eta}} \log P(\boldsymbol{\eta}) = -\boldsymbol{\Lambda}\boldsymbol{\eta}$$
  
$$\nabla_{\boldsymbol{\eta}} (\nabla_{\boldsymbol{\eta}} \log P(\boldsymbol{\eta})) = -\boldsymbol{\Lambda}$$
(3.9)

Usaremos estas expresiones, junto con las derivadas del término  $\log P(\boldsymbol{s} \mid \boldsymbol{\eta}; \boldsymbol{\theta})$ , para hallar el  $\boldsymbol{\eta}$  óptimo iterativamente. Notamos que la matriz hessiana de  $\log P(\boldsymbol{\eta})$  no depende de  $\boldsymbol{\eta}$  y luego podemos computarla una única vez antes de comenzar la optimización. A continuación, mostramos como calcular las derivadas del término  $\log P(\boldsymbol{s} \mid \boldsymbol{\eta}; \boldsymbol{\theta})$  respecto de  $\boldsymbol{\eta}$ .

#### 3.1.1.2. Computación del término de la log-likelihood y sus derivadas †

El término log  $P(\boldsymbol{s} \mid \boldsymbol{\eta}; \boldsymbol{\theta})$  está dado por (Ec. 2.13)

$$\log P(\boldsymbol{s} \mid \boldsymbol{\eta}; \boldsymbol{\theta}) = \sum_{t_d \in D} \log \lambda(t_d) - \Delta t \sum_{t=0}^T \lambda(t)$$
(3.10)

con

$$\lambda(t) = \exp\left(\left(v_b + \int_0^t k(u)(\sigma\eta(t-u) + \mu)du + \sum_{t_d \in D} h_v(t-t_d) - v_{th}(t)\right)/\Delta v\right)$$
(3.11)

$$= \exp\left(\frac{\Delta t}{\Delta v}\sigma\sum_{u=0}^{t}k(u)\eta(t-u) + \bar{h}(t)\right)$$
(3.12)

donde  $\bar{h}(t)$  nuclea todos los términos que no dependen del estímulo  $\eta(t)$  y notamos que  $\lambda(t)$  depende solo de valores pasados del estímulo. Las derivadas de log  $P(\boldsymbol{\eta} \mid \boldsymbol{s}; \boldsymbol{\theta})$  pueden escribirse usando correlaciones cruzadas,

$$\frac{\partial \log P(\boldsymbol{s} \mid \boldsymbol{\eta}; \boldsymbol{\theta})}{\partial i(w)} = \frac{\Delta t}{\Delta v} \sum_{t_d \in D} k(t_d - w) - \frac{\Delta t^2}{\Delta v} (k \star \lambda)(w)$$
$$H^{\text{like}}(u, w) := \frac{\partial^2 \log P(\boldsymbol{s} \mid \boldsymbol{\eta}; \boldsymbol{\theta})}{\partial i(u) \partial i(w)} = -\frac{\Delta t^3}{\Delta v^2} (K(u - w) \star \lambda)(u)$$
(3.13)  
con  $K(t, u - w) = k(t)k(t + u - w) \text{ y } u \ge w$ 

donde el símbolo  $\star$  representa la correlación cruzada y  $H^{\text{like}}(u, w) = H^{\text{like}}(w, u)$ . Si redefinimos w = u - d, podemos escribir  $H^{\text{like}}$  en términos de sus diagonales. Así, d determina el número de diagonal con d = 0 la diagonal principal, d = 1 la primera diagonal inferior, d = 2 la segunda, etc. Tenemos entonces

$$H^{\text{like}}(u, u - d) = -\frac{\Delta t^3}{\Delta v^2} (K(d) \star \lambda)(u)$$
con  $K(t, d) = k(t)k(t + d) \text{ y } d \ge 0$ 
(3.14)

Para un filtro k(t) plausible biológicamente,  $k(t) \to 0$  para valores grandes de t ya que la escala temporal de integración del filtro debe ser finita. En la práctica, el filtro k(t) tiene un soporte  $[0, T_k]$  con k(t) = 0 para  $t > T_k$ . Luego para  $d > T_k$ , tenemos K(t, d) = 0,  $H^{\text{like}}(u, u - d) = 0$  y  $H^{\text{like}}$  es una matriz D-banda, con valores no nulos únicamente en las D diagonales alrededor de la diagonal principal. Esto tiene consecuencias en la eficiencia de la computación como veremos en lo que sigue.

## 3.1.1.3. Computación del log-posterior, optimización y estimación de la incerteza $\dagger$

En nuestros experimentos, vimos que utilizando un único estímulo  $\eta$ , inyectamos diferentes GCs con corrientes de estimulación de la forma  $i^k = \sigma^k \eta + \mu^k$ , adaptando el valor medio  $\mu^k$  y la amplitud  $\sigma^k$  a la GC k. Nos interesa, a partir de un conjunto de respuestas  $\{s^k\}$ , decodificar un único estímulo  $\eta$  asumiendo conocidos los  $\mu^k$  y  $\sigma^k$ . Como los registros son independientes, la probabilidad conjunta de observar estas respuestas es el producto de las probabilidades individuales y el *log-posterior* de la Ec. 3.2 resulta

$$\log P(\boldsymbol{\eta} \mid \{\boldsymbol{s}^k\}; \{\boldsymbol{\theta}^k\}) = \sum_k \log P(\boldsymbol{s}^k \mid \boldsymbol{\eta}; \boldsymbol{\theta}^k) + \log P(\boldsymbol{\eta}) + \text{constante}(\boldsymbol{\eta}).$$
(3.15)

Luego, las derivadas de los términos  $\log P(s^k | \eta; \theta^k)$  se computan de manera independiente como indicamos en la sección 3.1.1.2. De esta manera, podemos juntar múltiples respuestas de una o varias GCs para decodificar un único estímulo subyacente  $\eta$ .

Vimos que para el SRM,  $\log P(\boldsymbol{s} \mid \boldsymbol{\eta}; \boldsymbol{\theta})$  es cóncava como función de los parámetros  $\boldsymbol{\theta}$ , por lo que podíamos encontrar el único conjunto de parámetros que maximiza la *log-likelihood* por optimización numérica [68]. Análogamente,  $\log P(\boldsymbol{s} \mid \boldsymbol{\eta}; \boldsymbol{\theta})$  con parámetros  $\boldsymbol{\theta}$  fijos, es cóncava como función del estímulo  $\boldsymbol{\eta}$ . Luego si  $\log P(\boldsymbol{\eta})$  es cóncavo también,  $\log P(\boldsymbol{\eta} \mid \boldsymbol{s}; \boldsymbol{\theta})$  es cóncavo en  $\boldsymbol{\eta}$  por ser suma de funciones cóncavas y tiene un único máximo global  $\boldsymbol{\eta}_{\text{MAP}}$  [60]. Entonces, sumando las derivadas del *log-prior* (Ec. 3.9) y los términos de log-likelihood de cada neurona (Ec. 3.14), obtenemos finalmente el gradiente  $\boldsymbol{g}$  y la matriz hessiana  $\boldsymbol{H}$  del *log-posterior*  $\log P(\boldsymbol{\eta} \mid \{\boldsymbol{s}^k\}; \{\boldsymbol{\theta}^k\})$ . Luego, podemos inicializar la optimización en  $\boldsymbol{\eta}^0 = \boldsymbol{0}$  y maximizar el *log-posterior* de manera iterativa haciendo

$$\boldsymbol{\eta}^{n+1} = \boldsymbol{\eta}^n - \gamma \boldsymbol{H}^{-1} \boldsymbol{g} \tag{3.16}$$

donde  $\gamma$  es la taza de aprendizaje del proceso de optimización. Iteramos hasta que el aumento en el *log-posterior* está por debajo de un umbral pequeño y tomamos el estímulo encontrado como  $\eta_{MAP}$ .

Una vez encontrado  $\eta_{\text{MAP}}$ , vimos que podemos estimar la incerteza sobre nuestra reconstrucción del estímulo aproximando el *posterior* por una distribución gaussiana multivariada de media  $\eta_{\text{MAP}}$  y matriz de covarianza  $\boldsymbol{C} \in \mathbb{R}^{N \times N}$ , esto es  $P(\boldsymbol{\eta} \mid \boldsymbol{s}; \boldsymbol{\theta}) \approx$  $\mathcal{N}(\boldsymbol{\eta}_{\text{MAP}}, \boldsymbol{C})$  [60]. Para obtener  $\boldsymbol{C}$ , notamos que si  $P(\boldsymbol{\eta} \mid \boldsymbol{s}; \boldsymbol{\theta}) \approx \mathcal{N}(\boldsymbol{\eta}_{\text{MAP}}, \boldsymbol{C})$ , entonces

$$\log P(\boldsymbol{\eta} \mid \boldsymbol{s}; \boldsymbol{\theta}) \approx -\frac{1}{2} (\boldsymbol{\eta} - \boldsymbol{\eta}_{\text{MAP}})^T \boldsymbol{C}^{-1} (\boldsymbol{\eta} - \boldsymbol{\eta}_{\text{MAP}}) - \frac{1}{2} \log \left[ (2\pi)^N |\boldsymbol{C}| \right]$$
(3.17)

donde |C| es el determinante de la matriz y N es la dimensión del estímulo o número de puntos en la serie temporal. Calculando derivadas de segundo orden con respecto a  $\eta$ , vemos que

$$\nabla_{\boldsymbol{\eta}} \left[ \nabla_{\boldsymbol{\eta}} \log P(\boldsymbol{\eta} \mid \boldsymbol{s}; \boldsymbol{\theta}) \right] = -\boldsymbol{C}^{-1} = \boldsymbol{H}, \qquad (3.18)$$

o sea que podemos obtener la inversa de la matriz de covarianza C a partir de la matriz hessiana del *log-posterior*  $\nabla_{\eta} [\nabla_{\eta} \log P(\eta \mid s; \theta)]$ . Luego, la matriz  $C = -H^{-1}$  es la matriz de covarianza de la aproximación gaussiana y la usaremos para representar la incerteza sobre nuestra estimación. Finalmente, notamos que dado que las matrices hessianas de la *log-likelihood* y del *log-prior* son matrices bandas, simétricas y semidefinidas negativas, la matriz hessiana del *log-posterior* también lo es. Luego,  $-\mathbf{H}$  admite una factorización de Cholesky  $-\mathbf{H} = \mathbf{L}\mathbf{L}^T$  donde  $\mathbf{L}$  es una matriz triangular inferior. Usamos esta descomposición junto con las propiedades banda de  $\mathbf{H}$  para ahorrar memoria y realizar cálculos que involucran a  $\mathbf{H}$  de manera eficiente (detalles en el apéndice B).

#### 3.1.2. Métricas de decodificación. Coeficiente de determinación $r^2$ e información mutua

Cuantificar la performance de la decodificación nos permite comparar la precisión obtenida usando diferentes GCs individuales o poblaciones. Una vez realizada la estimación de  $\eta_{MAP}$ , como tenemos acceso al estímulo que produjo los trenes de disparos  $\eta_{data}$ , podemos calcular directamente métricas del error cometido en la estimación. Calculamos el error cuadrático medio (ECM) como

$$\operatorname{ECM}(\boldsymbol{\eta}_{\mathrm{MAP}}, \boldsymbol{\eta}_{\mathrm{data}})^{=} \frac{1}{N} \|\boldsymbol{\eta}_{\mathrm{MAP}} - \boldsymbol{\eta}_{\mathrm{data}}\|^{2}$$
$$= \frac{1}{N} \sum_{t=0}^{T} \left(\eta_{\mathrm{MAP}}(t) - \eta_{\mathrm{data}}(t)\right)^{2}.$$
(3.19)

A partir del ECM, computamos el coeficiente de determinación

$$r^{2} = 1 - \frac{\|\boldsymbol{\eta}_{\text{MAP}} - \boldsymbol{\eta}_{\text{data}}\|^{2}}{\|\bar{\eta}_{\text{data}} - \boldsymbol{\eta}_{\text{data}}\|^{2}} = 1 - \frac{\text{ECM}(\boldsymbol{\eta}_{\text{MAP}}, \boldsymbol{\eta}_{\text{data}})}{\text{Var}(\boldsymbol{\eta}_{\text{data}})}$$
(3.20)

donde  $\bar{\eta}_{data}$  es el promedio a lo largo del tiempo de  $\eta_{data}$ . Luego  $r^2$  compara el error en la predicción con el error al predecir el valor medio para todo tiempo. Como el error en el denominador es la varianza de la señal,  $r^2$  mide la fracción de varianza capturada por la predicción. Si la predicción es perfecta tenemos  $r^2 = 1$  y valores menores indican una predicción inferior. Si  $r^2 = 0$  el error en la predicción es equivalente al error al predecir el valor medio para todo tiempo.

El procedimiento de decodificación utilizado también puede usarse para estimar la información mútua entre el estímulo y los trenes de disparos,  $I(\boldsymbol{\eta}; \boldsymbol{s})$  [60]. En la sección 3.1.3, mostramos cómo calcular la entropía de la distribución de estímulos  $H(\boldsymbol{\eta})$ , la entropía residual  $H(\boldsymbol{\eta} \mid \boldsymbol{s} = \boldsymbol{s}')$  y la entropía condicional  $H(\boldsymbol{\eta} \mid \boldsymbol{s})$ . La entropía  $H(\boldsymbol{\eta})$  es una medida de la incerteza en la distribución *prior* de estímulos  $P(\boldsymbol{\eta})$ . La entropía residual  $H(\boldsymbol{\eta} \mid \boldsymbol{s} = \boldsymbol{s}')$  mide la incerteza residual sobre el estímulo si observamos uno o más trenes de disparos específicos  $\boldsymbol{s}'$ . Por último, la entropía condicional  $H(\boldsymbol{\eta} \mid \boldsymbol{s})$  estima la incerteza sobre el estímulo que tenemos si observamos uno o más trenes de disparos inespecíficos generados por algún estímulo. La información mútua resulta entonces

$$I(\boldsymbol{\eta}; \boldsymbol{s}) = H(\boldsymbol{\eta}) - H(\boldsymbol{\eta} \mid \boldsymbol{s})$$
(3.21)

y puede interpretarse como la reducción en incerteza sobre el estímulo al observar trenes de disparos. Luego  $I(\eta; s) = 0$  si el estímulo y los disparos son independientes y es mayor cuanto mayor sea la dependencia entre ellos.

La información mútua no evalúa un error de reconstrucción sino que mide el nivel de correspondencia o dependencia entre las dos series temporales [73]. Específicamente, suponiendo que el estímulo es una variable aleatoria generada por una distribución de probabilidad, la información mútua cuantifica la cantidad de información promedio que obtenemos sobre el estímulo al observar trenes de disparos producidos por este. Esto es equivalente a la información sobre los disparos al observar el estímulo ya que es una medida simétrica y  $I(\eta; s) = I(s; \eta)$ .

#### 3.1.3. Calculando la información mutua †

Podemos calcular la entropía de la distribución del estímulo  $P(\boldsymbol{\eta})$  como

$$H(\boldsymbol{\eta}) = -\int P(\boldsymbol{\eta}) \log P(\boldsymbol{\eta}) \, d\boldsymbol{\eta}$$
(3.22)

donde la integral es sobre todos los valores posibles. La entropía mide la incerteza o cantidad de información que hay en las muestras de la variable aleatoria. Sus unidades dependen de la base del logaritmo, si la base es 2 tiene unidades de bits [73]. Si observamos uno o más trenes de disparos particulares s', podemos cuantificar la incerteza o entropía residual sobre  $\eta$  dados los trenes

$$H(\boldsymbol{\eta} \mid \boldsymbol{s} = \boldsymbol{s}') = -\int P(\boldsymbol{\eta} \mid \boldsymbol{s} = \boldsymbol{s}') \log P(\boldsymbol{\eta} \mid \boldsymbol{s} = \boldsymbol{s}') d\boldsymbol{\eta}.$$
(3.23)

La entropía condicional  $H(\eta | s)$  mide la incerteza promedio sobre el estímulo al observar trenes de disparos generados por su distribución P(s),

$$H(\boldsymbol{\eta} \mid \boldsymbol{s}) = \int P(\boldsymbol{s}')H(\boldsymbol{\eta} \mid \boldsymbol{s} = \boldsymbol{s}') \, d\boldsymbol{s}'$$
$$= -\int d\boldsymbol{s} \int d\boldsymbol{\eta} \, P(\boldsymbol{\eta}, \boldsymbol{s}) \log P(\boldsymbol{\eta} \mid \boldsymbol{s}). \tag{3.24}$$

Finalmente, la información mútua es

$$I(\boldsymbol{\eta}; \boldsymbol{s}) = H(\boldsymbol{\eta}) - H(\boldsymbol{\eta} \mid \boldsymbol{s})$$
(3.25)

y mide la ganancia en información o reducción en incerteza sobre la variable  $\eta$  al observar la variable s.

Luego, para computar  $I(\boldsymbol{\eta}; \boldsymbol{s})$  calculamos  $H(\boldsymbol{\eta})$  y  $H(\boldsymbol{\eta} \mid \boldsymbol{s})$ . En nuestro caso de estudio, vimos que para los estímulos utilizados,  $P(\boldsymbol{\eta}) = \mathcal{N}(\mathbf{0}, \boldsymbol{\Sigma})$  es una distribución gaussiana multivariada de media 0 y matriz de covarianza  $\boldsymbol{\Sigma}$ . Su entropía se calcula analíticamente resolviendo la integral de la Ec. 3.22 y resulta

$$H(\boldsymbol{\eta}) = \log \sqrt{(2\pi e)^N |\boldsymbol{\Sigma}|} = \frac{1}{2} \log |\boldsymbol{\Sigma}| + \frac{N}{2} \log(2\pi e)$$
(3.26)

donde N es el número de puntos en la serie  $\boldsymbol{\eta}$  y  $|\boldsymbol{\Sigma}|$  es el determinante de la matriz de covarianza  $\boldsymbol{\Sigma}$ . Desafortunadamente, no podemos estimar  $H(\boldsymbol{\eta} \mid \boldsymbol{s} = \boldsymbol{s}')$  ni  $H(\boldsymbol{\eta} \mid \boldsymbol{s})$ analíticamente por lo que debemos hacer uso de nuestra aproximación gaussiana del *posterior* (Ec. 3.17) [60]. Dada una instancia particular de  $\boldsymbol{\eta}$  y un conjunto de disparos producidos  $\boldsymbol{s}'$  describimos previamente como obtener la reconstrucción  $\boldsymbol{\eta}_{\text{MAP}}$  y vimos que podíamos aproximar  $P(\boldsymbol{\eta} \mid \boldsymbol{s}') \approx \mathcal{N}(\boldsymbol{\eta}_{\text{MAP}}, \boldsymbol{C})$ . Bajo esta aproximación, podemos calcular  $H(\boldsymbol{\eta} \mid \boldsymbol{s} = \boldsymbol{s}')$  haciendo uso nuevamente de la entropía de una gaussiana (Ec. 3.26),

$$H(\boldsymbol{\eta} \mid \boldsymbol{s} = \boldsymbol{s}') \approx \frac{1}{2} \log |\boldsymbol{C}| + \frac{N}{2} \log(2\pi e).$$
(3.27)

Esta entropía puede calcularse utilizando el estímulo experimental y los trenes de disparos registrados. La información mútua, en cambio, precisa  $H(\eta \mid s)$ , que requiere promediar  $H(\eta \mid s = s')$  sobre la distribución de trenes de disparos s generados ante diferentes estímulos (Ec. 3.24). Luego, no podemos calcular la información mútua usando únicamente los datos experimentales y la estimamos generando con el SRM respuestas s a partir de estímulos muestreados de la distribución  $P(\eta)$ , generados a partir del proceso de Ornstein-Uhlenbeck como describimos en la seccion 1.3. Entonces, para calcular la información mútua generamos K estímulos  $\eta^k$  y respuestas del SRM  $s^k$ . Para cada  $s^k$ , estimamos  $\eta_{\text{MAP}}$  y  $H(\eta \mid s = s')$  haciendo uso de la aproximación gaussiana (Ec. 3.27). Luego estimamos la entropía condicional como un promedio sobre las muestras

$$H(\boldsymbol{\eta} \mid \boldsymbol{s}) = \int P(\boldsymbol{s}') H(\boldsymbol{\eta} \mid \boldsymbol{s} = \boldsymbol{s}') \, d\boldsymbol{s}' \approx \frac{1}{K} \sum_{k=1}^{K} H(\boldsymbol{\eta} \mid \boldsymbol{s} = \boldsymbol{s}^k)$$
(3.28)

y calculamos  $I(\eta; s)$  usando la Ec. 3.21. A lo largo de esta sección utilizamos s para referirnos a uno o más trenes de disparos. s puede representar un único tren de disparos proveniente de una única neurona o múltiples trenes de una o varias neuronas producidos por el mismo estímulo. De esta manera, podemos reconstruir un único estímulo utilizando múltiples neuronas y, repitiendo esta reconstrucción K veces, calcular la información mútua entre el estímulo y los conjuntos de trenes de disparos de todas las neuronas utilizadas. En lo que sigue de este capítulo, siempre utilizaremos neuronas individuales para reconstruir el estímulo. De esta manera podemos explorar la capacidad de las células granulares individuales de diferentes edades para realizar la decodificación. Realizamos la decodificación utilizando múltiples GCs en el capítulo 4.

#### 3.2. Decodificando con GCs individuales

Como vimos, podemos realizar la decodificación de un estímulo utilizando múltiples trenes de disparos generados por diferentes neuronas, siempre y cuando todos hayan sido generados por el mismo estímulo. En esta sección, empezamos por decodificar estímulos utilizando GCs individuales. De esta manera podemos evaluar qué tan buena es la codificación de estímulos que realizan las GCs de diferentes edades. Entonces, nos preguntamos ¿hay diferencias en cómo las GCs de diferentes edades representan un dado estímulo?, si las hay, ¿a qué edad preservan las GCs individuales mejor estos estímulos?



Figura 3.2: Decodificación de un estímulo usando trenes de disparos inviduales de una mGC (negro) y una 4wGC (naranja). Arriba: Trenes de disparos medidos en una 4wGC y una mGC usados de manera independiente para decodificar el mismo estímulo. Medio: Estímulo utilizado en el experimento para evocar las respuestas (azul) y estimaciones  $\eta_{MAP}$  obtenidas con cada GC por separado. Abajo: Incerteza sobre la estimación en función del tiempo para cada decodificación calculada como diag $(C)^{1/2}$  (Ec. 3.17).

#### 3.2.1. Decodificación con GCs individuales utilizando los estímulos y trenes de disparos medidos experimentalmente

En esta sección, utilizamos los trenes de disparos medidos experimentalmente en GCs individuales para estimar el estímulo que los produjo. De esta manera, para realizar la decodificación necesitamos del SRM y los parámetros que obtuvimos para cada GC pero no necesitamos generar estímulos ni simular trenes de disparos nuevos. Este procedimiento podría presentar el problema de que los resultados obtenidos dependan particularmente del estímulo utilizado experimentalmente y no generalicen al uso de otros estímulos diferentes pero generados de la misma distribución. En la sección 3.2.2, generamos nuevos estímulos y trenes de disparos para evitar esto y poder hacer estadística sobre las métricas computadas.

La Fig. 3.2 muestra dos ejemplos del procedimiento de decodificación utilizando GCs individuales, una 4wGC y una mGC. Vemos que en los intervalos con ausencia de disparos, al no tener ninguna información sobre el estímulo, la estimación queda determinada por el *prior*; la reconstrucción vale aproximadamente 0 y la incerteza es máxima, aproximadamente 1. Justo antes de un disparo aislado, la decodificación predice que el estímulo está por arriba de la media y la incerteza se reduce. Dado que GCs individuales exhiben disparos en una fracción pequeña de toda la serie temporal, los estímulos reconstruidos no logran reproducir la mayor parte de la estructura del estímulo original, ya que la reconstrucción depende fuertemente de la presencia de disparos. Sin embargo, incluso con trenes individuales, podemos observar diferencias entre las distintas GCs. En el capítu-



Figura 3.3: Incerteza promedio sobre el estímulo previa al disparo a retardo 0.

lo 4 exploramos cómo la decodificación utilizando pares y poblaciones de GCs mejora la reconstrucción de los estímulos.

Realizamos la decodificación del estímulo utilizando de manera separada cada GC en la que obtuvimos los parámetros del SRM en el capítulo anterior (4wGCs n=20, 5wGCs n=17 y mGCs n=18). Usamos los registros de 10 s y 9 repeticiones que utilizamos para validar los ajustes y realizamos la decodificación para el tren de cada repetición por separado. Comenzamos por estudiar la reducción en la incerteza por la presencia de disparos para las GCs de diferente edad (panel inferior Fig. 3.2). Para ello, alineamos los valores de incerteza previos a cada disparo y realizamos el promedio sobre disparos y GCs para cada grupo etario (Fig. 3.3). Encontramos que la incerteza previa al disparo sobre la reconstrucción se reduce más en las GCs más maduras (Correlación de Spearman en el mínimo de incerteza,  $\rho = -0.51, p = 6.0 \times 10^{-5}$ ).

Para cuantificar la performance de las decodificaciones, calculamos el  $r^2$  (Ec. 3.20) y la entropía residual (Ec. 3.23) promedio sobre las 9 repeticiones. Como el estímulo utilizado en las repeticiones del registro experimental es siempre el mismo, podemos calcular la entropía residual  $H(\boldsymbol{\eta} \mid \boldsymbol{s} = \boldsymbol{s}')$  pero no la entropía condicional  $H(\boldsymbol{\eta} \mid \boldsymbol{s})$  ni la información mútua ya que estas cantidades requieren respuestas ante estímulos diferentes de la distribución  $P(\boldsymbol{\eta})$ . Mientras que el  $r^2$  es una medida de la precisión de la reconstrucción, con  $r^2 =$ 1 la reconstrucción es perfecta, la entropía residual es una medida de la incerteza que tenemos sobre el estímulo al observar los trenes de disparos utilizados en la decodificación. Menor entropía residual significa menor incerteza sobre el estímulo y por ende una mejor decodificación. Como podíamos esperar, tanto el  $r^2$  como la entropía residual mostraron una fuerte correlación con la frecuencia de disparo de las GCs, que determina el número de disparos en los registros de duración fija (Fig. 3.4; correlación de Pearson,  $\rho = 0.82$ , p = $1.0 \times 10^{-14}$  y  $\rho = -0.81$ ,  $p = 6.4 \times 10^{-14}$  respectively. Para comparar la performance de la decodificación utilizando GCs de diferentes edades, quisimos independizarnos del efecto de la frecuencia de disparo sobre ella. Entonces, realizamos una regresión lineal del  $r^2$  y la entropía residual vs. la frecuencia de disparo utilizando todas las GCs (rectas azules



Figura 3.4: (a)  $r^2$  y (b) entropía residual promedio decodificando con los trenes experimentales vs. frecuencia de disparo. Las rectas azules son los ajustes lineales correspondientes utilizando todas las GCs.

en la Fig. 3.4) y sustrajimos las relaciones lineales encontradas de las performances de cada GC para obtener los residuos (Figs. 3.5a, 3.5c). De esta manera, evaluamos dada una frecuencia de disparo, qué tanto por arriba de la media poblacional está cada GC. Hallamos una correlación positiva entre la edad y los residuos del  $r^2$  y una correlación negativa entre la edad y la entropía residual (Correlación de Spearman  $\rho = 0.33$ ,  $p = 1.3 \times 10^{-2}$  y  $\rho = -0.42$ ,  $p = 1.3 \times 10^{-3}$  respectivamente). Estos resultados sugieren que, dada una frecuencia de disparo, las GCs más maduras tienden a exhibir mejores performances en la decodificación, tanto en una mejor capacidad para reconstruir el estímulo como en una menor incerteza sobre esta reconstrucción.

Estos resultados sugieren que las GCs maduras tienden a representar mejor el estímulo experimental utilizado. No obstante, no podemos descartar que las diferencias observadas sean particulares al estímulo usado en el experimento y no sean generalizables a otros estímulos generados del mismo proceso de Ornstein-Uhlenbeck. Por otra parte, la decodificación en esta sección fue realizada utilizando siempre trenes de disparos individuales, aunque la repetimos para cada repetición en el registro. La respuesta de las neuronas es ruidosa, si inyectamos dos veces el mismo estímulo habrá una variabilidad en la respuesta que cuantificamos usando la fiabilidad en el capítulo 1. En el contexto de la decodificación, esto quiere decir que podemos ganar información y mejorar la performance si decodificamos un único estímulo a partir de múltiples respuestas de una única neurona. En la sección siguiente, generamos múltiples estímulos de la distribución  $P(\eta)$  y simulamos un número variable de respuestas utilizando el SRM, que luego usamos para decodificar.



Figura 3.5: (a) Residuos en  $r^2$  al sustraer la relación lineal con la frecuencia de disparo mostrada en la Fig. 3.4a. (b) Residuos en el  $r^2$  para los diferentes grupos etarios. (c) Residuos en la entropía residual al sustraer la relación lineal con la frecuencia de disparo mostrada en la Fig. 3.4b. (d) Residuos en la entropía residual para los diferentes grupos etarios. Al sustraer las relaciones lineales de la Fig. 3.4 las rectas azules son ahora y = 0.

#### 3.2.2. Decodificación generando nuevos estímulos y empleando simulaciones de GCs individuales

En esta sección, generamos estímulos nuevos, simulamos respuestas de GCs individuales y las utilizamos para decodificar el estímulo original (Fig. 3.6). A diferencia de en la Fig. 3.2, aquí generamos un nuevo estímulo, lo utilizamos para simular respuestas del SRM



**Figura 3.6:** Decodificación de un estímulo usando trenes de disparos inviduales de una mGC (negro) y una 4wGC (naranja). A diferencia de la Fig. 3.2, aquí los trenes de disparos son generados con el SRM utilizando el estímulo (línea azul). Arriba: Trenes de disparos simulados en una 4wGC y una mGC usados de manera independiente para decodificar el mismo estímulo. Medio: Estímulo utilizado en la simulación para evocar las respuestas (azul) y estimaciones  $\eta_{MAP}$  obtenidas con cada GC por separado. Abajo: Incerteza sobre la estimación en función del tiempo para cada decodificación calculada como diag(C)<sup>1/2</sup> (Ec. 3.17).

de cada GC y utilizamos las respuestas simuladas para realizar la decodificación. Generamos los nuevos estímulos tomando 100 muestras de un proceso de Ornstein-Uhlenbeck de 10 s de duración y de constante temporal  $\tau = 3$  ms, como describimos en la sección 1.3. De esta manera, los nuevos estímulos generados aquí provienen de la misma distribución de estímulos que los utilizados experimentalmente para estimular a las GCs, ajustar el SRM y decodificar en la sección anterior. Para cada estímulo generado, simulamos 100 trenes de disparos de cada GC y los utilizamos para realizar decodificaciones independientes. Ahora, cuantificamos la performance de la reconstrucción realizada por cada GC calculando el  $r^2$ promedio sobre todos los estímulos generados y reconstruidos. Además, dado que utilizamos múltiples estímulos de la distribución  $P(\eta)$ , podemos calcular la información mútua entre el estímulo y la respuesta de cada GC (sección 3.1.2). Igual que en la sección anterior, tanto el  $r^2$  como la información mútua mostraron una alta correlación lineal con la frecuencia de disparo (Fig. 3.7; correlación de Pearson  $\rho = 0.93$ ,  $p = 3.6 \times 10^{-25}$  y  $\rho = 0.91$ ,  $p = 2.4 \times 10^{-22}$  respectivamente). Nuevamente, para sustraer la influencia promedio de la frecuencia en la performance de la decodificación, realizamos una regresión lineal del  $r^2$  y la información mútua vs. la frecuencia de disparo utilizando todas las GCs y sustrajimos las relaciones lineales encontradas de las performances de cada GC para obtener los residuos (Figs. 3.8a, 3.8c). Hallamos que los residuos en  $r^2$  y la información mútua correlacionan con la edad de las GCs, indicando que las GCs más maduras tienden a producir mejores performances de decodificación para una misma frecuencia de disparo (Figs. 3.8b, 3.8d; correlación de Spearman  $\rho = 0.39$ ,  $p = 2.9 \times 10^{-3}$  y  $\rho = 0.38$ ,  $p = 3.8 \times 10^{-3}$ ).



Figura 3.7: (a)  $r^2$  promedio y (b) información mútua entre estímulo y disparos vs. frecuencia de disparo utilizando trenes individuales en la decodificación. Las rectas azules son ajustes lineales de las respectivas relaciones utilizando todas las GCs.

A diferencia de la sección 3.2.1, aquí las decodificaciones utilizan trenes de disparos simulados con el SRM y los parámetros obtenidos para cada GC. Si bien en el capítulo 2 validamos el modelo de cada GC, verificamos aquí que las performances en la decodificación obtenidas generando nuevos estímulos y simulando trenes de disparos son similares a las obtenidas utilizando el estímulo y los trenes de disparos experimentales (Fig. 3.9). Diferencias en estas cantidades podrían atribuirse a las particularidades del estímulo experimental utilizado y a una capacidad limitada del SRM para capturar las transformaciones estímulo-respuesta de las GCs. Luego, si bien no esperamos que las performances coincidan por completo, el hecho de que sean similares y tengan una alta correlación lineal (correlación de Pearson  $r^2 \rho = 0.96$ ,  $p = 1.2 \times 10^{-29}$  ý entropía  $\rho = 0.97$ ,  $p = 5.0 \times 10^{-36}$ ) indica que las relaciones entre diferentes GCs están bastante preservadas y añade confianza en la capacidad del SRM y en el procedimiento de decodificación utilizando respuestas simuladas.

Hasta aquí, si bien repetimos muchas veces la decodificación para cada GC, siempre utilizamos un tren de disparos individual para cada reconstrucción. No obstante, vimos que las respuestas de las neuronas son variables por lo que si utilizamos múltiples respuestas de una GC ante el mismo estímulo para obtener una única reconstrucción, podemos mejorar la performance de la decodificación (Fig. 3.10). Dado el incremento en el número de repeticiones usadas para la decodificación, cuantificamos el incremento proporcional promedio en  $r^2$  y e información relativizado a los valores usando un único tren (Fig. 3.11). Estas curvas aumentan monotónicamente ya que agregar trenes de disparos no puede perjudicar la decodificación. Observamos también que las GCs más inmaduras se benefician más del uso de múltiples repeticiones y atribuimos este efecto a que vimos que sus respuestas suelen ser más variables (Correlación de Spearman para  $2^6 = 64$  repeticiones entre la



**Figura 3.8:** (a) Residuos en  $r^2$  al sustraer la relación lineal con la frecuencia de disparo mostrada en la Fig. 3.7a. (b) Residuos en  $r^2$  para los diferentes grupos etarios. (c) Residuos en la información mútua al sustraer la relación lineal con la frecuencia de disparo mostrada en la Fig. 3.7b. (d) Residuos en la información mútua para los diferentes grupos etarios. Al sustraer las relaciones lineales de la Fig. 3.7 las rectas azules son ahora y = 0.

edad y  $r^2 \rho = -0.42$ ,  $p = 1.4 \times 10^{-4}$  y entre la edad y la información mútua  $\rho = -0.37$ ,  $p = 5.9 \times 10^{-3}$ ).

Utilizar múltiples repeticiones de la respuesta de una GC para decodificar un único estímulo nos permite también compensar de manera parcial las diferencias en frecuencia de disparo entre las distinas GCs, usando más repeticiones para las GCs de menor frecuencia de disparo. Podemos entonces utilizar un número de repeticiones diferente para cada GC, de manera de usar el mismo número total de disparos en promedio para todas. Por ejemplo,



**Figura 3.9:** (a)  $r^2$  promedio decodificando respuestas del SRM a diferentes estímulos vs  $r^2$  decodificando las respuestas experimentales (Figs. 3.7a y 3.4a). (b) Entropía condicional (Ec. 3.28) decodificando respuestas del SRM a diferentes estímulos vs entropía residual (Ec. 3.23) decodificando las respuestas experimentales. Las líneas celestes punteadas representan la identidad y = x.

si queremos utilizar 80 disparos en la decodificación de un estímulo de 10 s y tenemos dos GCs que disparan frecuencias de 2 Hz y 4 Hz, usaríamos 4 y 2 repeticiones respectivamente para cada GC. Siguiendo este procedimiento, utilizamos un número variable de repeticiones de manera de obtener en promedio 140 disparos en cada GC. Vemos que normalizando la cantidad de disparos, tanto el  $r^2$  como la información de las decodificaciones correlacionan con la edad de las GCs (Fig. 3.12; correlación de Spearman edad- $r^2 \rho = 0.37$ ,  $p = 6.0 \times 10^{-3}$  y edad-información  $\rho = 0.45$ ,  $p = 6.1 \times 10^{-4}$ ). Estos resultados refuerzan la observación de que la performance de la decodificación mejora con la edad de las GCs, independientemente de la frecuencia de disparo.

Además, de esta manera podemos estudiar si, a número de disparos fijo, la fiabilidad de las GCs tiene también un impacto en la calidad de la decodificación que permiten realizar (Fig. 3.13). Observamos correlaciones positivas entre tanto el  $r^2$  y la fiabilidad como la información y la fiabilidad (correlación de Spearman  $\rho = 0.71$ ,  $p = 1.2 \times 10^{-9}$  y  $\rho = 0.62$ ,  $p = 5.1 \times 10^{-7}$  respectivamente). Esto indica que en general las neuronas que dan respuestas menos variables y más reproducibles tienden a producir reconstrucciones del estímulo más fieles y preservan más información [15]. En nuestro caso de estudio, como vimos que las GCs más maduras suelen dar respuestas más fiables, esto resulta en una ventaja para estas en la decodificación.

Por último, estudiamos la dependencia de la performance de la decodificación para diferentes números de disparos, siempre utilizando las GCs individualmente. Observamos que el  $r^2$  promedio de los grupos comienza a saturar cuando usamos del orden de miles



Figura 3.10: Decodificación de un estímulo usando (a) 4 y (b) 34 trenes de disparos de la misma GC evocados por el mismo estímulo. Usamos la misma mGC y el mismo estímulo de la Fig. 3.6 de manera que las reconstrucciones se pueden comparar. (ab) Arriba: Trenes de disparos simulados con el SRM en una mGC usados de manera conjunta para decodificar el estímulo que los produjo. Abajo: Estímulo utilizado en la simulación para evocar las respuestas (línea azul) y estimación  $\eta_{MAP}$  obtenida (línea negra). El área sombreada es la incerteza sobre la estimación en función del tiempo calculada como diag(C)<sup>1/2</sup> (Ec. 3.17).

de disparos en la decodificación mientras que la información sigue creciendo en el rango de valores utilizados. Para números grandes de disparos, la correlación entre la edad de las GCs y la performance de la decodificación disminuye (Correlación de Spearman edad- $r^2$  para 140 disparos  $\rho = 0.37$ ,  $p = 6.0 \times 10^{-3}$ , para 4800 disparos  $\rho = 0.11$ , p = 0.4, para 12000 disparos  $\rho = 0.12$ , p = 0.37; edad-información para 140 disparos  $\rho = 0.45$ ,  $p = 6.1 \times 10^{-4}$ , para 4800 disparos  $\rho = 0.28$ , p = 0.038, para 12000 disparos  $\rho = 0.27$ ,

p = 0.048).



Figura 3.11: (a) Incremento en  $r^2$  y (b) información al aumentar el número de repeticiones de estimulación utilizados en la decodificación. Ambas cantidades fueron relativizadas a las cantidades obtenidas utilizando un único tren.



Figura 3.12: (a)  $r^2$  e (b) información utilizando 140 disparos en promedio para cada GC y un número variable de repeticiones como describimos en el texto.



Figura 3.13: (a)  $r^2$  vs fiabilidad e (b) información vs. fiabilidad utilizando 140 disparos en promedio para cada GC y un número variable de repeticiones.



Figura 3.14: (a)  $r^2$  e (b) información vs. número de disparos promedio utilizados para cada GC obtenidos usando un número variable de repeticiones.

#### **3.3.** Conclusiones

En este capítulo, introdujimos el formalismo de la decodificación, que utilizando el SRM y trenes de disparos nos permite reconstruir el estímulo que les dio origen y estimar la incerteza en la reconstrucción. Luego, introdujimos dos métricas para cuantificar la

calidad de la decodificación, el  $r^2$  y la información mútua. Mientras que el  $r^2$  evalúa la precisión de la reconstrucción, la información mútua mide el nivel de correspondencia o dependencia entre el estímulo y los trenes de disparos. De esta manera, la decodificación nos permitió evaluar qué tan buenas son las GC de distintas edades para representar estímulos.

En este capítulo, siempre realizamos la decodificación utilizando GCs individuales con diferentes números de repeticiones ante un mismo estímulo. Encontramos que la performance de la decodificación depende de la frecuencia de disparo de las GCs y de su fiabilidad, conectando con resultados de los capítulos anteriores. De esta manera, GCs que producen respuestas más reproducibles resultan en mejores reconstrucciones del estímulo y menor incerteza sobre este. Encontramos también que las GCs más maduras suelen exhibir mejores performances en la decodificación, lo que sugiere que serían mejores para representar los estímulos utilizados. Esto nos deja el interrogante de si las GCs inmaduras pueden contribuir de alguna manera a mejorar la representación de estímulos. En el capítulo siguiente, utilizamos pares y poblaciones de GCs para realizar la decodificación y explorar de esta manera si, a pesar de su peor performance individual, las GCs inmaduras pueden contribuir a la representación de estímulos en una población.

## Capítulo 4

## Decodificación de estímulos con poblaciones de células granulares

En el capítulo 3 decodificamos estímulos a partir de respuestas de GCs individuales utilizando el SRM. Vimos que la performance de la decodificación cuantificada como la precisión de la reconstrucción o la información mútua tiende a ser inferior cuando utilizamos GCs inmaduras. Estas observaciones nos llevan a preguntarnos si las GCs inmaduras pueden realizar una contribución a la representación de un estímulo. Para explorar este interrogante, en este capítulo comenzamos por utilizar pares de GCs diferentes para decodificar un único estímulo y estudiar de qué manera se complementan. Luego, construimos poblaciones con diferente proporción de GCs inmaduras y utilizamos todas las neuronas de una población para decodificar el mismo estímulo. De esta manera, evaluamos si una poblacion de GCs puede beneficiarse de la presencia de neuronas inmaduras para representar, y luego transmitir, estímulos.

#### 4.1. Decodificación utilizando pares de GCs

Comenzamos por estudiar cómo se complementan pares de GCs de edades diferentes para decodificar y reconstruir un mismo estímulo. Utilizando GCs individuales vimos que las GCs más maduras resultaron mejores para representar los estímulos utilizados. En esta sección exploramos por ejemplo si la decodificación con GCs maduras alcanza mejor performance cuando emparejamos con otras GCs maduras o cuando lo hacemos con GCs inmaduras. Vimos que podemos utilizar múltiples repeticiones de cada GC en la decodificación, y que usando un número variable de estas, podemos compensar parcialmente las diferencias en frecuencia de disparo utilizando el mismo número de disparos en promedio por cada GC. De esta manera, en esta sección utilizamos pares de GCs en la decodificación con un número variable de repeticiones, de manera que en promedio cada GC siempre aporte 140 disparos en la decodificación de un mismo estímulo (Fig. 4.1a).

Utilizando las GCs del capítulo 3 (4wGCs n=20, 5wGCs n=17 y mGCs n=18; total n=55), realizamos el procedimiento de decodificación para todos los pares de GCs posibles de todas las edades, que ignorando el orden del par resultaron en  $55 \times 54/2 = 1485$ 



**Figura 4.1:** Decodificación de un estímulo usando múltiples trenes de disparos generados por dos GCs diferentes. Cada GC aporta en promedio (a) 140 y (b) 1200 disparos en los 10 s de estímulo, utilizando un número diferente de repeticiones. Usamos la misma mGC y el mismo estímulo de las Figs. 3.6 y 3.10 de manera que las reconstrucciones se pueden comparar. (a-b) Arriba: Trenes de disparos de una mGC y una 4wGC usados de manera conjunta para decodificar el mismo estímulo. Abajo: Estímulo utilizado para evocar las respuestas (azul) y estimación  $\eta_{MAP}$  obtenida con el procedimiento de decodificación (verde). El área sombreada es la incerteza sobre la estimación en función del tiempo calculada como diag(C)<sup>1/2</sup> (Ec. 3.17).

combinaciones. Para cada par de GCs, generamos 50 estímulos de Ornstein-Uhlenbeck, simulamos un número variable de trenes de disparos de cada GC y realizamos la decodificación de todos los estímulos utilizados. La Fig. 4.2 muestra el  $r^2$  promedio y la información mútua obtenida para cada par, utilizando todos los estímulos generados. Para explorar la contribución de la edad, para cada GC realizamos el promedio de la performance de

todos los pares que la contienen, separando por la edad de la segunda GC (Fig. 4.3). Esto equivale a realizar el promedio de cada fila (o columna) en cada "cuadrado" de edad en las matrices de la Fig. 4.2. De esta manera, cada punto en la Fig. 4.3 representa la performance promedio de cada GC cuando se la empareja con todas las otras GCs de cada edad dada por la segunda fila. La segunda fila en el eje horizontal representa la edad de la segunda GC, sobre la que se promedian los pares. Vemos que, sin importar la edad de la primera GC, la performance de la decodificación tiende a mejorar cuando se la empareja con GCs más maduras. Si utilizamos pares de GCs de la misma edad, la performance de la decodificación también aumenta con la edad del par (Fig. 4.3).



Figura 4.2: (a)  $r^2$  promedio y (b) información mútua decodificando con todos los pares de GCs y utilizando 140 disparos en promedio por cada GC.

En el capítulo 3 vimos que, usadas individualmente, las GCs más maduras realizan una mejor reconstrucción del estímulo y transmiten más información. Los resultados obtenidos aquí de performance de decodificación usando pares de GCs complementan estas observaciones. Las GCs más maduras condifican mejor el estímulo cuando se las empareja con otras GCs maduras y codifican peor cuando se las empareja junto a GCs más inmaduras. Estas observaciones nos llevan a preguntarnos si, en un paradigma de decodificación como el que desarrollamos en esta tesis, las GCs inmaduras pueden contribuir de alguna manera a una mejor representación del estímulo. Para continuar explorando este interrogante, en la sección siguiente construimos poblaciones de múltiples GCs de edad heterogénea.



Figura 4.3: Performance promedio de la decodificación para cada GC cuando se la empareja con todas las GCs de cada edad dada por la segunda fila del eje horizontal. Cada GC siempre aporta 140 disparos en promedio. (a)  $r^2$ . Para primera GC de 4w correlación de Spearman entre la edad de la segunda GC y  $r^2 \rho = 0.52$ ,  $p = 2.5 \times 10^{-5}$ , para primera GC de 5w  $\rho = 0.37$ ,  $p = 7.8 \times 10^{-3}$  y para primera GC madura  $\rho = 0.32$ ,  $p = 1.7 \times 10^{-2}$ . Para pares de GCs de la misma edad, correlación de Spearman entre la edad de la segunda GC y la información mútua. Para primera GC de 4w correlación de Spearman entre la edad de la segunda GC y la información  $\rho = 0.56$ ,  $p = 3.7 \times 10^{-6}$ , para primera GC de 5w  $\rho = 0.50$ ,  $p = 2.1 \times 10^{-4}$  y para primera GC madura  $\rho = 0.48$ ,  $p = 2.4 \times 10^{-4}$ . Para pares de GCs de la misma edad, correlación de Spearman entre la edad del par y la información  $\rho = 0.80$  y  $p = 2.9 \times 10^{-13}$ .

## 4.2. Decodificación utilizando poblaciones de GCs construidas siguiendo un procedimiento greedy

Dada la cantidad de GCs registradas, el número de poblaciones posibles es demasiado grande como para explorar todas las posibilidades. Luego, proponemos un procedimiento a seguir para construir poblaciones. Dado que individualmente las GCs inmaduras tienden a ser peores para la decodificación, queremos ver si en condiciones flexibles estas pueden contribuir a la representación de estímulos en una población. Entonces, construimos poblaciones siguiendo un algoritmo greedy iterativo, optimizando la reconstrucción del estímulo a cada paso (Fig. 4.4) [15]. Para construir una población, empezamos con una única mGC y añadimos iterativamente GCs individuales tomadas del conjunto entero de GCs maduras e inmaduras registradas en los experimentos. A cada paso, utilizando la población construida hasta entonces, realizamos la decodificación de estímulos añadiendo cada posible GC a la población y nos quedamos con la que resulta en el valor más grande de  $r^2$  para la población extendida. No restringimos de ninguna manera la selección de GCs, de manera que una misma GC puede estar repetida en poblaciones diferentes y en la misma población. Como vimos, la performance de la decodificación depende fuertemente del número de



**Figura 4.4:** Diagrama del algoritmo de selección *greedy*. Agregamos GCs de a una y a cada paso seleccionamos la GC que optimiza la reconstrucción de estímulos medida como el  $r^2$  promedio de las reconstrucciones.

disparos utilizados para realizarla, por lo que usamos un número diferente de repeticiones para cada GC, tratando de que el número total de disparos que cada GC contribuye sea siempre alrededor de 1200; de esta manera reducimos la preferencia en la selección de GCs con frecuencias de disparo mayores. Elegimos este número (1200) de manera que, a cada paso con cada GC añadida a la población,  $r^2$  aumente de manera significativa. La Fig. 4.5 muestra un ejemplo del procedimiento de decodificación utilizando una población de 5



**Figura 4.5:** Decodificación de un estímulo usando múltiples trenes de disparos generados por cinco GCs diferentes. Cada GC aporta en promedio 1200 disparos en los 10 s de estímulo, utilizando un número diferente de repeticiones. Usamos el mismo estímulo de las Figs. 3.6, 3.10 y 4.1 de manera que las reconstrucciones se pueden comparar. Arriba: Trenes de disparos de usados de manera conjunta para decodificar el mismo estímulo. Las líneas discontinuas separan los disparos de GCs diferentes. Abajo: Estímulo utilizado para evocar las respuestas (azul) y estimación  $\eta_{\text{MAP}}$  obtenida con el procedimiento de decodificación (verde). El área sombreada es la incerteza sobre la estimación en función del tiempo calculada como diag $(\boldsymbol{C})^{1/2}$  (Ec. 3.17).

GCs construida siguiendo el algoritmo greedy.

Entonces, construimos múltiples poblaciones siguiendo el algoritmo *greedy*. En el primer paso, comenzamos con cada una de las diferentes 18 mGCs a las que ajustamos el SRM (Fig. 4.6a). Como podríamos esperar de los resultados de  $r^2$  utilizando pares de GCs (Fig. 4.3a), en el segundo paso el algoritmo seleccionó casi exclusivamente mGCs de todo el conjunto de GCs medidas. Inesperadamente, del tercer paso en adelante, las GCs inmaduras fueron seleccionadas por el algoritmo *qreedy* con mayor preferencia. Esto resulta en que la fracción de GCs inmaduras en las poblaciones aumenta a expensas de las mGCs (Fig. 4.6b). Para poblaciones de 12 GCs, aproximadamente 43 % fueron mGCs, 32% fueron 5wGCs y 25% fueron 4wGCs. Además, encontramos que el 51% de todas las GCs no fueron elegidas nunca en ninguna población por el algoritmo, el 34.5% de las GCs fueron seleccionadas entre 1 y 10 veces y el 14.5% fueron seleccionadas más de 10 veces (Fig. 4.7). Estos resultados muestran que las poblaciones finales difieren de las obtenidas eligiendo GCs de manera aleatoria, que resultaría en cada GC siendo seleccionada 3.6 veces en promedio. Aún más, estos resultados resaltan la diversidad de las poblaciones construidas, ya que un porcentaje grande de GCs fueron seleccionadas un número de veces menor al número de poblaciones, por lo que estas no están compuestas por las mismas GCs.

Adicionalmente, aunque con algunas de las GCs más elegidas la decodificación alcanzó



Figura 4.6: Construcción de poblaciones siguiendo el algoritmo greedy. (a) Abajo: GCs seleccionadas a cada paso para cada población. Cada fila es una población construida siguiendo el algoritmo greedy. El color de cada punto representa la edad de la GC seleccionada. Arriba: Fracción de GCs seleccionadas de cada grupo etario a cada paso. (b) Fracción cumulativa de GCs de cada grupo etario vs. número de GCs en las poblaciones. La fracción cumulativa tiene en cuenta las GCs seleccionadas hasta el paso dado. Las barras de error indican  $\pm 1$  s.e.m.



**Figura 4.7:** Número total de veces que cada GC fue seleccionada por el algoritmo *greedy* luego de 12 pasos. Los colores de las barras representan la edades de las GCs.

valores grandes de  $r^2$  cuando las usamos individualmente, algunas GCs que resultaron muy seleccionadas produjeron reconstrucciones relativamente pobres por sí mismas y en pares (Figure 4.8). Estas observaciones indican que la calidad de las reconstrucciones usando poblaciones son el resultado de interacciones no triviales entre las GCs que las componen. Por ello, las mejores reconstrucciones no se obtiene simplemente seleccionando las GCs que produjeron las mejores reconstrucciones individualmente.



**Figura 4.8: (a)**  $r^2$  promedio alcanzado por GCs individuales vs. número total de veces que cada GC fue seleccionada. (b)  $r^2$  promedio alcanzado por cada GC cuando se emparejó con todas las otras GCs posibles vs. número total de veces que cada GC fue seleccionada. Cada punto representa una GC y siempre usamos 1200 en promedio disparos por cada GC.

Nuestros resultados sugieren que las presencia de GCs inmaduras en una población puede ser beneficiosa para la representación de un estímulo, ya que son consistentemente elegidas por un algoritmo que optimiza su reconstrucción. Además, tanto  $r^2$  como la información aumentaron consistentemente con el número de GCs en las poblaciones, mostrando que agregar GCs a una población mejora la performance de la decodificación (Fig. 4.9). A modo de control, construimos también poblaciones empezando con las mismas 18 mGCs pero eligiendo de manera aleatoria las GCs en cada paso. Observamos que las poblaciones construidas por el algoritmo greedy alcanzaron mejor performance que las construidas de manera aleatoria, mostrando que el procedimiento de optimizar la reconstrucción del estímulo tiene un efecto significativo.

Sin embargo, notamos que el algoritmo elige la opción óptima a cada paso, y luego, elegir exclusivamente GCs maduras en los primeros pasos (o en todos) podría resultar en una mejor performance de decodificación para las poblaciones finales. Luego, comparamos las performances de decodificación de las poblaciones greedy de edades mixtas con poblaciones de GCs exclusivamente maduras, construidas siguiendo el mismo algoritmo greedy y empezando con las mismas mGCs, pero restringiendo la selección a mGCs. Al incrementar el número de GCs, las poblaciones mixtas alcanzaron valores mayores de  $r^2$  que



Figura 4.9: (a)  $r^2$  promedio sobre las poblaciones y (b) información mútua al crecer el número de GCs en cada población. Las barras de error indican  $\pm 1$  error estándar.

las exclusivamente maduras de manera consistente (Fig. 4.9a, para poblaciones de 12 GCs test de Mann-Whitney  $p = 4.7 \times 10^{-5}$ ). Esto resultó en una reducción continua del error relativo en la reconstrucción, alcanzando valores finales de mejora de un 3% (Fig. 4.10). Sin embargo, las poblaciones de mGCs alcanzaron valores mayores de información mútua entre el estímulo y las respuestas que las poblaciones mixtas (Fig. 4.9b, para poblaciones de 12 GCs test de Mann-Whitney  $p = 2.8 \times 10^{-6}$ ). Además, hallamos una correlación positiva entre el número de GCs inmaduras en las poblaciones finales de 12 GCs y el  $r^2$  (Fig. 4.11a, correlación de Spearman  $\rho = 0.67$ ,  $p = 2.3 \times 10^{-3}$ ). No hallamos una clara correlación entre el número de GCs inmaduras en las poblaciones y la información mútua que codifican (Fig. 4.11b, correlación de Spearman  $\rho = -0.27$ , p = 0.28).

Por último, formamos poblaciones de GCs en las que en los primeros pasos se eligen GCs exclusivamente maduras y en los últimos se eligen GCs de todo el conjunto de maduras e inmaduras, siempre siguiendo el algoritmo greedy (Fig. 4.12). Entonces, manteniendo fijo el número total de GCs en las poblaciones pero variando el número de pasos en los que restringimos la selección a mGCs, generamos poblaciones con un número variable de GCs inmaduras. Por ejemplo, para poblaciones de 12 GCs, si restringimos la selección a mGCs durante los primeros 9 pasos, se generarán poblaciones con entre 0 y 3 GCs inmaduras. Construimos entonces poblaciones de 12 GCs mientras restringimos por separado los primeros 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5 y 4 pasos a seleccionar exclusivamente mGCs. Nuevamente confirmamos que a mayor número de GCs inmaduras en las poblaciones el  $r^2$  de la reconstrucción mejora (Fig. 4.13a, correlación de Spearman número de inmaduras y  $r^2 \rho = 0.56, p = 4.8 \times 10^{-13}$ ). A contramano, la información mútua empeora a mayor número de GCs inmaduras e informa-



**Figura 4.10:** Error cuadrático medio en la reconstrucción usando poblaciones *greedy* mixtas relativo al obtenido por poblaciones *greedy* maduras calculado tomando poblaciones de ambos grupos utilizando bootstrapping. Las barras de error indican intervalos de confianza del 95 %.



Figura 4.11: (a)  $r^2$  promedio sobre las poblaciones y (b) información mútua vs. número de GCs inmaduras en cada población de 12 GCs. Cada punto es una población. La línea indica el promedio y las barras de error indican ±1 error estándar.

ción  $\rho = -0.64$ ,  $p = 7.8 \times 10^{-18}$ ). Notamos además que los valores de performance variando el número total de GCs inmaduras en las poblaciones interpolan entre las performances obtenidas construyendo poblaciones exclusivamente maduras y poblaciones sin restringir la edad de las GCs elegidas. Esto sugiere además que elegir primero exclusivamente mGCs

y luego elegir GCs inmaduras no resulta en una mejora de performance con respecto a elegir GCs de todo el conjunto libremente. Nuestros resultados indican que las GCs inmaduras resultan beneficiosas para la reconstrucción de estímulos utilizando poblaciones, lo que podría ayudar a la representación y transmisión de actividad que realiza el giro dentado.



**Figura 4.12:** Diagrama del algoritmo de selección *greedy* restringiendo la selección en los primeros pasos a exclusivamente GCs maduras. A cada paso seleccionamos la GC que optimiza la reconstrucción de estímulos medida como el  $r^2$  promedio de las reconstrucciones. En los primeros n pasos solo permitimos la selección de mGCs mientras que a partir del paso n seleccionamos GCs de todo el conjunto de maduras e inmaduras.

#### 4.3. Conclusiones

En este capítulo utilizamos múltiples GCs de manera conjunta para realizar la decodificación de estímulos. Utilizando pares de GCs para decodificar, hallamos que la performance de la decodificación tiende a ser mejor cuanto más maduras son las GCs del par. Estos resultados podían esperarse dado que en el capítulo 3 también encontramos que las GCs más maduras suelen codificar mejor los estímulos individualmente. Inesperadamente, construyendo poblaciones de múltiples GCs encontramos que las GCs inmaduras pueden mejorar la representación del estímulo que realiza una población, aumentando la precisión de la reconstrucción medida como el  $r^2$ . Aún más, hallamos que a un número fijo de GCs en las poblaciones, las poblaciones con mayor número de GCs inmaduras exhiben mayores valores de  $r^2$ . En resumen, nuestros resultados indican que aunque las mGCs transmiten mayor información, poblaciones de edades mixtas mejoran la reconstrucción del estímulo, sugiriendo que la diversidad que contribuyen las GCs inmaduras puede ser beneficiosa para transmitir diferentes propiedades de estímulos con una estructura temporal rica.



Figura 4.13: (a)  $r^2$  promedio sobre las poblaciones y (b) información mútua vs. número de GCs inmaduras en cada población. Las poblaciones fueron construidas restringiendo los primeros 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5 y 4 pasos a elegir exclusivamente GCs maduras de manera separada (Fig. 4.12). Las líneas indican promedios y las barras de error indican ±1 error estándar. Las líneas punteadas verdes y negras indican las performances obtenidas con poblaciones de 12 GCs eligiendo sin restricciones y eligiendo exclusivamente mGCs respectivamente (Fig. 4.9).

Las diferentes regiones del cerebro deben representar de alguna manera la actividad que llega de otras regiones. El estudio realizado en los capítulos 3 y 4 concierne la capacidad de las GCs, individualmente o en poblaciones, para representar estímulos. Sin embargo, las áreas del cerebro no solo representan la actividad aferente si no que realizan computaciones utilizándola. El giro dentado presumiblemente realiza la separación de patrones que introdujimos en la sección 0.1. En el capítulo siguiente, continuamos utilizando el paradigma de decodificación para explorar una forma de separación de patrones e investigar si la presencia de GCs inmaduras en una poblaciones podría ayudar también a la discriminación de estímulos.

### Capítulo 5

# Separación de patrones de estimulación

En la sección anterior mostramos que la presencia de GCs inmaduras en una población puede mejorar la reconstrucción de estímulos. Esto puede interpretarse como una mejora en la capacidad de la población para representar estos estímulos. Sin embargo, el cerebro y sus regiones no solo representan la actividad aferente si no que además realizan computaciones. Se considera que el giro dentado cumple un rol en la separación de patrones, una computación que presumiblemente involucra incrementar las diferencias entre patrones de actividad aferente, haciéndolos más distinguibles (sección 0.1) [25, 27, 74]. Disrumpir la transmisión sináptica en el giro dentado causa déficits en la discriminación de contextos en ratones [29]. Aún más, suprimir la neurogénesis adulta en el giro dentado perjudica también la discriminación espacial en ratones [43]. En el contexto de estas observaciones, en este capítulo nos preguntamos entonces si una población de GCs de edades mixtas puede no solo mejorar la representación de estímulos, si no también ayudar a la discriminación de patrones temporales de estímulos similares.

#### 5.1. Discriminación de estímulos temporales correlacionados

En este capítulo, buscamos utilizar nuestro paradigma de decodificación utilizando poblaciones de GCs para diseñar una tarea de separación de patrones. Nos preguntamos si una región que recibe aferencias del giro dentado podría discriminar mejor un par de estímulos leyendo la actividad de una población heterogénea de edades mixtas. Nuestros estímulos son señales fluctuantes y estímulos distintos se diferencian en la estructura temporal que exhiben. Entonces, formulamos una tarea de discriminación en la que utilizamos una dada población de GCs para discriminar entre dos estímulos que exhiben estructuras temporales de similaridad variable.

Para formular la tarea para una población de GCs determinada, en primer lugar generamos un par de estímulos controlando el grado de correlación entre sus estructuras temporales (Fig.5.1). Luego, utilizamos solo uno de ellos como estímulo para generar trenes de disparos de la población de GCs. A continuación, realizamos la decodificación a partir de los disparos y estimamos una reconstrucción del estímulo utilizado. Por último, calculamos el error entre la reconstrucción y cada uno de los dos estímulos. Determinamos la discriminación como correcta si el error entre la reconstrucción y el estímulo realmente utilizado en la generación de disparos es menor al error entre la reconstrucción y el estímulo no utilizado. Si los dos estímulos están altamente correlacionados, dado que las respuestas son ruidosas y que la reconstrucción no es perfecta, el error puede ser menor para el estímulo no utilizado, resultando en una discriminación incorrecta.



**Figura 5.1:** Diagrama del experimento de discriminación *in silico* de estímulos fluctuantes en el tiempo utilizando poblaciones de GCs.

Entonces, para generar pares de estímulos correlacionados tomamos muestras de un proceso de Ornstein-Uhlenbeck bidimensional, en el que las dos componentes del proceso están correlacionadas. En la sección 1.3, Ec. 1.3, mostramos como generar muestras de un proceso de Ornstein-Uhlenbeck unidimensional. Para generar pares de muestras correlacionadas, la Ec. 1.3 se modifica como

$$\boldsymbol{\eta}(t+\Delta t) = \boldsymbol{\eta}(t)e^{-\Delta t/\tau} + \sqrt{1 - e^{-2\Delta t/\tau}}\mathcal{N}(\mathbf{0}, \mathbf{K}) \qquad \boldsymbol{\eta}(0) = \mathcal{N}(\mathbf{0}, \mathbf{K})$$
  
with  $\mathbf{0} = (0,0)$  y  $\mathbf{K} = \begin{pmatrix} 1 & \rho \\ \rho & 1 \end{pmatrix}$  (5.1)

donde ahora  $\boldsymbol{\eta}(t)$  es un vector de dos componentes y el ruido sale ahora de una distribución normal bivariada de covarianza  $\boldsymbol{K}$ , introduciendo una correlación entre las dos componentes mediante el valor de  $\rho$ . De esta manera,  $0 \leq \rho \leq 1$  determina la correlación entre los dos estímulos,  $\rho = 0$  resulta en un par de estímulos independientes y  $\rho = 1$  resulta en dos estímulos idénticos. Además, cada estímulo por separado es una muestra de un proceso de Ornstein-Uhlenbeck unidimensional de media 0, varianza 1 y escala temporal  $\tau$ , como los que usamos previamente en la tesis. Entonces, aumentando el valor de  $\rho$ , podemos hacer la tarea de discriminación tan difícil como deseemos.

Entonces, estudiamos si las poblaciones construidas en el capítulo 4 pueden ser usadas para discriminar estímulos con diferentes grados de separación, y exploramos la influencia de la heterogeneidad en la edad de la población. En lo que sigue, definimos tres grados de separación: baja ( $\rho = 0.9997$ ), media ( $\rho = 0.999$ ) y alta ( $\rho = 0.99$ ).

Para estudiar la discriminación realizada por poblaciones de edad heterogénea y poblaciones maduras, utilizamos las poblaciones de 10 GCs que construimos siguiendo el algoritmo greedy, cuya performance de decodificación reportamos en la Fig. 4.9. Luego, para cada población y grado de separación, generamos 200 pares de estímulos como describimos previamente, que utilizamos para cuantificar la precisión de la discriminación. Encontramos que cuando la separación entre estímulos era alta, los dos estímulos son discriminados con casi el 100% de precisión por tanto las poblaciones de edades mixtas y como las exclusivamente maduras (Fig. 5.2). Si reducimos la separación entre estímulos, estos son más difíciles de discriminar y la precisión disminuye. Para la separación de grado medio, las poblaciones de edades mixtas alcanzaron mejor precisión en la discriminación que las poblaciones maduras (Test de Mann-Whitney,  $p = 1.0 \times 10^{-2}$ ). Para separación a baja, los estímulos son más difíciles de discriminar y aunque la precisión es mayor a 50%, las diferencias entre las poblaciones mixtas y maduras se reducen. Estos resultados indican que la mejor reconstrucción observada para las GCs de poblaciones mixtas puede ser aprovechada para discriminar estímulos similares.



**Figura 5.2:** Porcentaje promedio de discriminaciones correctas realizadas por las poblaciones de GCs mixtas y maduras para los diferentes grados de separación entre los estímulos generados.

En el giro dentado, si tenemos una población de GCs codificando un estímulo, probablemente cada GC reciba una versión modificada o degradada por la presencia de ruido. Entonces, exploramos si la presencia de GCs inmaduras en una población puede también mejorar la discriminación en presencia de ruido. Para esto, generamos pares de estímulos correlacionados como describimos, pero para generar los disparos, utilizamos una versión corrompida por ruido diferente para cada GC. En este contexto, cada tren de disparos es ahora generado por una versión ruidosa del estímulo original, luego la discriminación correcta depende de la capacidad de la decodificación para promediar el ruido en la población y producir una reconstrucción razonable. Si fijamos el grado de separación entre estímulos, agregar ruido perjudica la precisión de la discriminación realizada por las poblaciones (Figure 5.3) Notablemente, las poblaciones mixtas exhibieron consistentemente mayor precisión que las maduras para cantidades moderadas de ruido (para fracción de ruido 0.5 Test de Mann-Whitney p = 0.024). Nuestros resultados sugieren que la presencia de GCs inmaduras en el giro dentado introduce una heterogeneidad al nivel poblacional que puede ser aprovechada para reconstruir un estímulo aferente mejor y, a la vez, discriminarlo de otros.



Figura 5.3: Porcentaje promedio de discriminaciones correctas realizadas por las poblaciones de GCs mixtas y maduras para el grado de separación alta pero diferentes niveles de ruido.
## Conclusiones

La neurogénesis contribuye un número importante de GCs al giro dentado [33]. Trabajos previos han estudiado las propiedades electrofisiológicas en rodajas de las GCs inmaduras nacidas en el adulto [32, 39, 40]. Otros trabajos han explorado el impacto en el comportamiento de disrumpir la neurogénesis [43, 46]. Sin embargo, estudios *in vivo* que midan la actividad de GCs inmaduras son escasos [41], y los mecanismos por los que la neurogénesis afecta la codificación son desconocidos.

En esta tesis, exploramos la idea de que las GCs inmaduras pueden ayudar a la representación y discriminación de estímulos. Registramos las respuestas de GCs de diferentes edades en el giro dentado para explorar la codificación que realizan de estímulos con una estructura temporal rica. Los estímulos fluctuantes que utilizamos producen respuestas fiables, lo que nos permitió estudiar en el capítulo 1 su estructura a lo largo del tiempo y ante repeticiones de la misma estimulación. Encontramos que las GCs inmaduras producen respuestas más variables, menos reproducibles entre repeticiones y menos alineadas con el estímulo. Luego, en el capítulo 2, ajustamos el Spike Response Model (SRM) para capturar el potencial de membrana subumbral y los disparos en las respuestas. Encontramos que las GCs inmaduras integran los estímulos en escalas temporales más largas y exhiben efectos refractarios más débiles. Además, mostramos que los parámetros del SRM obtenidos pueden utilizarse para discriminar la edad de las GCs. En el capítulo 3, decodificamos estímulos utilizando respuestas de GCs individuales y encontramos que la reconstrucción del estímulo obtenida y la información mútua entre estímulo y respuesta mejoran con la maduración. En el capítulo 4, construimos poblaciones de dos o más GCs para estudiar la codificación de estímulos que realizan. Utilizando pares de GCs, encontramos que la representación es más rica cuanto más maduras son las GCs del par. Construyendo poblaciones de GCs siguiendo un algoritmo greedy hallamos que, a pesar de la peor performance individual y en pares de las GCs inmaduras, estas aportan una contribucion significativa a la representación de estímulos en una población. Aún más, encontramos que en las poblaciones construidas, el número de GCs inmaduras correlacionaba positivamente con la precisión de la reconstrucción. Por último, en el capítulo 5, diseñamos una tarea in silico de separación de patrones utilizando el paradigma de decodificación, y encontramos que las GCs inmaduras también pueden mejorar la discriminación de estímulos altamente correlacionados. En presencia de ruido, las poblaciones de edades mixtas también obtienen reconstrucciones más precisas que resultan en una mejor discriminación.

Para imitar *inputs* con una estructura temporal compleja, inyectamos corrientes fluctuantes y a partir de las respuestas construimos modelos estadísticos para investigar las diferencias entre las GCs de diferentes edades. Hasta donde sabemos, el uso de este tipo de estímulos y de modelos estadísticos para estudiar la neurogénesis adulta en el giro dentado es novedoso. Bloqueamos la transmisión sináptica excitatoria e inhibitoria para estudiar la interacción entre el estímulo que inyectamos y las propiedades intrínsecas de las GCs de diferentes edades. En este contexto, en el capítulo 1 observamos que las GCs inmaduras producen respuestas menos fiables, que además están menos correlacionadas con el estímulo y con las respuestas de las otras GCs. Las respuestas de las GCs inmaduras son también más variables *in vivo*, exhibiendo menos especificidad espacial cuando un animal realiza una tarea de exploración [41]. Las diferencias que observamos en la fiabilidad de las GCs podrían ser aún más importantes *in vivo*, ya que trabajos previos han mostrado que la actividad de las GCs inmaduras está menos regulada por circuitos inhibitorios, produciendo disparos ante estímulos más débiles y a tiempos más variables que las GCs maduras [39, 40]. Por otro lado, la cantidad de conexiones recurrentes excitatorias en el giro dentado es pequeña comparada con otras regiones hipocampales como CA3, por lo que no incorporamos la recurrencia cuando decodificamos utilizando poblaciones de GCs.

Usando el SRM, en el capítulo 2 caracterizamos cuantitativamente las respuestas de las GCs a los estímulos utilizados. Estudiando los parámetros del SRM, encontramos que los filtros de membrana de las GCs inmaduras exhibían amplitudes mayores y escalas temporales más largas. También hallamos que su umbral de disparo era menor y que mostraban efectos refractarios más débiles. Trabajos previos utilizando escalones de corriente han reportado que las GCs inmaduras tienen resistencias y constantes temporales de membrana mayores, menor umbral de disparo y corrientes de potasio de menor amplitud [32, 61]. La consistencia de nuestros resultados con estas observaciones validan nuestro modelo y muestran que los parámetros encontrados se vinculan a propiedades biofísicas de las GCs. Aún más, el SRM reproduce las respuestas de disparos, lo que nos permitió estudiar más en profundidad la transformación estímulo-respuesta realizada por las GCs. Encontramos que la baja fiabilidad de las GCs inmaduras puede atribuirse parcialmente a que tienen escalas temporales más largas de integración del estímulo.

En los capítulos 3 y 4, el paradigma de decodificación basado en modelos que utilizamos nos permitió estudiar cómo las GCs representan estímulos sin tener que hipotetizar sobre qué codificarían *in vivo*. Realizando la decodificación con GCs individuales y poblaciones, encontramos que en general las neuronas más fiables exhiben mejor performance y que las poblaciones optimizadas combinan diversidad con homogeneidad, teniendo neuronas con propiedades diferentes pero a menudo incluyendo la misma neurona más de una vez. En el bulbo olfatorio se han reportado observaciones similares sobre el impacto de la diversidad de las propiedades intrínsecas [15]. En la tesis, exploramos no solo el impacto de la variabilidad aleatoria en la población de GCs, si no también los beneficios de la heterogeneidad estructurada introducida por la neurogénesis.

Vimos que las GCs maduras individuales exhibieron mejor performance de decodificación que las inmaduras, sin embargo las GCs inmaduras fueron seleccionadas cuando construimos poblaciones optimizando la reconstrucción del estímulo. Aún más, estas poblaciones de edades mixtas alcanzaron mayor precisión en las reconstrucciones que las poblaciones exclusivamente maduras. Consistente con esto, un estudio previo que involucra una tarea de exploración espacial ha mostrado que las GCs inmaduras son más inespecíficas en su activación espacial pero igualmente participan activamente de la codificación y discriminación de contextos [41]. Adicionalmente, reportaron que las GCs inmaduras disparan a frecuencias de disparo mayores *in vivo*. En esta tesis, normalizamos las frecuencias de disparo de las GCs, sin embargo una frecuencia de disparo mayor aumentaría la performance de decodificación de las GCs inmaduras e incrementaría aún más su relevancia en la codificación utilizando poblaciones.

En el capítulo 5, exploramos la capacidad de poblaciones de GCs de realizar separación de patrones temporales, formulando la discriminación de señales fluctuantes en el tiempo, en la escala de milisegundos. A pesar de que las GCs inmaduras exhibieron respuestas más variables, las poblaciones de edades mixtas fueron capaces de discriminar estímulos altamente correlacionados mejor que las poblaciones exclusivamente maduras, incluso en presencia de ruido. La respuesta ruidosa de las GCs inmaduras que observamos también podría ayudar a la disrupción de memorias guardadas en la red hipocampal, consistente con la hipótesis de que la neurogénesis induce el olvido de memorias existentes, facilitando la formación de nuevas memorias [75]. Estudios computacionales del giro dentado que incorporan neurogénesis, en general se han enfocado en aspectos relacionados al aprendizaje [76, 77]. Utilizando redes que incorporan nuevas GCs de manera continua para codificar información, han hallado que la neurogénesis podría prevenir la interferencia entre memorias nuevas y viejas.

Esta tesis también apoya la hipótesis de que la heterogeneidad en las propiedades intrínsecas de una población ayuda a la codificación [7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 15]. En particular, nuestro estudio indica que la diversidad que las GCs inmaduras contribuyen al giro dentado podría ser, por sí sola, beneficiosa para la representación y discriminación de estímulos. Cómo el giro dentado utiliza a las GCs inmaduras para procesar la actividad aferente se desconoce. Nuestras ideas podrían ser usadas y combinadas con otros procedimientos para guiar experimentos futuros y expandir nuestro entendimiento del giro dentado y el rol de la heterogeneidad.

# Apéndice A Métodos Experimentales

#### Ratones y preparación de rodajas

Ratones Ascl1-CreERT2 [61] fueron cruzados con ratones CAG-floxStop-tdTomato para generar la línea Ascl1-CreERT2-Tom. Los ratones fueron conservados en cajas con una rueda ya que el ejercicio voluntario incrementa la neurogénesis [62]. Las invecciones de tamoxifeno fueron realizadas en ratones adultos de ambos sexos de entre 6 y 8 semanas de edad. Para garantizar el marcado robusto de GCs, siempre realizamos dos inyecciones en dos días consecutivos de  $120\mu g$  de tamoxifeno por cada gramo del ratón invectado [61]. Los ratones fueron anestesiados y decapitados a las 4 o 5 semanas después de la inyección, dependiendo de la edad deseada de las GCs. Los protocolos experimentales fueron aprovados por la CICUAL-IBioBA Los cerebros fueron removidos y depositados en una solución fría que contenía (mM) 110 cloruro de colina, 2.5 KCl, 2.0 NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 25.0 NaHCO<sub>3</sub>, 0.5 CaCl<sub>2</sub>, 7 MgCl<sub>2</sub>, 20 dextrosa, 1.3 ascorbato de sodio y 0.6 piruvato de sodio. Rodajas de ambos hemisferios de  $400\mu$ m de grosor fueron cortadas de manera transversal al eje longitudinal en un vibrátomo. Luego las rodajas hipocampales fueron transferidas a una cámara que contenía líquido cefalorraquídeo artificial (ACSF; mM): 125 NaCl, 2.5 KCl, 2.3 NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 25 NaHCO<sub>3</sub>, 2 CaCl<sub>2</sub>, 1.3 MgCl<sub>2</sub>, 1.3 Na+-ascorbato, 3.1 Na+-pyruvato, and 10 dextrosa (315 mOsm). Las rodajas fueron burbujeadas con 95% O2/5% CO2 y mantenidas a 30°C por más de 1 hora antes de comenzar los experimentos.

#### Registros electrofisiológicos

Las GCs inmaduras fueron identificadas visualmente utilizando fluorescencia. Las GCs utilizadas entre 28 y 30 días después de la inyección fueron etiquetadas como 4wGCs y las de entre 34 y 36 días como 5wGCs. Como comentamos, la población de mGCs está compuesta por GCs sin marcar localizadas en la parte exterior de la capa de células granulares [32, 61]. Los registros de *whole-cell current-clamp* fueron realizados utilizando microelectrodos (4–6 M $\Omega$ ) con una solución interna de gluconato de potasio (en mM): 120 gluconato de potasio, 4 MgCl<sub>2</sub>, 10 buffer HEPES, 0.1 EGTA, 5 NaCl, 20 KCl, 4 ATP-tris, 0.3 GTP-tris, y 10 fosfocreatina (pH = 7.3; 290 mOsm). Los registros fueron

realizados utilizando amplificadores Multiclamp 700B (Molecular Devices), digitalizados y adquiridos a 10 kHz en una computadora de escritorio utilizando el software pClamp10 (Molecular Devices). Antes de cada protolo de estimulación, adaptamos la corriente basal para mantener el potencial de membrana de las GCs alrededor de -70 mV.

### Apéndice B

# Propiedades matrices banda y descomposición de Cholesky

Si  $A \in \mathbb{R}$  es una matriz Hermitiana y definida positiva, admite una descomposición de Cholesky  $A = LL^T$  con L una matriz triangular inferior. Como L es una matriz triangular, su determinante es el producto de los elementos de la diagonal

$$|\boldsymbol{L}| = \prod_{i=1}^{N} L_{ii}.$$
(B.1)

Además, como  $|\boldsymbol{L}| = |\boldsymbol{L}^T|$ , tenemos

$$\log |\boldsymbol{A}| = \log \left( |\boldsymbol{L}| |\boldsymbol{L}^{T}| \right) = 2 \log |\boldsymbol{L}| = 2 \sum_{i=1}^{N} \log \boldsymbol{L}_{ii}.$$
(B.2)

Luego, para obtener el determinante de la matriz de covarianza |C| a partir de su inversa -H (sección 3.1.1.3), podemos usamos la descomposición de Cholesky de -H y las propiedades del determinante,

$$\log |\mathbf{C}| = \log |(-\mathbf{H})^{-1}| = \log |-\mathbf{H}|^{-1} = -\log |-\mathbf{H}| = -2\sum_{i=1}^{N} \log \mathbf{L}_{ii}$$
(B.3)

donde  $-\boldsymbol{H} = \boldsymbol{L}\boldsymbol{L}^T$  con  $\boldsymbol{L}$ .

# Bibliografía

- D. H. Hubel y T. Wiesel. "Receptive fields, binocular interaction and functional architecture in the cat's visual cortex". En: J. Physiol. (Lond.) (1962), págs. 106-154.
- [2] C. M. Niell y M. P. Stryker. "Highly selective receptive fields in mouse visual cortex". En: Journal of Neuroscience 28.30 (2008), págs. 7520-7536.
- [3] G. Rothschild, I. Nelken y A. Mizrahi. "Functional organization and population dynamics in the mouse primary auditory cortex". En: *Nature Neuroscien*ce 13.3 (2010), págs. 353-360.
- [4] M. A. Wilson y B. L. McNaughton. "Dynamics of the Hippocampal Ensemble Code for Space". En: Science 261 (1993), págs. 1055-1058.
- [5] B. Tasic y col. "Adult mouse cortical cell taxonomy revealed by single cell transcriptomics". En: *Nature Neuroscience* 19.2 (2016), págs. 335-346.
- [6] N. W. Gouwens y col. "Classification of electrophysiological and morphological neuron types in the mouse visual cortex". En: *Nature Neuroscience* 22.7 (2019), págs. 1182-1195.
- [7] M. Shamir y H. Sompolinsky. "Implications of neuronal diversity on population coding". En: Neural Computation 18.8 (2006), págs. 1951-1986.
- [8] M. I. Chelaru y V. Dragoi. "Efficient coding in heterogeneous neuronal populations". En: Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 105.42 (2008), págs. 16344-16349.
- [9] M. J. Berry y col. "Functional Diversity in the Retina Improves the Population Code". En: Neural Computation 2733 (2018), págs. 2709-2733.
- [10] F. Zeldenrust, B. Gutkin y S. Deneve. "Efficient and robust coding in heterogeneous recurrent networks". En: *PLoS Computational Biology* 17.4 (2021), págs. 1-27.
- [11] G. Marsat y L. Maler. "Neural heterogeneity and efficient population codes for communication signals". En: *Journal of Neurophysiology* 104.5 (2010), págs. 2543-2555.

- [12] L. A. Holmstrom y col. "Efficient encoding of vocalizations in the auditory midbrain". En: Journal of Neuroscience 30.3 (2010), págs. 802-819.
- [13] K. Angelo y T. W. Margrie. "Population diversity and function of hyperpolarizationactivated current in olfactory bulb mitral cells". En: Scientific Reports 1 (2011), págs. 1-11.
- [14] K. Padmanabhan y N. N. Urban. "Intrinsic biophysical diversity decorrelates neuronal firing while increasing information content". En: *Nature Neuroscience* 13.10 (2010), págs. 1276-1282.
- [15] S. J. Tripathy y col. "Intermediate intrinsic diversity enhances neural population coding". En: Proceedings of the National Academy of Sciences 110.20 (2013), págs. 8248-8253.
- [16] E. M. Izhikevich. Dynamical Systems in Neuroscience. The MIT Press, 2006.
- [17] C. Pozzorini y col. "Temporal whitening by power-law adaptation in neocortical neurons". En: Nature Neuroscience 16.7 (2013), págs. 942-948.
- [18] H. van Praag y col. "Functional neurogenesis in the adult hippocampus." En: Nature 415.6875 (2002), págs. 1030-4.
- [19] L. R. Squire, C. E. L. Stark y R. E. Clark. "The medial temporal lobe". En: Annual Review of Neuroscience 27 (2004), págs. 279-306.
- [20] E. I. Moser, E. Kropff y M. B. Moser. "Place Cells, Grid Cells, and the Brain's Spatial Representation System". En: Annual Review of Neuroscience 31.1 (2008), págs. 69-89.
- [21] H. Eichenbaum y col. "Cue-sampling and goal-approach correlates of hippocampal unit activity in rats performing an odor-discrimination task". En: Journal of Neuroscience 7.3 (1987), págs. 716-732.
- [22] D. Aronov, R. Nevers y D. W. Tank. "Mapping of a non-spatial dimension by the hippocampal-entorhinal circuit". En: *Nature* 543.7647 (2017), págs. 719-722.
- [23] H. Eichenbaum. "Time cells in the hippocampus: A new dimension for mapping memories". En: Nature Reviews Neuroscience 15.11 (2014), págs. 732-744.
- [24] D. G. Amaral y M. P. Witter. "The three-dimensional organization of the hippocampal formation: A review of anatomical data". En: *Neuroscience* 31.3 (1989), págs. 571-591.
- [25] J. K. Leutgeb y col. "Pattern Separation in the Dentate Gyrus and CA3 of the Hippocampus". En: Science 315.5814 (2007), págs. 961-966.
- [26] A. Treves y col. "What is the mammalian dentate gyrus good for?" En: Neuroscience 154.4 (2008), págs. 1155-1172.

- [27] A. D. Madar, L. A. Ewell y M. V. Jones. "Pattern separation of spiketrains in hippocampal neurons". En: Scientific Reports 9.1 (2019), págs. 1-20.
- [28] P. W. Frankland y col. "The dorsal hippocampus is essential for context discrimination but not for contextual conditioning". En: *Behavioral Neuroscience* 112.4 (1998), págs. 863-874.
- [29] T. J. McHugh y col. "Dentate gyrus NMDA receptors mediate rapid pattern separation in the hippocampal network." En: Science (New York, N.Y.) 317.5834 (2007), págs. 94-9.
- [30] J. P. Neunuebel y J. J. Knierim. "CA3 retrieves coherent representations from degraded input: Direct evidence for CA3 pattern completion and dentate gyrus pattern separation". En: *Neuron* 81.2 (2014), págs. 416-427.
- [31] D. A. Laplagne y col. "Functional convergence of neurons generated in the developing and adult hippocampus". En: *PLoS Biology* 4.12 (2006), págs. 2349-2360.
- [32] L. A. Mongiat y col. "Reliable activation of immature neurons in the adult hippocampus". En: *PLoS ONE* 4.4 (2009), e5320.
- [33] I. Imayoshi y col. "Roles of continuous neurogenesis in the structural and functional integrity of the adult forebrain". En: *Nature Neuroscience* 11.10 (2008), págs. 1153-1161.
- [34] N. Toni y col. "Neurons born in the adult dentate gyrus form functional synapses with target cells". En: *Proceedings of the National Academy of Sciences* of the United States of America 11.8 (2008), págs. 901-907.
- [35] Y. Gu y col. "Optical controlling reveals time-dependent roles for adult-born dentate granule cells". En: *Nature Neuroscience* 15.12 (2012), págs. 1700-1706.
- [36] S. G. Temprana y col. "Delayed Coupling to Feedback Inhibition during a Critical Period for the Integration of Adult-Born Granule Cells". En: Neuron 85.1 (2015), págs. 116-131.
- [37] "Monosynaptic inputs to new neurons in the dentate gyrus". En: Nature Communications 3.May (2012), págs. 1107-1111.
- [38] N. Toni y col. "Synapse formation on neurons born in the adult hippocampus." En: *Nature neuroscience* 10.6 (2007), págs. 727-734.
- [39] A. Marin-Burgin y col. "Unique Processing During a Period of High Excitation/Inhibition Balance in Adult-Born Neurons". En: Science 335.6073 (2012), págs. 1238-1242.
- [40] M. B. Pardi y col. "Differential inhibition onto developing and mature granule cells generates high-frequency filters with variable gain." En: *eLife* 4 (2015), e08764.

- [41] N. B. Danielson y col. "Distinct Contribution of Adult-Born Hippocampal Granule Cells to Context Encoding". En: *Neuron* 90.1 (2016), págs. 101-112.
- [42] N. Kee y col. "Preferential incorporation of adult-generated granule cells into spatial memory networks in the dentate gyrus." En: *Nature Neuroscience* 10.3 (2007), págs. 355-362.
- [43] C. D. Clelland y col. "A functional role for adult hippocampal neurogenesis in spatial pattern separation." En: Science (New York, N.Y.) 325.5937 (2009), págs. 210-3.
- [44] A. Marín-Burgin y A. F. Schinder. "Requirement of adult-born neurons for hippocampus-dependent learning". En: *Behavioural Brain Research* 227.2 (2012), págs. 391-399.
- [45] A. Sahay y col. "Increasing adult hippocampal neurogenesis is sufficient to improve pattern separation". En: *Nature* 472.7344 (2011), págs. 466-470.
- [46] T. Nakashiba y col. "Young dentate granule cells mediate pattern separation, whereas old granule cells facilitate pattern completion". En: Cell 149.1 (2012), págs. 188-201.
- [47] E. Neher y B. Sakmann. "Single-channel currents recorded from membrane of denervated frog muscle fibres". En: *Nature* 260 (1976), págs. 799-802.
- [48] O. P. Hamill y col. "Improved patch-clamp techniques for high-resolution current recording from cells and cell-free membrane patches". En: *Pflügers Archiv European Journal of Physiology* 391.2 (1981), págs. 85-100.
- [49] W. Gerstner y col. Neuronal dynamics: From single neurons to networks and models of cognition. 2014.
- [50] E. R. Kandel y col. *Principles of Neural Science*. McGraw-Hill, 2013.
- [51] B. Hille. *Ion channels of excitable membranes*. Sunderland (Mass.): Sinauer associates, 2001.
- [52] A. L. Hodgkin y A. F. Huxley. "A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve". En: J Physiol. 117.4 (1952), págs. 500-544.
- [53] R. FitzHugh. "Impulses and Physiological States in Theoretical Models of Nerve Membrane". En: Biophysical Journal 1.6 (1961), págs. 445-466.
- [54] C. Morris y H. Lecar. "Voltage oscillations in the barnacle giant muscle fiber". En: *Biophysical Journal* 35.1 (1981), págs. 193-213.
- [55] A. A. Prinz, D. Bucher y E. Marder. "Similar network activity from disparate circuit parameters." En: *Nature neuroscience* 7.12 (2004), págs. 1345-52.

- [56] J. W. Pillow y col. "Spatio-temporal correlations and visual signalling in a complete neuronal population". En: Nature 454.7207 (2008), págs. 995-999.
- [57] I. M. Park y col. "Encoding and decoding in parietal cortex during sensorimotor decision-making". En: Nature Neuroscience 17.10 (2014), págs. 1395-1403.
- [58] J. L. Yates y col. "Functional dissection of signal and noise in MT and LIP during decision-making". En: *Nature Neuroscience* 20.9 (2017), págs. 1285-1292.
- [59] K. Hardcastle y col. "A Multiplexed, Heterogeneous, and Adaptive Code for Navigation in Medial Entorhinal Cortex". En: Neuron 94.2 (2017), 375-387.e7.
- [60] J. W. Pillow, Y. Ahmadian y L. Paninski. "Model-based decoding, information estimation, and change-point detection techniques for multineuron spike trains". En: *Neural Computation* 23.1 (2011), págs. 1-45.
- [61] S. M. Yang, D. D. Alvarez y A. F. Schinder. "Reliable Genetic Labeling of Adult-Born Dentate Granule Cells Using Ascl1CreERT2 and GlastCreERT2 Murine Lines". En: Journal of Neuroscience 35.46 (2015), págs. 15379-15390.
- [62] H. van Praag, G. Kempermann y F. H. Gage. "Running increases cell proliferation and neurogenesis in the adult mouse dentate gyrus". En: *Nature Neuroscience* 2.3 (1999), págs. 266-270.
- [63] D. T. Gillespie. "Exact numerical simulation of the Ornstein-Uhlenbeck process and its integral". En: Physical Review E - Statistical Physics, Plasmas, Fluids, and Related Interdisciplinary Topics 54.2 (1996), págs. 2084-2091.
- [64] Z. Mainen y T. Sejnowski. "Reliability of spike timing in neocortical neurons". En: Science 268.5216 (1995), págs. 1503-1506.
- [65] A. R. C. Paiva, I. M. Park y J. C. Príncipe. "A reproducing kernel Hilbert space framework for spike train signal processing". En: *Neural Computation* 21.2 (2009), págs. 424-449.
- [66] R. Naud y col. "Improved Similarity Measures for Small Sets of Spike Trains". En: Neural Computation 23.12 (2011), págs. 3016-3069.
- [67] C. Pozzorini y col. "Automated High-Throughput Characterization of Single Neurons by Means of Simplified Spiking Models". En: *PLoS Computational Biology* 11.6 (2015), págs. 1-29.
- [68] L. Paninski. "Maximum likelihood estimation of cascade point-process neural encoding models". En: *Network: Computation in Neural Systems* (2004).
- [69] C. M. Bishop. Pattern Recognition and Machine Learning. Springer, 2006.
- [70] R. Brette y col. "High-Resolution Intracellular Recordings Using a Real-Time Computational Model of the Electrode". En: *Neuron* 59.3 (2008), págs. 379-391.

- [71] D. M. Arribas, Y. Zhao e I. M. Park. "Rescuing neural spike train models from bad MLE". En: Advances in Neural Information Processing Systems. Ed. por H. Larochelle y col. Vol. 33. Curran Associates, Inc., 2020, págs. 2293-2303.
- [72] A. Kuhn, A. Aertsen y S. Rotter. "Neuronal Integration of Synaptic Input in the Fluctuation-Driven Regime". En: *Journal of Neuroscience* 24.10 (2004), págs. 2345-2356.
- [73] E. Schneidman, W. Bialek y M. J. Berry. "Synergy, redundancy, and independence in population codes." En: The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience 23.37 (2003), págs. 11539-53.
- [74] A. Bakker y col. "Pattern Separation in the Human Hippocampal CA3 and Dentate Gyrus". En: Science 319.5870 (2008), págs. 1640-1642.
- [75] J. R. Epp y col. "Neurogenesis-mediated forgetting minimizes proactive interference". En: *Nature Communications* 7 (2016), págs. 5-12.
- [76] L. Wiskott, M. J. Rasch y G. Kempermann. "A functional hypothesis for adult hippocampal neurogenesis: Avoidance of catastrophic interference in the dentate gyrus". En: *Hippocampus* 16.3 (2006), págs. 329-343.
- [77] J. B. Aimone, J. Wiles y F. H. Gage. "Computational Influence of Adult Neurogenesis on Memory Encoding". En: Neuron 61.2 (2009), págs. 187-202.