



# Análisis Estadístico de Trenes de Potenciales de Acción

Proyecto Fin de Máster  
Máster en Técnicas Estadísticas

Autora: Aldana María González Montoro  
Director: Ricardo Cao Abad

Universidade da Coruña  
Curso 2009-2010



# Índice general

<b>1. Introducción</b>	<b>5</b>
<b>2. Descripción del experimento y de los datos</b>	<b>9</b>
<b>3. Trenes de Potenciales de Acción</b>	<b>11</b>
3.1. Tasas de disparo . . . . .	12
<b>4. Análisis de los tiempos entre disparos</b>	<b>23</b>
4.1. Estimación de la densidad de los ISI . . . . .	25
4.2. Estacionariedad . . . . .	29
<b>5. Medidas de correlación en trenes de Potenciales de Acción</b>	<b>35</b>
5.1. Implementación de las funciones de autocorrelación en R . . . . .	42
5.2. Dependencia en los trenes de PA . . . . .	48
5.3. Correlaciones Cruzadas . . . . .	52
<b>6. Conclusiones y Discusión</b>	<b>59</b>



# Capítulo 1

## Introducción

Las neuronas son células especializadas del sistema nervioso, son, junto con las células gliales, las unidades básicas estructurales y funcionales de éste. Estas células se encuentran organizadas en grandes y complejas redes y su función es la de conformar e interconectar los tres componentes del sistema nervioso: sensitivo, integrador y motor. Es decir, se ocupan de que la información de un estímulo en alguna región sensorial sea conducida, analizada y que la respuesta al estímulo sea reconducida a la región que corresponda. Una característica sumamente importante de estas células es la capacidad que tienen de propagar gran cantidad de información muy rápidamente a través de largas distancias. Esta información es conducida por el sistema nervioso mediante señales eléctricas que se llaman potenciales de acción.

Las neuronas están conformadas por tres partes funcionales, las dendritas, el soma y el axón. El soma es la unidad central de procesamiento de las señales. Si la entrada eléctrica que recibe es mayor a un cierto umbral, una señal de salida es generada. Las dendritas son ramificaciones del soma encargadas, a grandes rasgos, de recibir la señales de otras neuronas y transportarlas al soma. Una vez que se genera una señal de salida, ésta viaja a través del axón, que es el encargado de transmitir la información a otras neuronas. La zona de interacción entre dos neuronas se llama sinápsis. La neurona que transmite la señal recibe el nombre de neurona presináptica y la que la recibe el de postsináptica. Una sola neurona en la corteza de un vertebrado se conecta, en promedio, con unas de  $10^4$  neuronas postsinápticas.

En las distintas áreas del sistema nervioso, las neuronas están organizadas de distintas maneras pero, por ejemplo, para darnos una idea de lo complejo que es el sistema nervioso, en el área cortical están concentradas en redes de más de  $10^4$  cuerpos celulares y muchos kilómetros de “cables” por milímetro cúbico.

El mecanismo por el cual se generan los potenciales de acción tiene que ver con las características morfológicas y fisiológicas de las neuronas. A grandes rasgos, cuando las señales eléctricas de entrada que llegan al soma superan el potencial umbral, se genera un cambio brusco en el potencial eléctrico de la membrana de la célula, dando lugar al impulso nervioso que viajará a través de ésta. Al ser los potenciales de acción (PA)

cambios tan bruscos de potencial, son relativamente fáciles de observar: basta colocar un electrodo cerca o dentro del soma o el axón de la neurona en cuestión. Estos registros se llaman intracelulares o extracelulares dependiendo de si el electrodo penetra o no la célula. En la Figura 1.1, extraída de Dayan y Abbott (2001), podemos observar el dibujo de una neurona y dos registros simulados de su actividad. Por un lado tenemos un registro intracelular en el soma de la neurona y en el se pueden observar no solo los potenciales de acción sino también la actividad subumbral (en la que la entrada no alcanza a generar un PA) de la neurona. Por el otro lado, en el registro extracelular solo pueden observarse los potenciales de acción debido a que, al estar fuera de la neurona el electrodo sólo puede registrar los cambios de potencial en el medio extracelular.

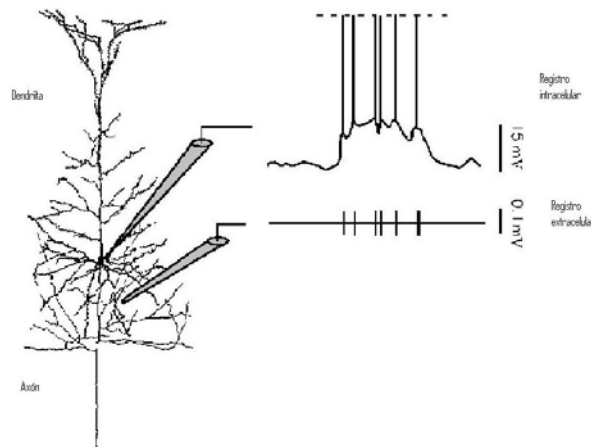


Figura 1.1: Representación de dos registros de la actividad de una neurona, uno intracelular y otro extracelular.

Los potenciales de acción, a los que también llamaremos “disparos” o “espigas” (por la forma que tienen), tienen una amplitud de aproximadamente 100 mV. y una duración de 1 – 2 ms. La forma de estos PA se mantiene prácticamente constante cuando viajan por el axón (ver Figura 1.2, también de Dayan y Abbott (2001)).

Una cadena de potenciales de acción se llama tren de PA. Los trenes de PA son muy importantes dado que la información que una neurona debe transmitir se encuentra codificada en ellos. Dado que los potenciales de acción de una neurona son prácticamente iguales, lo relevante de un tren de PA es el número de espigas y los tiempos en los que se producen. Es importante saber que dos potenciales de acción siempre estarán distanciados en una cantidad mínima de tiempo que puede variar para distintas neuronas pero es aproximadamente 1 ms. Esto se debe a que las neuronas necesitan un tiempo de recuperación después de un disparo. Este tiempo se llama período refractario. Los trenes de PA serán el objeto de estudio en este trabajo.

La neurociencia estudia la estructura y la función del sistema nervioso, principalmente el cerebro humano. Esta ciencia tiene muchas áreas de estudio y es ampliamente interdisciplinaria. Una de las ramas de la neurociencia es la electrofisiología, que estudia la

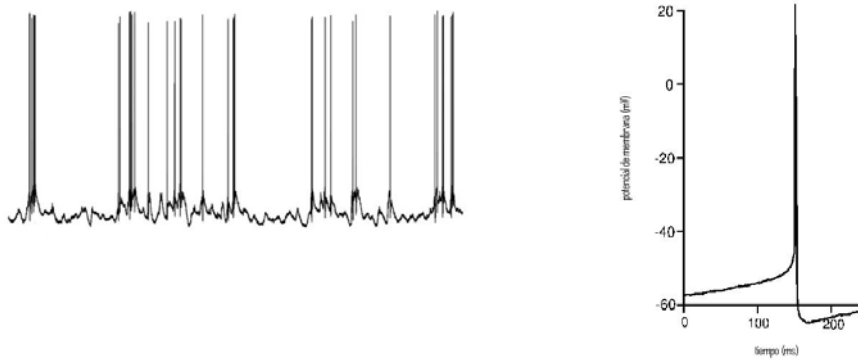


Figura 1.2: Registro real de una neurona (izquierda) y esquema de la forma de los potenciales de acción (derecha).

actividad eléctrica de las poblaciones de neuronas y por lo tanto los potenciales de acción. La electrofisiología busca entender cómo la información se encuentra codificada en estas señales. Para llevar esto a cabo, los investigadores presentan estímulos controlados, que pueden ser estímulos sensoriales, como imágenes o sonido, o directamente eléctricos en el cerebro, a un animal, que puede ser una rata, un gato o un mono, por ejemplo y registran la actividad neuronal provocada por estos estímulos. Generalmente se obtienen grandes cantidades de datos que han de ser tratados con herramientas descriptivas para entenderlos. Por otro lado, también resultan necesarios modelos matemáticos, estadísticos o computacionales para explorar y entender cómo trabaja el sistema nervioso. En los libros de Dayan y Abbot (2001) y Gerstner y Kistler (2002) se puede encontrar una introducción un poco más detallada de las nociones de neurociencia y sobre los trenes de PA en particular, así como una descripción sintética de los procesos que generan los PA dirigida al modelado de estos.

El presente trabajo se enmarca en un proyecto mayor en el que un grupo de investigadores en neurociencia y más específicamente en electrofisiología estudian el efecto que dos estímulos aplicados en dos áreas distintas del encéfalo de un gato anestesiado tienen en la respuesta neuronal. Mas detalladamente, la actividad eléctrica del encéfalo está modulada por las llamadas vías ascendentes activadoras, formadas por neuronas situadas en el tronco encefálico (TE) y en el prosencéfalo basal (PB). Esta modulación es responsable del ciclo sueño-vigilia. En estado de sueño la actividad neuronal es altamente sincronizada, de mayor amplitud y menor frecuencia que en estado de vigilia. En el experimento de este proyecto, se estimulan estas dos vías, TE y PB, de forma diferenciada en un gato anestesiado, induciendo el paso de sueño a vigilia y simultáneamente se registra la actividad neuronal extracelular en grupo de neuronas de la corteza cerebral. Este procedimiento se utiliza para estudiar las propiedades electrofisiológicas de los distintos estados encefálicos y las transiciones entre ellos.

El objetivo principal del proyecto general es caracterizar los efectos fisiológicos inducidos

por la activación diferencial de TE y PB estudiando los registros electroencefalográficos y sobre todo los registros intracraneales realizados con un multielectrodo en la corteza visual primaria del gato. Una característica esencial que diferencia los estados de sueño y vigilia es el grado de sincronización que existe entre grupos de neuronas, luego el estudio de esta sincronización en la corteza visual es también un objetivo muy importante del proyecto.

El presente trabajo es un primer paso en el estudio de los registros electrofisiológicos y busca la caracterización de un grupo de neuronas y del efecto de los estímulos en ellas. En el capítulo 2 se describe el experimento del cuál se obtuvieron los datos y los datos en sí. En el capítulo 3 se definen varias cantidades a las que se define como tasas de disparo y se describen los trenes de PA del estudio mediante éstas. El capítulo 4 trata del estudio de los intervalos de tiempos que transcurren entre dos disparos consecutivos (ISI), su estructura y la estimación de su función de densidad. En el capítulo 5 se definen algunas medidas de correlación en el contexto de los trenes de PA y se aplican a los datos del estudio. Por último, en el capítulo 6 se recogen los principales resultados, se comentan algunas técnicas alternativas y se plantean futuras líneas de trabajo.



## Capítulo 2

# Descripción del experimento y de los datos

Los datos del presente estudio fueron proporcionados por el Grupo NEUROCOM de la Universidade da Coruña. El experimento del cual se obtienen los datos se realiza en un gato anestesiado. Se introduce un multielectrodo de ocho puntas en la corteza visual primaria del animal para registrar extracelularmente la actividad de un grupo de neuronas de esta región. Simultáneamente se registra el electroencefalograma del animal y, por otro lado, se introducen otros dos electrodos en las zonas donde se aplicarán los estímulos. Los estímulos a los que nos referimos son impulsos eléctricos de 2 seg de duración que se aplican diferencialmente en las zonas bajo estudio de acuerdo al siguiente protocolo: se introduce el multielectrodo en la corteza visual primaria del gato, se comienza a registrar un grupo de neuronas durante unos minutos en actividad espontánea, luego se aplica el primer estímulo, que llamaremos “te”, durante dos segundos y luego de pasado un determinado tiempo, en el que se considera que las neuronas han recuperado su actividad espontánea, se aplica el segundo estímulo “pb” por otros dos segundos y se continúa registrando otra cantidad de tiempo que permite a las neuronas regresar a la actividad espontánea. Los registros para los dos estímulos se realizan seguidos pero en la práctica se consideran dos registros distintos.

Puede ocurrir que, cuando el multielectrodo se introduce en la corteza del gato, cada uno de los ocho electrodos que lo componen se sitúe lo suficientemente cerca de ninguna, una o varias neuronas. Es por esto que el multielectrodo puede registrar ocho, menos de ocho o más de ocho neuronas simultáneamente. Los datos con los que trabajaremos corresponden a siete neuronas. Contamos con tres registros (que llamaremos “ensayos”) de cada una de las siete neuronas por cada estímulo. Es decir, el experimento de registrar la actividad simultánea de estas siete neuronas se llevó a cabo tres veces repitiendo el protocolo descrito anteriormente.

Un ensayo en este contexto es el registro de una neurona durante el tiempo de actividad espontánea, la aplicación del estímulo y un intervalo de tiempo después de la aplicación del estímulo. Cada ensayo tiene una duración total que supera escasamente los 600 segundos (salvo uno que dura cerca de 650) y los estímulos se aplican aproximadamente a los 121

segundos desde el comienzo del registro, aunque no todos ocurren en el mismo instante. Los datos originales son presentados como instantes (en segundos con una precisión de hasta el microsegundo) en los que se producen los potenciales de acción en cada neurona. Es decir, contamos con listas de tiempos (en orden creciente) en los que se produjeron los disparos de cada una de las siete neuronas.

Para distinguir las neuronas utilizaremos los nombres N1, N3a, N3b, N4a, N4b, N5 y N7, estos nombres son los asignados por los experimentadores y tienen su razón de ser en que en algunos casos una misma punta del multielectrodo registró dos neuronas distintas y otras puntas no registraron ninguna.

# Capítulo 3

## Trenes de Potenciales de Acción

Los potenciales de acción pueden considerarse idénticos unos a otros, es decir, la duración, la amplitud y la forma de ellos no es relevante en cuanto a la codificación de la información. Es en el tiempo en el que ocurren donde se encuentra la información que contienen. Es por esto que los trenes de PA pueden ser descritos como secuencias de disparos generadas por un proceso puntual,  $\{T_i\}$ , donde  $T_i$  corresponde al tiempo donde ocurrió el  $i$ -ésimo potencial de acción. Supongamos que tenemos un registro de longitud  $T$  de la actividad de una neurona, donde se han producido  $n$  disparos, entonces tenemos un tren de PA  $\{t_i\}_{i=1}^n$  con  $0 \leq t_i \leq T$  para  $i = 1, \dots, n$ .

En el Cuadro 3 podemos observar la cantidad total de disparos producidos por cada neurona en cada ensayo

Cuadro 3.1: Número de disparos en cada ensayo para cada neurona del estudio.

	neurona N1	neurona N3a	neurona N3b	neurona N4a	neurona N4b	neurona N5	neurona N7
ensayo 1 - te	2399	2017	1538	5506	2262	1474	868
ensayo 2 - te	1929	2267	1919	6300	1921	1249	977
ensayo 3 - te	2323	3280	2818	-	3254	2746	1231
ensayo 4 - pb	2508	2211	2341	2919	2498	1411	527
ensayo 5 - pb	2496	2118	1818	5490	2287	1318	922
ensayo 6 - pb	2240	2940	3152	8152	3131	2425	1511

Podemos ver que la cantidad de disparos es bastante parecida para los distintos ensayos de una misma neurona, salvo quizás en el último ensayo, que es considerablemente más largo que los otros. Hay dos neuronas que se distinguen, una por tener muchos disparos, la N4a y la otra por tener relativamente pocos, la N7. No tendremos en cuenta el tercer ensayo de la neurona N4a dado que el registro se pierde a los 155 segundos aproximadamente.

El número total de disparos no nos ofrece mucha información mas allá de saber con cuántos PA contamos. Para obtener más información necesitamos herramientas que no dependan de la longitud del ensayo y que permitan ver las diferencias de la frecuencia de disparo a lo largo del ensayo.

En el presente experimento, cuando se aplica un estímulo eléctrico en TE y PB, las neu-

ronas registradas en la corteza cerebral comienzan a disparar con mayor frecuencia. Esto se explica en el hecho de que el estímulo simula el paso del sueño a la vigilia y las neuronas que se registran tienden a activarse en dicho paso. Uno de los objetivos de los experimentadores es caracterizar el efecto del estímulo en la actividad neuronal. Por esto, para trabajar, separaremos la actividad de las neuronas en tres períodos: antes del estímulo, período que llamaremos *pre*, inmediatamente después del estímulo, que denominaremos *tras* y el período final del estudio, donde la neurona ha recuperado su actividad espontánea *final*. Aquí es necesario aclarar que en realidad la neurona recupera su actividad espontánea paulatinamente y no de repente, pero para analizar los datos en una primera instancia no se tendrá en cuenta esta característica.

El punto de corte entre la parte *pre* estímulo y la parte *tras* estímulo es claro, es el instante en el que éste es aplicado. No es tan claro el momento en el que la neurona vuelve a la normalidad. Para definir este punto de corte observamos los tiempos transcurridos entre disparos consecutivos, también llamados ISI (Inter Spike Intervals). Estos tiempos serán objeto de análisis por sí mismos en el próximo capítulo. Definimos  $S$  como la variable que mide el tiempo que transcurre entre dos disparos consecutivos, entonces,  $\{S_i\}_{i=1}^{n-1} = \{T_{i+1} - T_i\}_{i=1}^{n-1}$ .

En la Figura 3.1 podemos observar que la distribución de la variable  $S$  en la parte *pre* estímulo del primer ensayo de la neurona N1 se caracteriza por tener una muy alta concentración de valores pequeños, pero, a la vez, una cola muy pesada a la derecha: de 418 disparos, más de 300 son menores de 0.25 segundos y por otro lado aparecen tiempos de hasta 4 segundos. Este fenómeno no es particular de la neurona N1, en todas ellas ocurre algo similar. Otra característica muy marcada presente en todos los trenes de PA es la alternancia entre los tiempos pequeños y los tiempos grandes.

Al graficar los ISI de la parte post estímulo se puede observar que, inmediatamente después del estímulo, los intervalos son muy pequeños y luego vuelven a crecer y a alternarse entre tiempos grandes y pequeños. Para cada neurona el tiempo en que vuelven a aparecer los tiempos grandes después del estímulo no es el mismo y tampoco lo es entre ensayos de una misma neurona, aún así, observando los gráficos de los ISI llegamos a la conclusión de que definir la parte *tras* como los 20 segundos inmediatos después de ser aplicado el estímulo es una buena elección.

### 3.1. Tasas de disparo

Es importante tener herramientas de descripción de los trenes de PA para caracterizar distintas neuronas, comparar unas con otras, analizar su interacción y así poder estudiar cómo las neuronas codifican la información. Una forma de describir un tren de PA es, por ejemplo, mediante su tasa de disparo. Esta tasa no puede calcularse exactamente, luego debe estimarse a partir de la información brindada por unos cuantos ensayos. Existen varias cantidades a las que se puede referir como “tasas de disparo”.

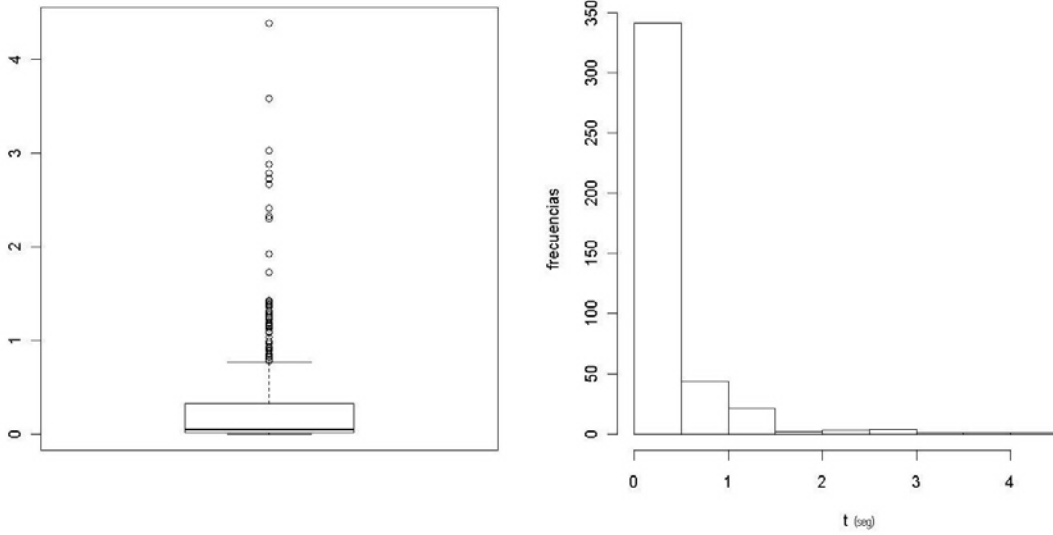


Figura 3.1: Diagrama de cajas e histograma de los ISI en el período *pre* del ensayo 1 de la neurona N1.

Cuadro 3.2: PA por segundo en dos ensayos de cada neurona.

	neurona N1		neurona N3a		neurona N3b		neurona N4a	
	ens 1- te	ens 4 - pb	ens 1- te	ens 4 - pb	ens 1- te	ens 4 - pb	ens 1- te	ens 4 - pb
<i>pre</i>	3.459	4.534	3.319	2.932	2.815	3.617	5.036	6.591
<i>tras</i>	3.95	3.8	5.9	2.45	4.7	2.9	21.45	4.25
<i>final</i>	3.844	4.081	3.136	3.867	2.324	3.964	9.506	4.419
	neurona N4b		neurona N5		neurona N7			
	ens 1- te	ens 4 - pb	ens 1- te	ens 4 - pb	ens 1- te	ens 4 - pb		
<i>pre</i>	4.26	4.443	2.237	2.122	1.271	1.453		
<i>tras</i>	5.6	4.95	3.75	2.9	1.15	0.05		
<i>final</i>	3.39	4.083	2.336	2.404	1.386	0.731		

Por ejemplo, la *tasa de conteos de PA*, con la que nos referimos a la tasa global de disparo en toda la duración del registro:

$$r_0 = \frac{n}{T}$$

En el Cuadro 3.2 podemos ver estas cantidades para el primer (que corresponde a *te*) y cuarto (que corresponde a *pb*) ensayos de las neuronas. Los resultados son presentados en PA por segundo o Hz, unidad que utilizaremos a lo largo del trabajo salvo que se especifique otra cosa.

Con esta tasa de disparo tan simple ya podemos observar una diferencia importante entre los dos estímulos. En la parte *tras* la tasa de disparo global del primer estímulo es mayor que la tasa en el segundo estímulo para todas las neuronas, mientras esto no se cumple en los otros dos períodos. Esta tasa puede ser calculada para cada ensayo pero a expensas

de perder toda resolución temporal de las variaciones en la respuesta neuronal a lo largo del ensayo. Para mejorar esto se puede definir una tasa de disparo,  $r(t)$ , que depende del instante de tiempo que consideremos. Estas tasas se pueden definir para un solo ensayo pero para obtener mejores resultados es recomendable promediar sobre todos los ensayos disponibles.

Hay muchas formas de estimar  $r(t)$ . Una de ellas, la más simple quizás, es fraccionar el tiempo total  $T$  de registro en bins y calcular la tasa de conteos de PA en cada bin. Si contamos con un solo ensayo,  $\{t_i^{(1)}\}_{i=1}^{n_1}$ , dividimos el largo total del registro en  $J$  intervalos de ancho  $h$  y calculamos para  $t \in [hj, h(j+1))$ ,

$$\hat{r}^{(1)}(t) = \frac{1}{h} \sum_{i=1}^n I\{hj < t_i^{(1)} < h(j+1)\}$$

con  $I\{A\}$  la función indicadora del conjunto  $A$ .

Esta estimación de  $r(t)$  es similar a un histograma y depende no solo del ancho de intervalo elegido, sino también de la posición en la que se los ubica. Para evitar esta dependencia arbitraria en los bins podemos tomar una ventana de longitud  $h$ , desplazarla a lo largo del tren de PA y calcular la tasa de conteos de PA en cada posición, definiendo el estimador

$$\hat{r}_h^{(1)}(t) = \sum_{i=1}^n \frac{1}{h} K\left(\frac{t - t_i^{(1)}}{h}\right)$$

con

$$K(u) = \begin{cases} 1/2 & \text{si } -1 < u < 1 \\ 0 & \text{en caso contrario} \end{cases}$$

$K$  se llama función ventana o función núcleo. Como ya hemos dicho, esta estimación se vuelve mucho más precisa al utilizar varios ensayos. Para obtener buena resolución temporal, el  $h$  debe ser lo suficientemente pequeño, luego corremos el riesgo de que pueda caer un solo spike en cada intervalo, provocando que  $\hat{r}_h^{(1)}(t)$  pueda tomar solo dos valores, 0 o 1. Si se cuenta con  $N$  ensayos, este problema se soluciona definiendo el estimador de la tasa de disparos dependiente del tiempo,  $\hat{r}_{h,N}(t)$ , como el promedio de las tasas estimadas para cada uno de los  $N$  ensayos:

$$\hat{r}_{h,N}(t) = \frac{1}{N} \sum_{k=1}^N \hat{r}_h^{(k)} = \frac{1}{N} \sum_{k=1}^N \sum_{i=1}^{n_k} \frac{1}{h} K\left(\frac{t - t_i^{(k)}}{h}\right)$$

Es interesante observar que  $2\hat{r}_{h,N}(t)h$  resulta ser el promedio de espigas ocurridas entre  $t - h$  y  $t + h$  en los  $N$  ensayos. Para un  $h$  suficientemente pequeño no habrá más de un spike en el intervalo  $[t - h, t + h]$  en cada ensayo, luego  $\hat{r}(t)$  es la proporción de trenes en los que ocurrió un disparo y por lo tanto está estimando la probabilidad de que ocurra un disparo en un intervalo de ancho  $h$  de tiempo.

De forma más general, la función núcleo  $K$  se puede elegir como cualquier función, típicamente no negativa, que satisfaga  $\int_{-\infty}^{\infty} K(t)dt = 1$ . Por ejemplo se suele utilizar el núcleo

gaussiano  $K(u) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \exp(-\frac{u^2}{2})$ .

En el contexto de la estimación no paramétrica de la función densidad, para una muestra  $X_1, \dots, X_n$ , se define el estimador tipo núcleo como

$$\hat{f}_h(x) = \frac{1}{nh} \sum_{i=1}^n K\left(\frac{x - X_i}{h}\right) = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n K_h(x - X_i)$$

donde  $K$  es la función núcleo,  $h$  es el ancho de ventana o parámetro de suavizado, que determina el ancho de la función que se situará en cada observación y  $K_h(u) = 1/hK(u/h)$  es el núcleo reescalado. Para más detalle sobre la estimación no paramétrica tipo núcleo de la densidad ver los libros de Wand y Jones (1995) y Silverman (1986).

La similitud con el estimador de la tasa de disparo dependiente del tiempo es clara,

$$\hat{r}_h(t) = n\hat{f}_h(t)$$

es por esta relación que para este estudio hemos utilizado las herramientas de R desarrolladas para la estimación de la función de densidad. En este caso, utilizaremos la rutina `bkde` de la librería `KernSmooth`.

A modo de ejemplo, en la Figura 3.2 se pueden observar las tasas de disparos estimadas por distintos procedimientos para un ensayo de la neurona N1. En la Figura 3.2 a) se observa el “raster plot” de este ensayo, este tipo de gráfico es muy utilizado por los investigadores en neurociencia y muestra los instantes en los que ocurrieron los disparos. Es muy útil para comparar distintos ensayos de una misma o distintas neuronas que han sido sometidas a un estímulo, para identificar patrones o tener una primera impresión del tipo de respuesta que las neuronas presentan.

A continuación analizaremos algunos ejemplos de estas estimaciones utilizando el estimador con kernel gaussiano, lo haremos para las partes *pre* y *tras* estímulo de dos neuronas: la N1 y la N3b.

Es importante destacar que, para realizar las estimaciones de  $r(t)$ , se ha utilizado el método “plug-in” de Sheather y Jones para la elección de la ventana (ver Sheather y Jones (1991)). Este selector automático está implementado en R en la rutina `dpik`. Esta rutina utiliza por default como estimador de la escala el mínimo entre la desviación estandard de los datos y el rango intercuartílico dividido por 1.349, pero también se puede especificar que se use uno de estos dos concretamente; también se le debe indicar el nivel de estimación funcional que debe utilizar, el default es 2. En algunos casos, sobre todo cuando se trabaja con un solo ensayo, estos selectores parecen suavizar demasiado, perdiéndose así la información referente a los intervalos largos sin espigas.

En Nawrot et al (1999) se expone el método de la estimación tipo núcleo de la tasa de disparo en función del tiempo para un solo ensayo y se presenta un estudio del desempeño de este estimador, más específicamente, con respecto a la influencia de la elección

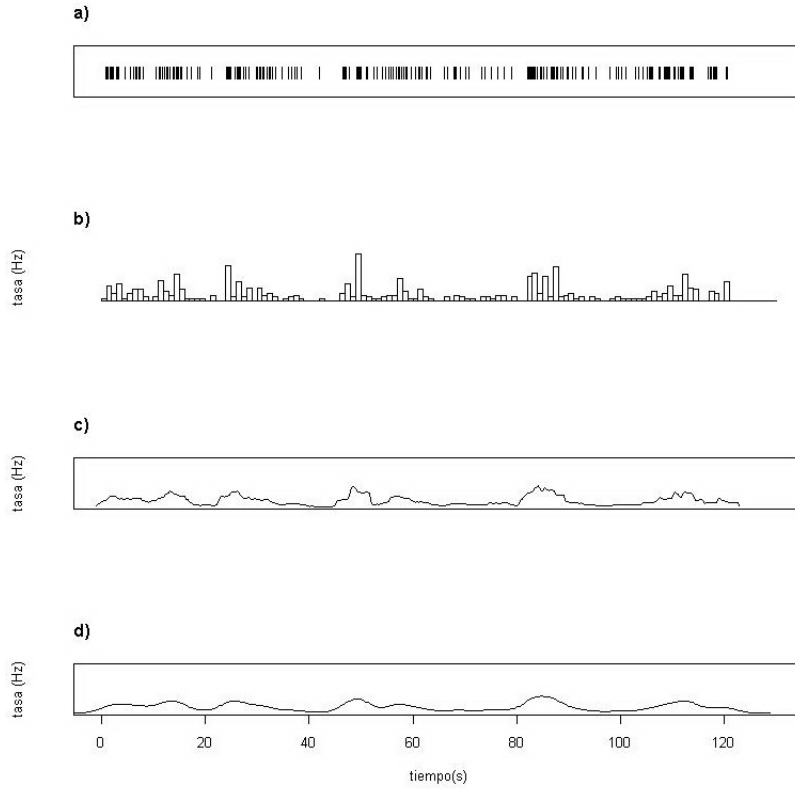


Figura 3.2: a) “raster plot” del ensayo 1 de la neurona N1, b) tasas de disparo estimadas con un histograma de bins de 1 seg, c) tasa de disparo estimada con un núcleo uniforme con ancho de ventana 2 y d) tasa de disparo estimada con un núcleo gaussiano, utilizando un ancho de ventana 2.

de la función núcleo y el parámetro de suavización en el error cuadrático medio integrado (MISE).

En las Figuras 3.3 y 3.4 se puede observar  $\hat{r}(t)$  para cada ensayo de las neuronas N1 y N3b así como la tasa estimada con todos los ensayos de cada estímulo. En estas estimaciones, así como en todas las similares que siguen, se ha corregido el efecto frontera mediante la técnica de reflexión. Supongamos que  $\alpha(t)$  es un estimador tipo núcleo con efecto frontera en  $[0, A]$ . Luego, la corrección de este estimador,  $\beta(t)$ , se construye considerando  $\alpha(t)$  en  $[-a, A + a]$  para un cierto  $a$  y definiendo

$$\beta(t) = \begin{cases} 0 & \text{si } t < 0 \text{ ó } t > A \\ \alpha(t) + \alpha(-t) & \text{si } 0 \leq t \leq a \\ \alpha(t) & \text{si } a \leq t \leq A - a \\ \alpha(t) + \alpha(2A - t) & \text{si } A - a \leq t \leq A \end{cases}$$

En el caso del período *pre* el registro está hecho sin efecto de ningún estímulo, luego, los 6



ensayos pueden considerarse repeticiones del mismo experimento y utilizarlos todos para estimar  $r(t)$  y así aumentar la precisión. Esta estimación también puede observarse en los apartados c) de esas Figuras.

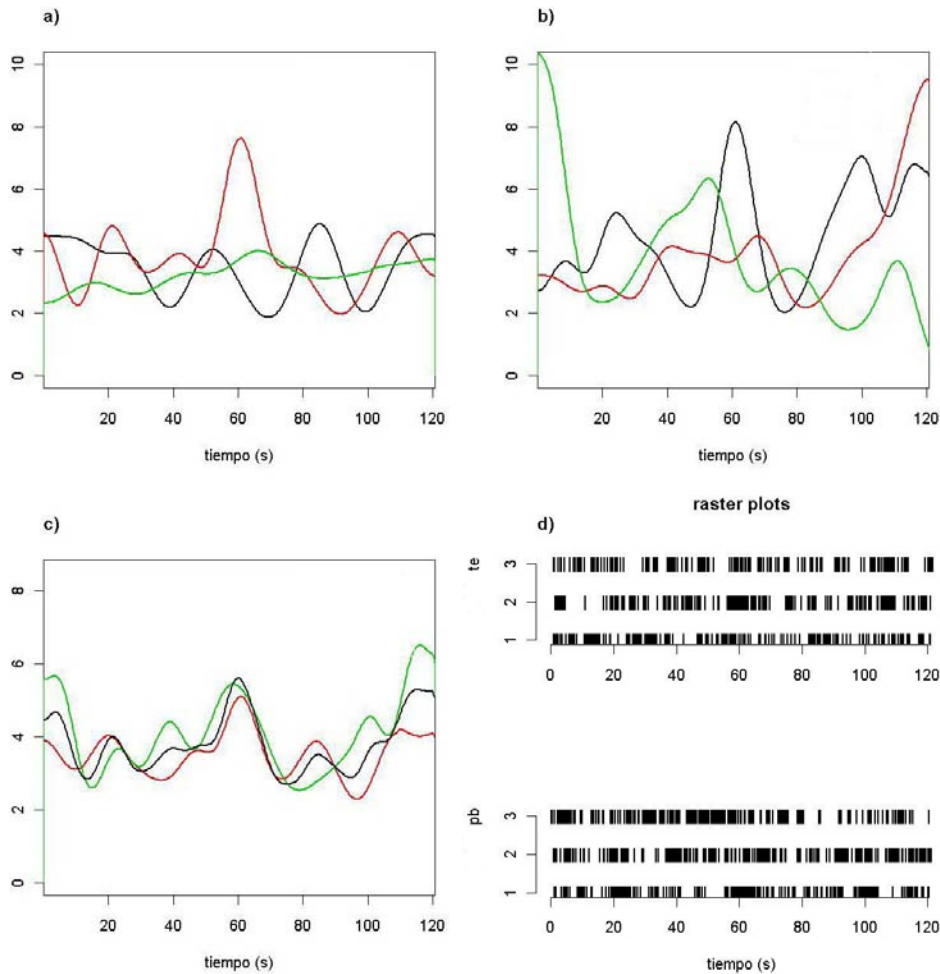


Figura 3.3: Neurona N1 parte *pre* estímulo: a) tres ensayos del estímulo *te*. b) Tres ensayos del estímulo *pb*. c) Tasas calculadas con los tres ensayos de cada estímulo (rojo: *te*, verde: *pb*) y con los seis (negro). d) “Raster plot” de todos los ensayos.

Estas estimaciones de  $r(t)$  se presentan sólo a modo ilustrativo de la técnica de estimación de tasas de disparo. Esto se debe a que en el caso de la parte *pre*, el promedio entre ensayos no tiene sentido debido a que si bien los registros provienen de la misma neurona, estos no cuentan con un comienzo común, no poseen un punto de partida desde el cual se pudiera esperar el mismo tipo de respuesta, como sería la presentación de un estímulo. Este tipo de registros podrían servir para estudiar la actividad espontánea de las neuronas, como, por ejemplo, comportamientos oscilatorios similares entre ensayos o algún tipo de regularidad. Este tipo de comportamiento no se observa en estos ensayos. Al estimar las tasas promediando podemos ver como estas tasas van teniendo menos va-

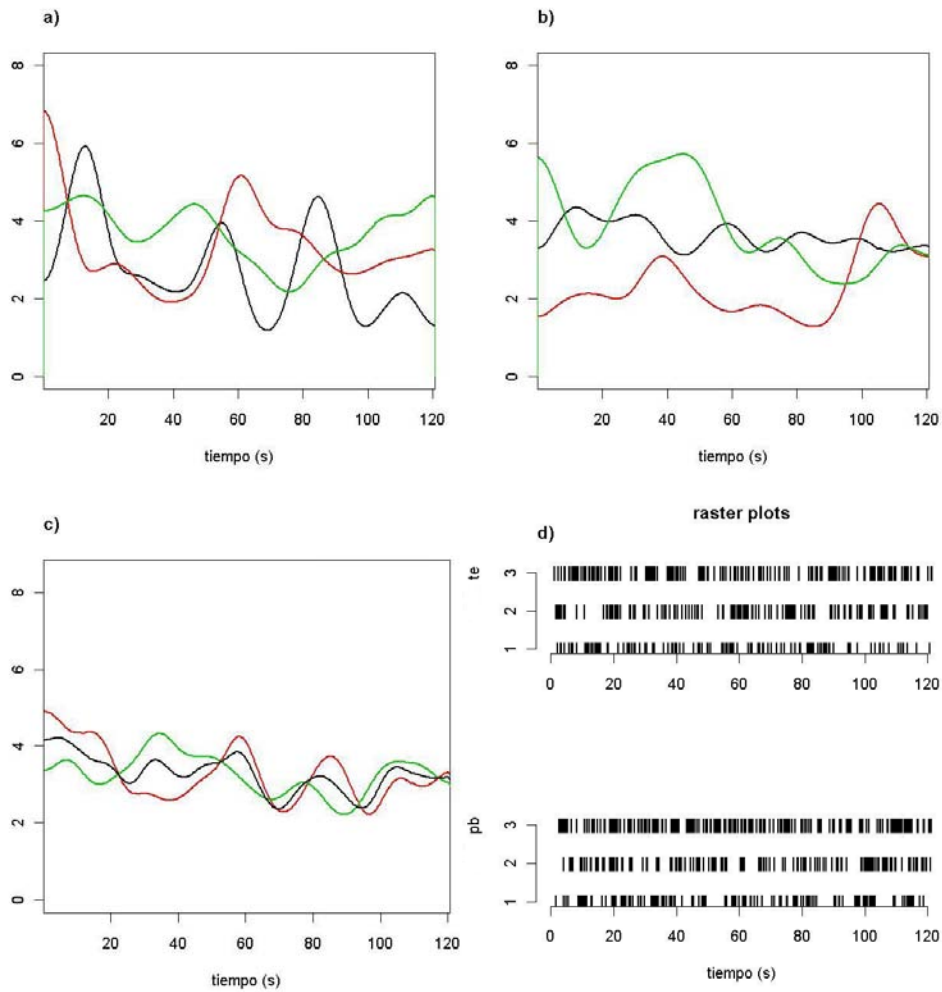


Figura 3.4: Neurona N3b parte *pre* estímulo: a) tres ensayos del estímulo *te*. b) Tres ensayos del estímulo *pb*. c) Tasas calculadas con los tres ensayos de cada estímulo (rojo: *te*, verde: *pb*) y con los seis (negro). d) “Raster plot” de todos los ensayos. e) “Raster plot” de todos los ensayos.

riabilidad, probablemente si contáramos con un gran número de ensayos estas tasas se volverían prácticamente constantes.

Observando los ensayos por separado, vemos que la neurona N1 oscila desde 1.5 Hz hasta 8 Hz mientras que en la estimación  $\hat{r}_{h,6}(t)$  se ve que este rango se achica a 2 y 6.5 Hz. La neurona N3b tiene un máximo menor que la N1, aproximadamente 6 Hz pero el mínimo es muy parecido, 1.5 Hz, el cual sube considerablemente al tomar promedios. Observar que muchos ensayos de esta neurona tienen poca variabilidad y al tomar promedios la tasa es casi constante. La neurona N3a también presenta actividad poco variable, alcanzando un máximo y mínimo de 5.5 y 2 Hz respectivamente y la tasa de disparo promediada de esta neurona también es prácticamente constante. La neurona N4a tiene una muy elevada

actividad espontánea. Uno de los ensayos alcanza una tasa de disparo de 25 Hz y con una tasa media de aproximadamente 17 Hz, otro de los ensayos alcanza los 15 Hz y oscila alrededor de los 12 Hz. Los ensayos restantes tienen un máximo de 10 Hz y sólo en una ocasión desciende hasta 2 Hz, para estos ensayos la media es aproximadamente 5 Hz. Por último, las neuronas N5 y N7 presentan una muy baja actividad. La N5 alcanza como máximo los 4.5 Hz en sólo dos ocasiones para luego mantenerse entre 1.5 y 3.5 Hz. La N7 es la que menos actividad tiene, manteniéndose casi siempre entre 1 y 2.5 Hz.

Mucho más informativo es estimar las tasas de disparos dependientes del tiempo en la parte *tras*. Es de esperar que cada vez que se aplique el mismo estímulo, cada neurona se comporte de forma similar. Aquí sí es de suma importancia contar con varios ensayos para poder promediar y reducir así el efecto de la variabilidad para poder observar la verdadera respuesta que se está generando a partir del estímulo. En las Figuras 3.5 y 3.6 se pueden observar las tasas estimadas para cada ensayo, así como la estimada sobre todos los ensayos de cada estímulo.

En la neurona N1 se observa un pequeño aumento de la tasa de disparo inmediatamente después de ambos estímulos. Este aumento es mayor para el estímulo 1 y además es claro como después de unos 7 segundos la tasa disminuye. Esto se puede observar en todos los ensayos (más marcado en los ensayos 1 y 3) y en el promedio de los tres ensayos. También se puede observar que para el estímulo 2 la tasa alcanza otro pico a los 17 segundos aproximadamente que también supera la tasa estimada para la parte *pre*. De todas maneras, a simple vista, estas diferencias no son muy grandes, por lo tanto, en principio, de aquí no se puede inferir una respuesta neuronal a los estímulos muy acentuada.

En el caso de la neurona N3b, el efecto del estímulo 1 es mucho más claro. Al rededor de los 5 segundos después del estímulo hay un pico en la tasa de disparo que alcanza los 17 disparos por segundo, luego la tasa desciende considerablemente significando probablemente que la neurona regresa a la actividad espontánea. El estímulo 2 parece no afectar en absoluto a esta neurona, dado que la tasa de disparo se mantiene en los mismos valores que en la parte *pre*.

En todas las neuronas hay una actividad mayor después del primer estímulo que después del segundo, es decir, parece que la respuesta neuronal al estímulo *te* es mayor que para el *pb*, aunque en algunas neuronas es mucho más marcado que en otras. La neurona N3a alcanza una tasa de 12 Hz después de 5 segundos de *te*. Para el estímulo *pb* se puede observar solamente un pequeño aumento de la tasa con respecto a la parte *pre* a los 17 segundos del estímulo, pero esto podría no ser efecto de *pb* sino solamente de la variabilidad de la tasa. En el caso de las neuronas N5 y N7 es muy particular lo que ocurre. Para la N5 la actividad crece mucho luego de *te*, alcanza los 15 Hz a los 3 segundos y luego decrece rápidamente. Sin embargo, para el estímulo *pb* no se ve actividad diferente a la de la parte *pre*. Más aún, por momentos la tasa disminuye tomando valores menores a 1 Hz. En la N7 sucede que, para el estímulo *te* hay un aumento de la tasa a 4 Hz en el cuarto segundo, sin embargo la neurona prácticamente “se calla” después del segundo estímulo. La neurona N4a presenta mucha actividad con respecto a las otras. En la parte

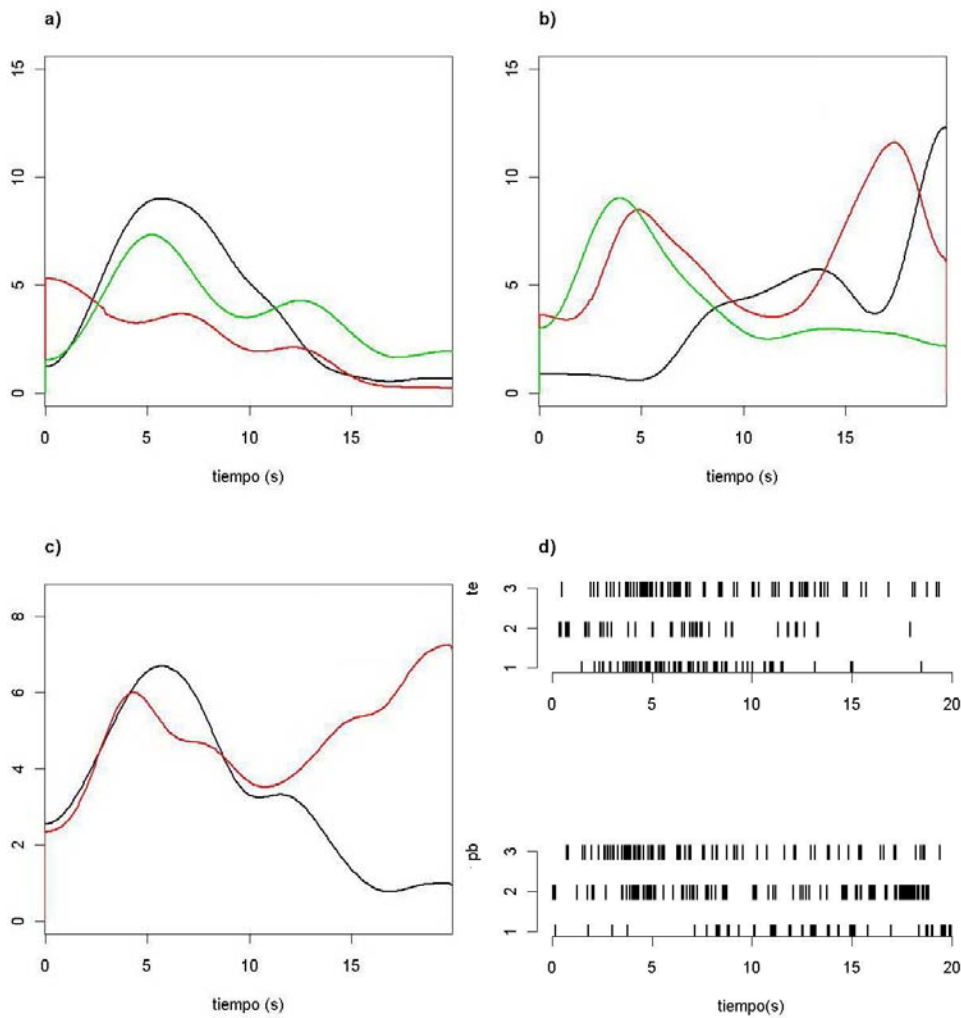


Figura 3.5: Neurona N1 parte *tras* estímulo: a) tres ensayos estímulo *te*. b) Tres ensayos del estímulo *pb*. c) Tasas calculadas con los tres ensayos de cada estímulo (negro: *te*, rojo: *pb*). d) "Raster plot" de todos los ensayos.

*pre* mantiene una tasa de entre 7 y 12 Hz de promedio. Luego de 7 segundos del primer estímulo la actividad alcanza los 35 Hz y luego de 5 segundos del segundo estímulo alcanza los 20 Hz y también vuelve a subir aproximadamente a los 17 segundos hasta 15. Esta última neurona es particular por la gran actividad y también por la gran disparidad de los distintos ensayos.

En resumen, podríamos decir que el estímulo *te* provoca una mayor activación que el estímulo *pb* y ésta se observa alrededor de los 5 segundos luego de aplicado el estímulo. Por otro lado, el segundo estímulo podría estar provocando una respuesta más tardía.

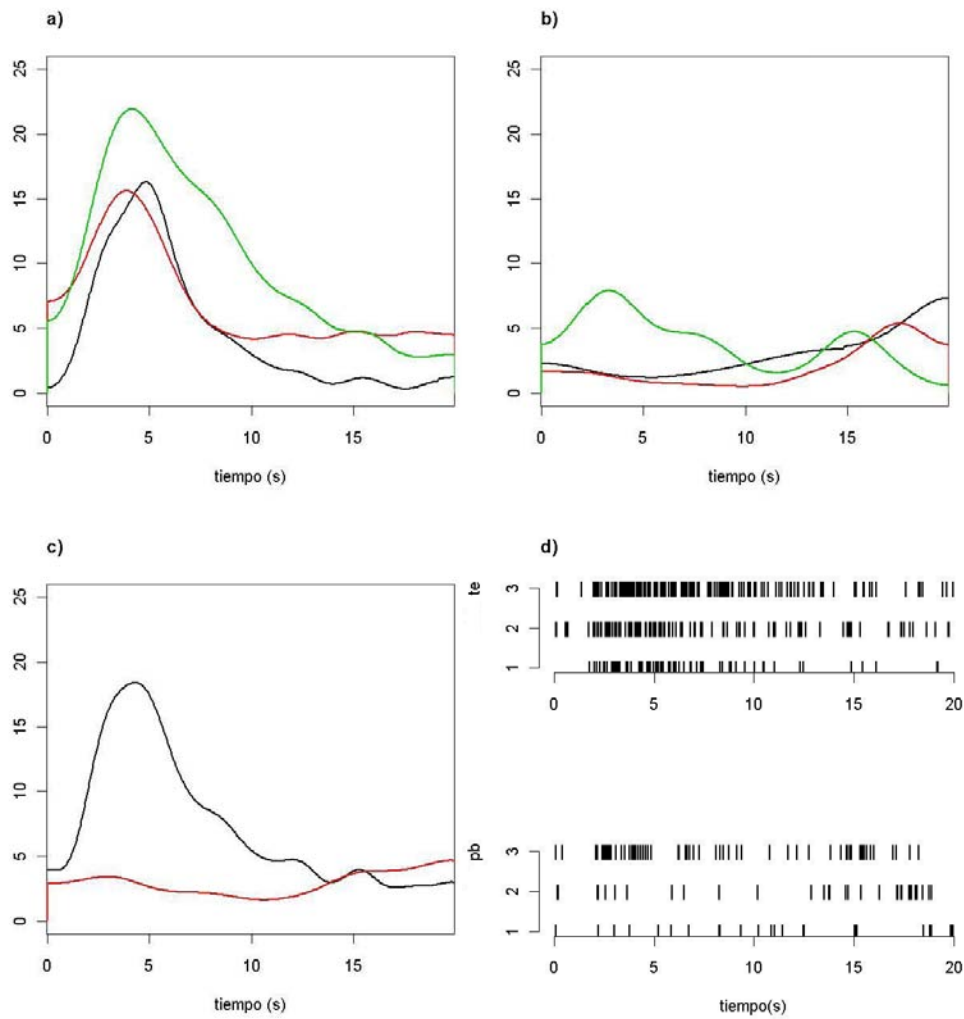


Figura 3.6: Neurona N3b parte *tras* estímulo: a) tres ensayos del estímulo *te*. b) Tres ensayos del estímulo *pb*. c) Tasas calculadas con los tres ensayos de cada estímulo (negro: *te*, rojo: *pb*). d) “Raster plot” de todos los ensayos.



# Capítulo 4

## Análisis de los tiempos entre disparos

En el capítulo anterior definimos los tiempos entre disparos, ISI. En este capítulo nos dedicaremos a estudiarlos un poco más en profundidad.

En la Figura 3.1 podíamos ver que la distribución de las observaciones de los tiempos entre disparos del ensayo 1 de la neurona N1 tomaba muchos valores muy pequeños y unos pocos valores considerablemente grandes. Esta situación se repite a lo largo de todos los ensayos de todas las neuronas es por esto que trabajaremos con los logaritmos de los ISI, que harán a los resultados más fáciles de interpretar. En la Figura 4.1 mostramos los diagramas de caja y los histogramas de los logaritmos de  $\{s_i\}_{i=1}^{n-1}$  del ensayo 1 de la neurona N1. En ella podemos observar que la mediana de la parte *tras* se encuentra un poco por encima de las medianas de los otros dos períodos y también que la variabilidad de esta parte es mucho menor. Este no es un caso aislado, en todas las neuronas y para los dos estímulos se da esta situación. En general el máximo y el mínimo de las partes *pre* y *final* son aproximadamente 2 y  $-7/-6$  respectivamente y la mediana se encuentra cerca del  $-2$  o el  $-3$ . En algunos casos, como el de la neurona N4a, aparecen muchos datos atípicos del lado positivo.

La respuesta de una neurona a un estímulo tiende a ser no determinística. Los trenes de PA son procesos probabilísticos y en la literatura es común encontrar que son modelados con procesos de Poisson. En el caso de los procesos de Poisson homogéneos, cualquier tren de  $n$  espigas tiene igual probabilidad de ocurrir, los disparos son independientes unos de otros y el tiempo que transcurre entre un disparo y otro sigue una distribución exponencial.

Como primer paso realizamos el test de independencia de Ljung-Box para verificar si nuestras observaciones son independientes. Como lo que nos interesa ver es si dos disparos consecutivos son independientes, utilizamos retardos de grado 1. Realizamos el test con la rutina `Box.test` de R y en todos los casos resultó que se rechaza la hipótesis de independencia.

A continuación, queremos ver si los ISI de las partes *pre* y *tras* (sin transformar) provienen de una distribución exponencial. Por otro lado, al trabajar con los logaritmos de los ISI nos preguntamos si la distribución de éstos no se podría ajustar a alguna distribución

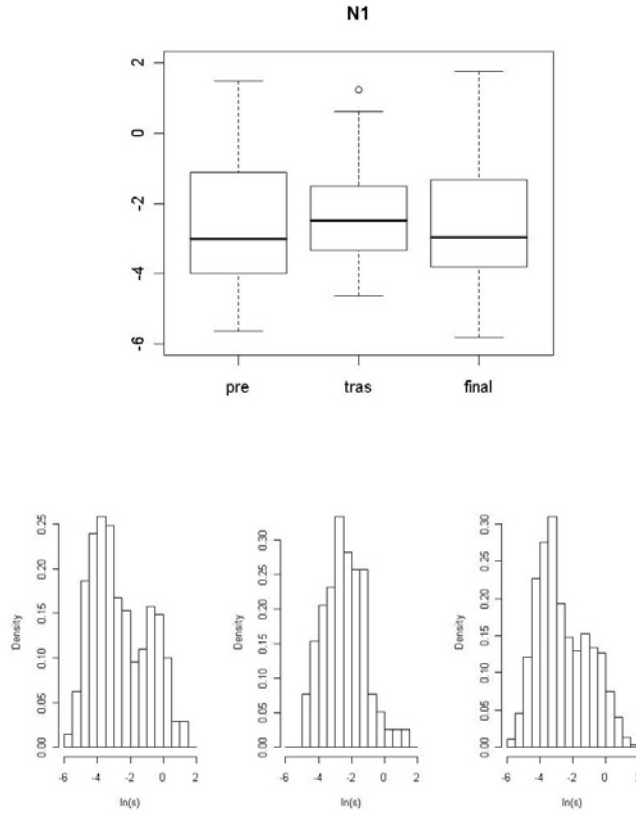


Figura 4.1: Diagramas de caja e histogramas de  $\log(s)$  para los tres períodos del ensayo 1 de la N1.

conocida.

Para contrastar estas hipótesis utilizamos los tests de Kolmogorov-Smirnov y de Anderson-Darling. Éstos dos son tests no paramétricos que se basan en la comparación de la distribución empírica de los datos con la distribución teórica que se quiere contrastar. Dada una muestra aleatoria  $X_1, X_2, \dots, X_n$  de una población con función de distribución continua desconocida  $F$ , los estadísticos de contraste de Kolmogorov-Smirnov y Anderson-Darling para contrastar la hipótesis nula  $H_0 : F(x) = F_0(x)$  contra la alternativa  $H_1 : F(x) \neq F_0(x)$  están definidos por

$$D_{KS} = \sup_x |F_n(x) - F_0(x)|$$

$$D_{AD} = \int_{-\infty}^{\infty} \frac{(F_n(x) - F_0(x))^2}{F_0(x)(1 - F_0(x))} dF_0(x)$$

donde  $F_n(x)$  es la función de distribución empírica de la muestra. Estos dos estadísticos son de distribución libre cuando la hipótesis nula es cierta, ver Chakravarti et al (1967) y Stephens et al (1974). Para el cálculo de los  $p$ -valores se utilizaron las rutinas `ks.test` y `ad2.test` de la librería `truncgof` de R. Estas rutinas calculan los  $p$ -valores mediante



métodos Monte Carlo, ver Chernobay et al (2005). Para estimar los parámetros de las funciones teóricas a contrastar se utilizó la rutina `fitdistr` de la librería MASS que los calcula por máxima verosimilitud.

En el caso de los logaritmos de los ISI se realizaron contrastes contra las distribuciones normal, lognormal, logística, gamma, binomial negativa, weibull, chi cuadrado, F de Snedecor y t, entre otras. En todos los casos se pudo rechazar la hipótesis de que los datos de la parte *pre* provinieran de estas distribuciones, sin embargo, los datos de la parte *tras* se ajustan a la normal, a la t, a la lognormal, a la gamma y a la weibull dependiendo del ensayo y la neurona. Como estos ajustes resultan distintos para distintos ensayos y neuronas decidimos abandonar esta vía de estudio.

Para los ISI sin transformar los test de bondad de ajuste a la distribución exponencial dieron rechazo absoluto en todos los casos, con  $p$ -valores del orden de  $2 \times 10^{-16}$ . Luego podemos concluir que los tiempos entre disparos sucesivos no provienen de una distribución exponencial bajo actividad espontánea ni bajo el efecto de los estímulos y por lo tanto, no son generados por un proceso de Poisson homogéneo.

A continuación estimamos no paramétricamente las densidades de los ISI de cada neurona a partir de las muestras.

## 4.1. Estimación de la densidad de los ISI

Para estudiar la distribución de la que provienen los ISI, en esta sección estimamos no paramétricamente la densidad de los logaritmos de los ISI, en cada período, con el método núcleo presentado en el capítulo anterior, utilizando la rutina `bkde` del paquete `KernSmooth` de R y la selección de ventana automática `dpik` que hace uso del método plug-in de Seather y Jones. Como en la estimación de las tasas de disparo dependientes del tiempo, en esta ocasión utilizamos el núcleo gaussiano. Los resultados para las siete neuronas se pueden observar en la Figura 4.2 y 4.3.

Es muy notable que cada neurona parece tener una densidad propia; en la parte *pre* hay neuronas que son bimodales y algunas trimodales. Por lo general se cumple que todas las neuronas tienen una moda en valores de tiempo muy pequeños y luego otra alrededor del 0. También se puede observar que en la parte *tras* las formas de las densidades cambian para ser recuperadas, en gran medida, en la parte *final* del registro. Esta diferencia es muy notable, por ejemplo, en la N1 en el caso del estímulo *te*, sin embargo, para el estímulo *pb* la densidad no se modifica mucho en la parte *tras*. En la neurona N4a no parece haber diferencias entre los tres períodos y por otro lado, en las neuronas N3a y N3b las densidades del *pre* no parecen recuperarse del todo en el período *final*, salvo quizás para el estímulo *pb* de la N3b. Un punto interesante es que, aunque las densidades fueron estimadas utilizando todos los ensayos juntos, estas características se mantienen en cada ensayo. Por ejemplo en la Figura 4.4 podemos ver dos ensayos de la neurona N1.

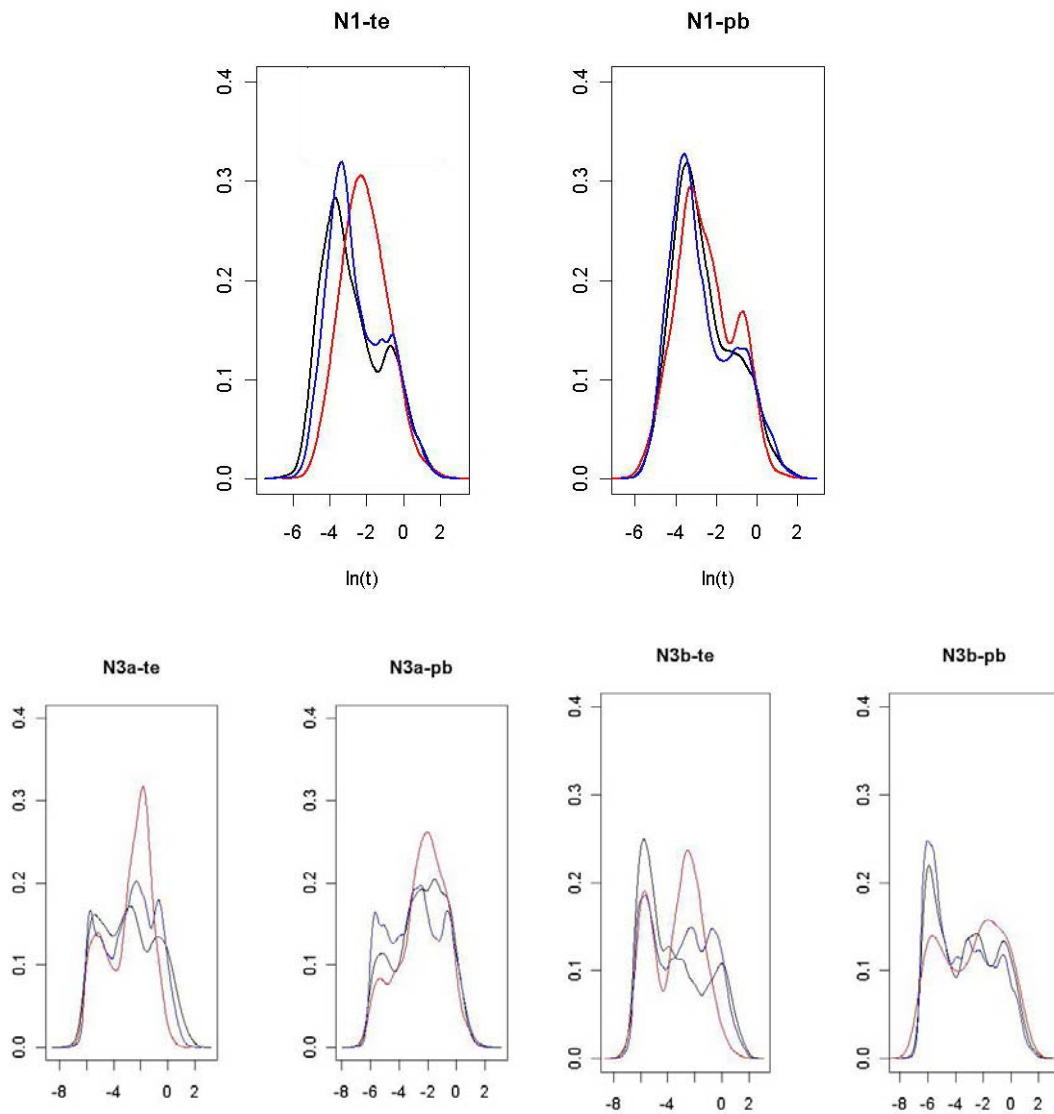


Figura 4.2: Estimación de la densidad de los logaritmos de los ISI en cada período para las neuronas N1, N3a y N3b. Negro: *pre*, rojo: *tras*, azul: *final*. Estas estimaciones fueron calculadas con todos los ensayos de cada estímulo.

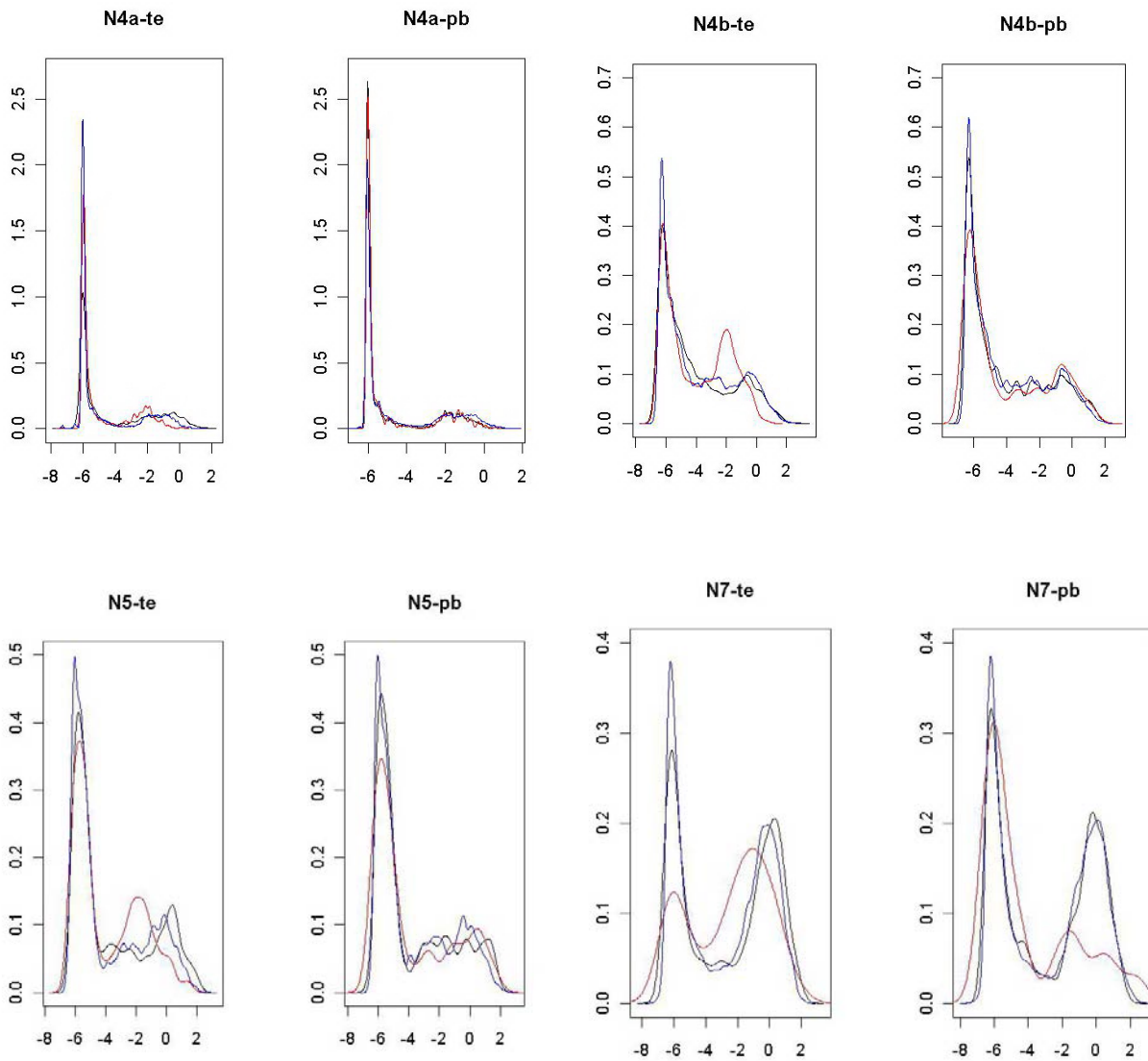


Figura 4.3: Estimación de la densidad de los logaritmos de los ISI en cada período para las neuronas N4a, N4b, N5 y N7. Negro: *pre*, rojo: *tras*, azul: *final*.

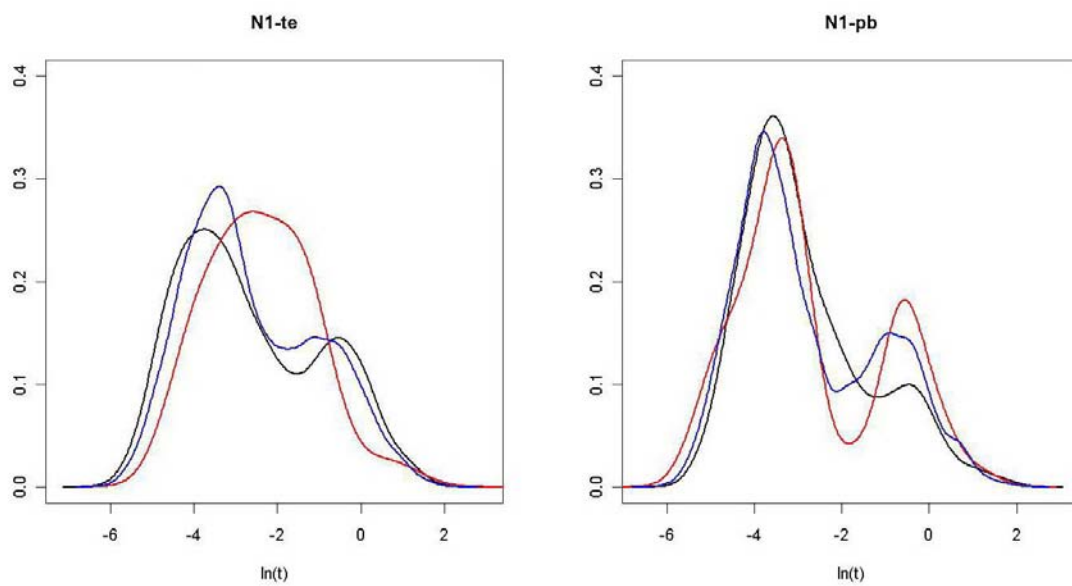


Figura 4.4: Estimación de la densidad para dos ensayos de la neurona N1. Negro: *pre*, rojo: *tras*, azul: *final*.

## 4.2. Estacionariedad

Para ver si la actividad neuronal observada en la parte *pre* se recupera luego de pasado el efecto del estímulo, es decir, si la actividad espontánea en la parte *final* del registro se puede describir con la misma función de densidad que la de la parte *pre*, lo primero que necesitamos saber es si la distribución de los disparos bajo actividad espontánea es la misma a lo largo del tiempo, es decir, si es estacionaria. Para ver esto realizamos estimaciones de la densidad en la parte *pre* utilizando ventanas móviles: definimos un ancho de ventana  $v$  y fuimos desplazando esta ventana con pasos de longitud  $v/2$ , es decir que cada ventana se solapa con la anterior (y la siguiente) en  $v/2$  segundos. En cada una de estas ventanas estimamos la densidad de los ISI de la misma forma en la que se llevó a cabo en la sección anterior. En este caso utilizamos  $v = 48$  segs, lo que nos permitió observar 5 submuestras y por lo tanto, estimar 5 densidades. Este procedimiento se llevó a cabo para todos los ensayos de cada neurona. Se pueden ver las gráficas para dos ensayos de cada una de dos neuronas, la N1 y la N3a, en las Figuras 4.5 y 4.6.

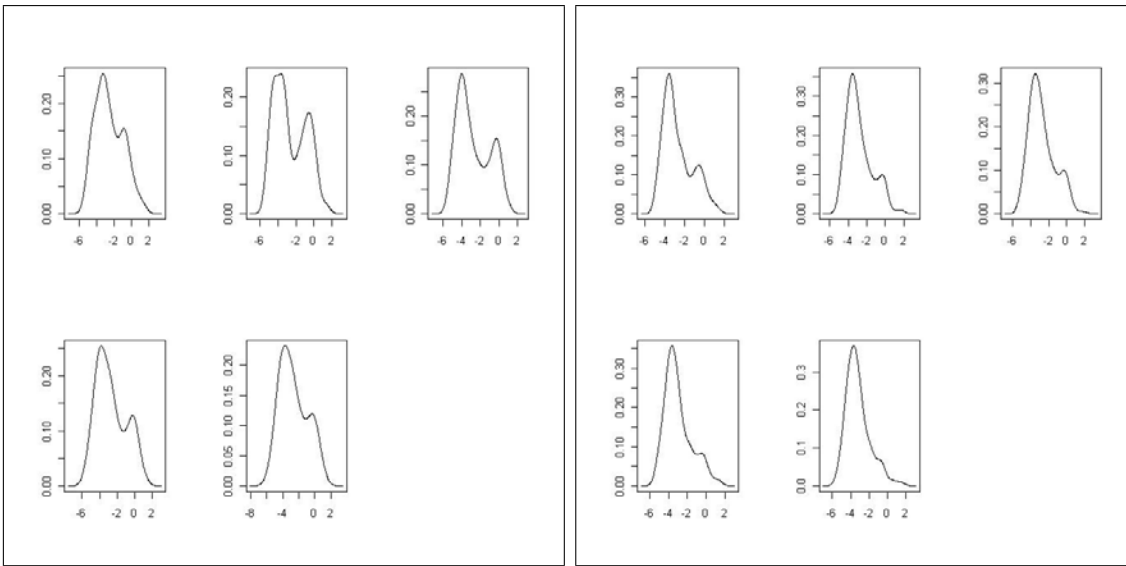


Figura 4.5: Estudio de la estacionariedad de la densidad en la parte *pre* de la neurona N1. Izquierda: ensayo 1 para el estímulo *te*. Derecha: ensayo 1 para el estímulo *pb*.

En la N1 todos los ensayos son muy parecidos a los que se ven en las figuras. Algunas densidades tienen las dos modas bien marcadas, como también se ve en la estimación con todos los ensayos del estímulo *te* en las Figuras 4.2 y 4.3. Otras no son bimodales pero sin embargo se puede intuir dónde podría estar una segunda moda, como es el caso de las últimas ventanas del primer ensayo del estímulo *pb* que observamos a la derecha en la Figura 4.5, esto también se ve en las Figuras 4.2 y 4.3 en el caso del estímulo *pb*. A pesar de estas diferencias, las densidades pueden considerarse razonablemente estacionarias, es decir, que la distribución de los ISI bajo actividad espontánea de esta neurona no cambia con el tiempo. Además, se puede ver que esta densidad se mantiene constante a través de los ensayos, lo cuál es muy importante para caracterizar a la neurona.

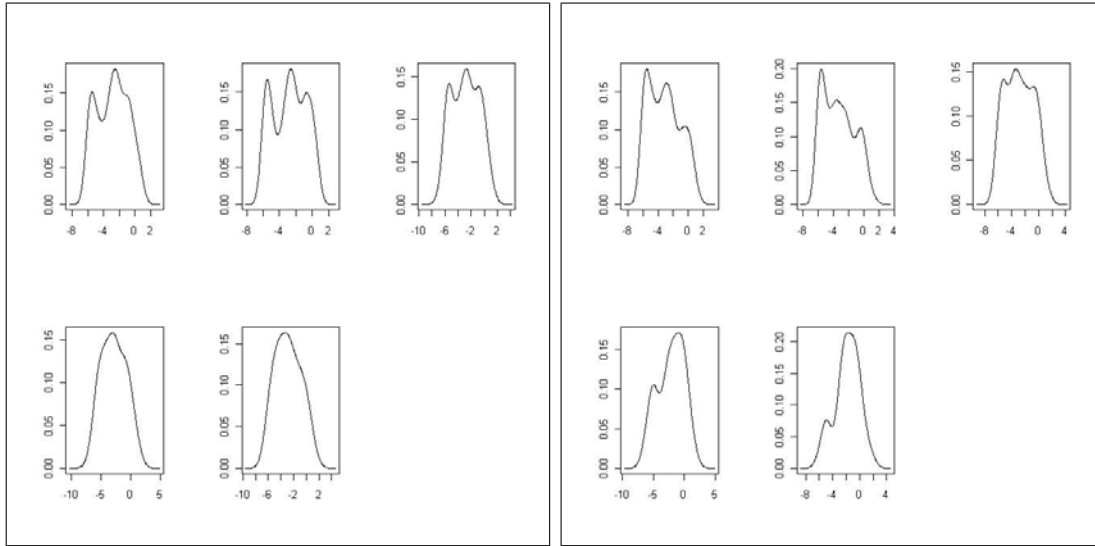


Figura 4.6: Estudio de la estacionariedad de la densidad en la parte *pre* de la neurona N3a. Izquierda: ensayo 1 para el estímulo *te*. Derecha: ensayo 1 para el estímulo *pb*.

En el caso de la neurona N3a existen más diferencias entre las estimaciones en distintas ventanas. Por un lado, en el primer ensayo (izquierda en la Figura 4.6) se pueden observar varias formas distintas, algunas densidades resultan trimodales y otras unimodales y por otro lado, también hay variación en la posición de las modas principales por lo que resulta mucho más difícil decir que existe estacionariedad en la actividad espontánea de esta neurona. Recordemos que esta neurona es una de las dos en la que no parecía que la densidad de la parte *pre* se recuperara en la parte *final*.

En la neurona N3b tampoco es nada clara la estacionariedad, si bien las densidades no son tan distintas como en la N3a, estas cambian mucho de ensayo a ensayo y tampoco se mantienen parecidas dentro del mismo ensayo. Muchas de las densidades son trimodales o bimodales con una pequeña tercera moda, sin embargo hay otras densidades que son claramente bimodales. Una característica que se mantiene bastante constante es la primera moda, muy grande alrededor del  $-6$ . Para la neurona N4a la estacionariedad es muy clara, todas las densidades tienen la forma que se puede observar en las Figuras 4.2 y 4.3 para esta neurona. La N4b se puede considerar estacionaria. En casi todos los ensayos se observa una bimodalidad marcada, con una moda mucho más grande que la otra, sin embargo en algunos casos la segunda moda parece desaparecer en la cola pareciéndose más a la que se puede observar en la densidad estimada con todos los ensayos. El caso de la neurona N5 es muy similar al de la N4b, aunque quizás la segunda moda es menos clara todavía. La neurona N7 parece muy estacionaria.

Este análisis en la parte *tras* sería de gran utilidad para ver cómo cambia la densidad de los tiempos entre disparos bajo el efecto de los estímulos y poder encontrar posibles diferencias entre ellos, es decir, ver si los distintos estímulos tienen un efecto distinto en la variación temporal de los ISI. En la mayoría de los casos, esto no lo hemos podido

realizar a causa de los pocos datos que constituyen la parte *tras* de los registros. En la mayoría de los ensayos, la parte *tras* tiene alrededor de 100 datos, con lo cual, al tomar ventanas pequeñas no tenemos datos suficientes para estimar la densidad. Sin embargo, la neurona N4a es un caso extraño, como ya hemos visto, y en todos menos uno de sus ensayos cuenta con una gran cantidad de disparos. Luego, podemos realizar el estudio de estacionariedad para esta neurona. En la Figura 4.7 vemos los resultados para el primer ensayo del estímulo *te* y el segundo del *pb*. Estos ensayos tienen 429 y 343 disparos respectivamente. Se utilizaron ventanas de 6 seg, desplazadas en 3 seg. En las gráficas se puede ver la falta de estacionariedad y la diferencia entre los dos estímulos: en el estímulo *te* el pico crece notablemente a medida que pasa el tiempo mientras que, para el estímulo *pb* el pico descende en las primeras tres ventanas para volver a crecer en la últimas dos, en las que permanece constante.

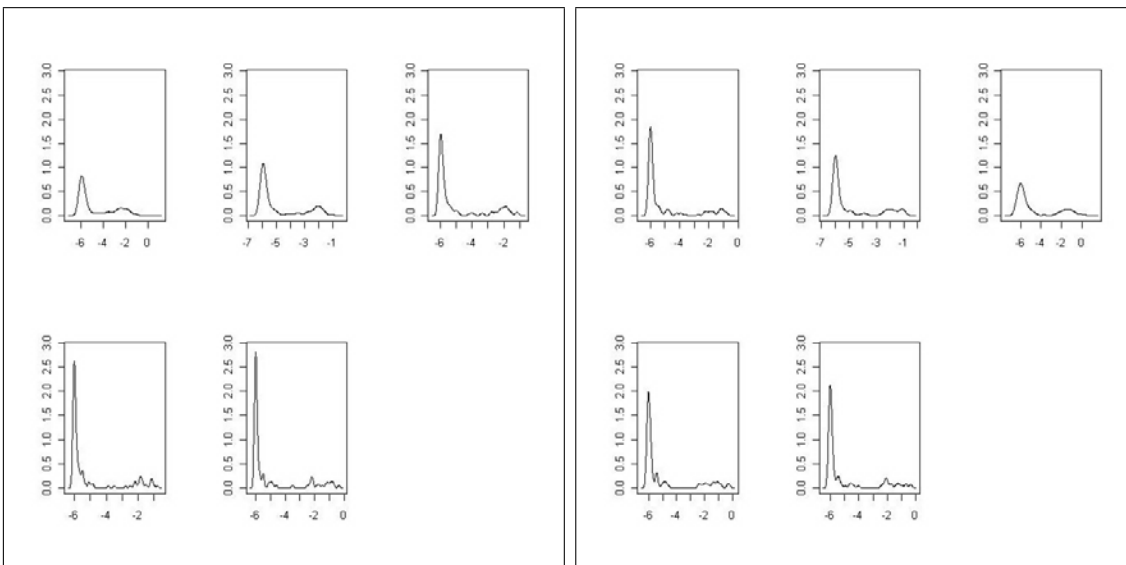


Figura 4.7: Estudio de la estacionariedad de la densidad en la parte *tras* del registro de la neurona N4a. Izquierda: ensayo 1 para el estímulo *te*. Derecha: ensayo 2 para el estímulo *pb*.

Luego se realizó el mismo procedimiento para la parte *final* de los registros para ver si la estacionariedad de la parte *pre* se recupera o sigue sin existir en el caso de las neuronas donde no parecía haberla. Las primeras 9 ventanas (de las aproximadamente 20) para las neuronas N1 y N3a se pueden ver en las Figuras 4.8 y 4.9. Podemos observar que para la neurona N1 sí hay estacionariedad en la parte *final*. Sin embargo, en la neurona N3a, sigue sin existir estacionariedad pero los patrones de densidad son muy similares a los de la parte *pre*. En las otras neuronas también se repiten las situaciones de la parte *pre*: parece haber estacionariedad en todas salvo quizás en la N3b donde no es tan claro.

En conclusión, se obtiene que la actividad espontánea de cada neurona es caracterizable y que se recupera en la parte *final* de los registros, cuando ha desaparecido el efecto de los estímulos.

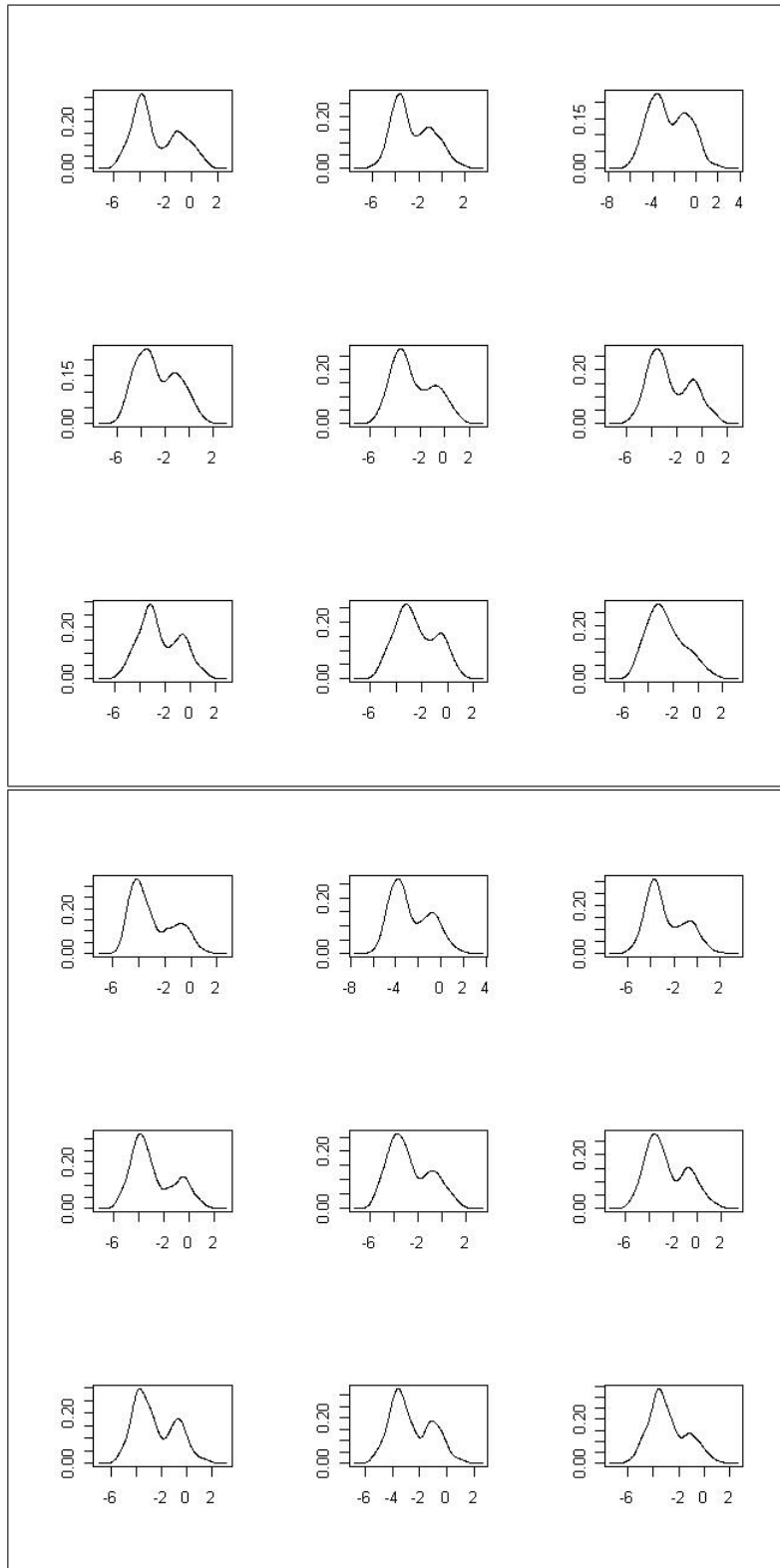


Figura 4.8: Estudio de la estacionariedad de la densidad en la parte *final* del registro de la neurona N1. Arriba: ensayo 1 para el estímulo *te*. Abajo: ensayo 1 para el estímulo *pb*.



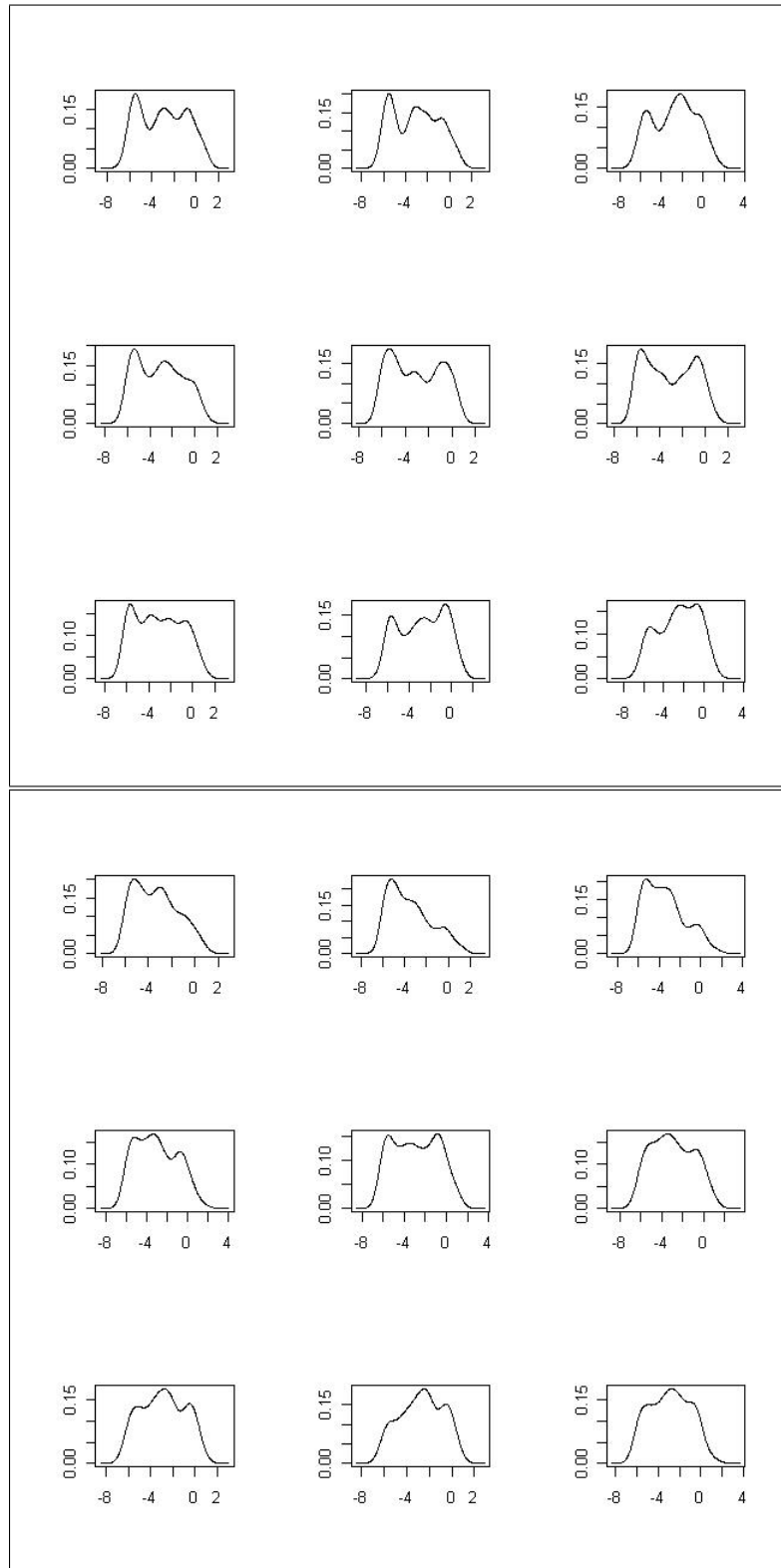


Figura 4.9: Estudio de la estacionariedad de la densidad en la parte *final* de la neurona N3a. Arriba: ensayo 1 para el estímulo *te*. Abajo: ensayo 1 para el estímulo *pb*.



## Capítulo 5

# Medidas de correlación en trenes de Potenciales de Acción

En este capítulo nos interesa estudiar distintas medidas de correlación de las neuronas, ya sea una neurona consigo misma o con otras.

En primer lugar pensemos en los ISI. Hemos estimado su densidad y, por otro lado, hemos visto que los ISI no son independientes, ahora nos interesa estudiar la correlación que pudiera existir entre ellos. En el contexto de series temporales, dada la serie temporal  $\{S_i\}_{i=1}^n$  se define su función de covarianza como

$$\gamma_S(i, j) = \text{Cov}(S_i, S_j) = E(S_i - \mu_S(i))(S_j - \mu_S(j))$$

donde  $\mu_S(i)$  y  $\mu_S(j)$  representan la esperanza de  $S$  en los instantes  $i$  y  $j$  respectivamente. Si suponemos que  $\{S_i\}$  es débilmente estacionaria de segundo orden, es decir, que  $\mu_S(i)$  es independiente de  $i$  y  $\gamma_S(i+h, i)$  es independiente de  $i$  para cada  $h$ , podemos definir la función de autocovarianza de  $\{S_i\}$  como

$$\gamma_S(h) = \text{Cov}(S_{i+h}, S_i)$$

y la función de autocorrelación (ACF) como

$$\rho_S(h) = \frac{\gamma_S(h)}{\gamma_S(0)}$$

A estas funciones de autocovarianza y autocorrelación las llamaremos, de ahora en adelante, funciones de autocovarianza serial y de autocorrelación serial respectivamente, para no confundir con otro tipo de correlación que definiremos más adelante.

Dados los ISI de un tren de espigas  $\{t_i\}_{i=1}^{n+1}$  observado:  $s_1, \dots, s_n$ , podemos estimar la función de autocovarianza serial como

$$\hat{\gamma}(h) = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^{n-|h|} (s_{i+|h|} - \bar{s})(s_i - \bar{s}), \quad -n < h < n$$

donde  $\bar{s} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n s_i$  es la media muestral. Luego, la función de autocorrelación serial se estima con

$$\hat{\rho}(h) = \frac{\hat{\gamma}(h)}{\hat{\gamma}(0)}, \quad -n < h < n$$

Ver, por ejemplo, el libro de Brockwell y Davis (1996) para más detalles sobre la definición y estimación de las funciones de autocovarianza y autocorrelación seriales.

Estimamos estas funciones de autocorrelación serial para las neuronas en estudio utilizando la rutina `acf` de R con retardos de hasta 20, ie  $|h| = 1, \dots, 20$ . En las Figuras 5.1, 5.2 y 5.3 podemos observar los autocorrelogramas para dos ensayos de tres neuronas, la N1, la N3a y la N4a.

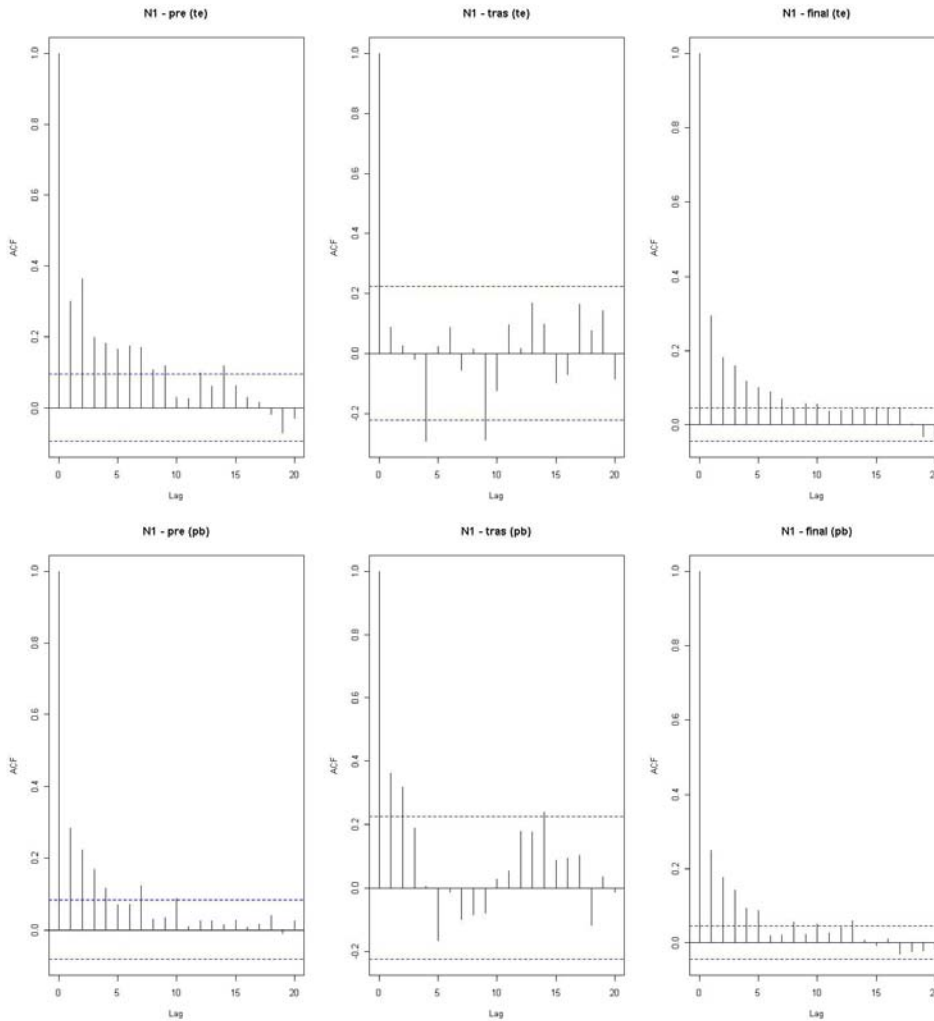


Figura 5.1: Autocorrelogramas para para dos ensayos de la neurona N1 en cada período.

En el caso de la N1 podemos observar que las estructuras de los autocorrelogramas para estos dos ensayos no son muy similares. En el primero no parece haber autocorrelación

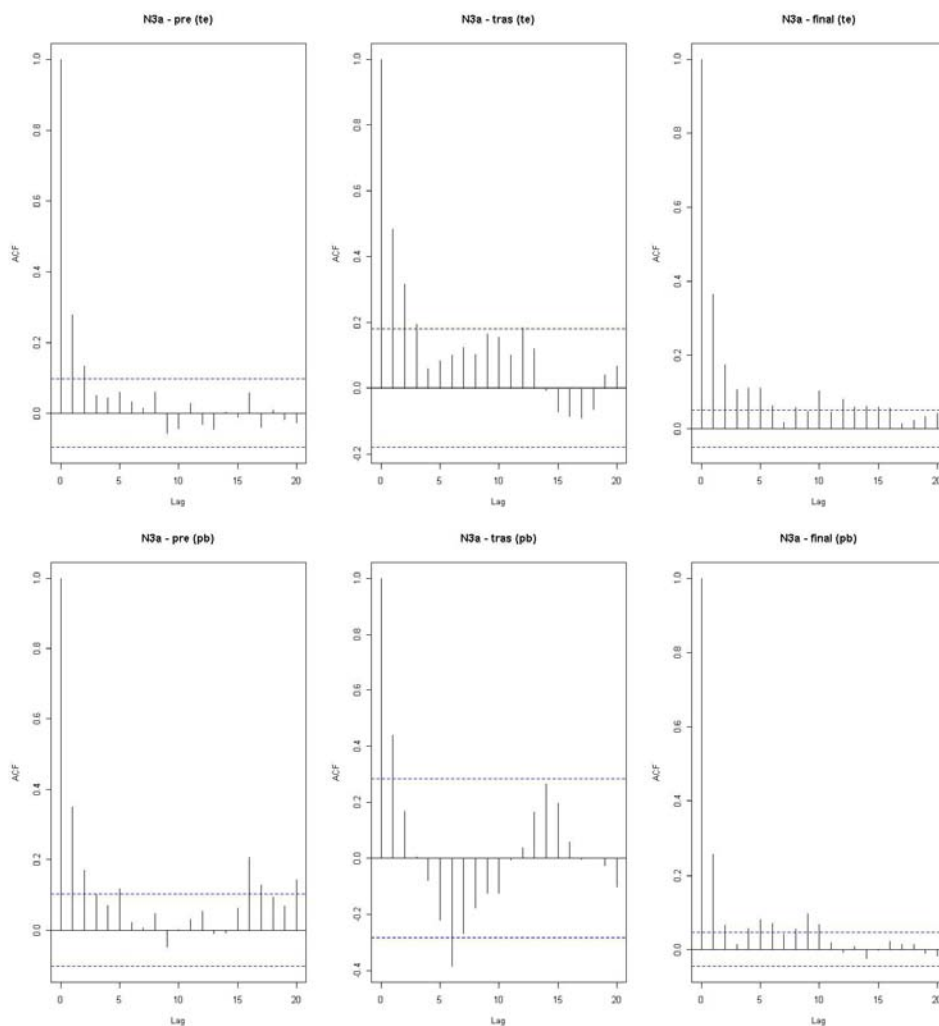


Figura 5.2: Autocorrelograma para para dos ensayos de la neurona N3a en cada período.

serial en la parte *tras* mientras en el segundo sí parece existir aunque muy moderada. En el primero hay autocorrelación serial de orden 9 en la parte *pre* y *final* mientras en el segundo la hay sólo hasta órdenes más bajos. Para la neurona N3a ocurre algo similar. En ésta la estructura de la parte *pre* se parece mucho, pero las partes *tras* y *final* no tanto. En este caso sí parece haber correlación en la parte *tras*, no como en la N1.

En general, ocurre que no hay una estructura determinada para cada neurona, los autocorrelogramas varían bastante de ensayo a ensayo aunque en general se cumple que la autocorrelación serial es poca o nula en la parte *tras* y que existe correlación de varios órdenes en las partes *pre* y *final*. Un caso distinto es el de la neurona N5 que parece tener sólo una pequeña autocorrelación de orden uno en las partes *pre* y *final* y absolutamente nada en la parte *tras*. Otro caso particular es el de la neurona N4a en la que se observa un patrón muy definido de alternancia entre autocorrelaciones positivas y negativas en todos los ensayos y en todos los períodos.

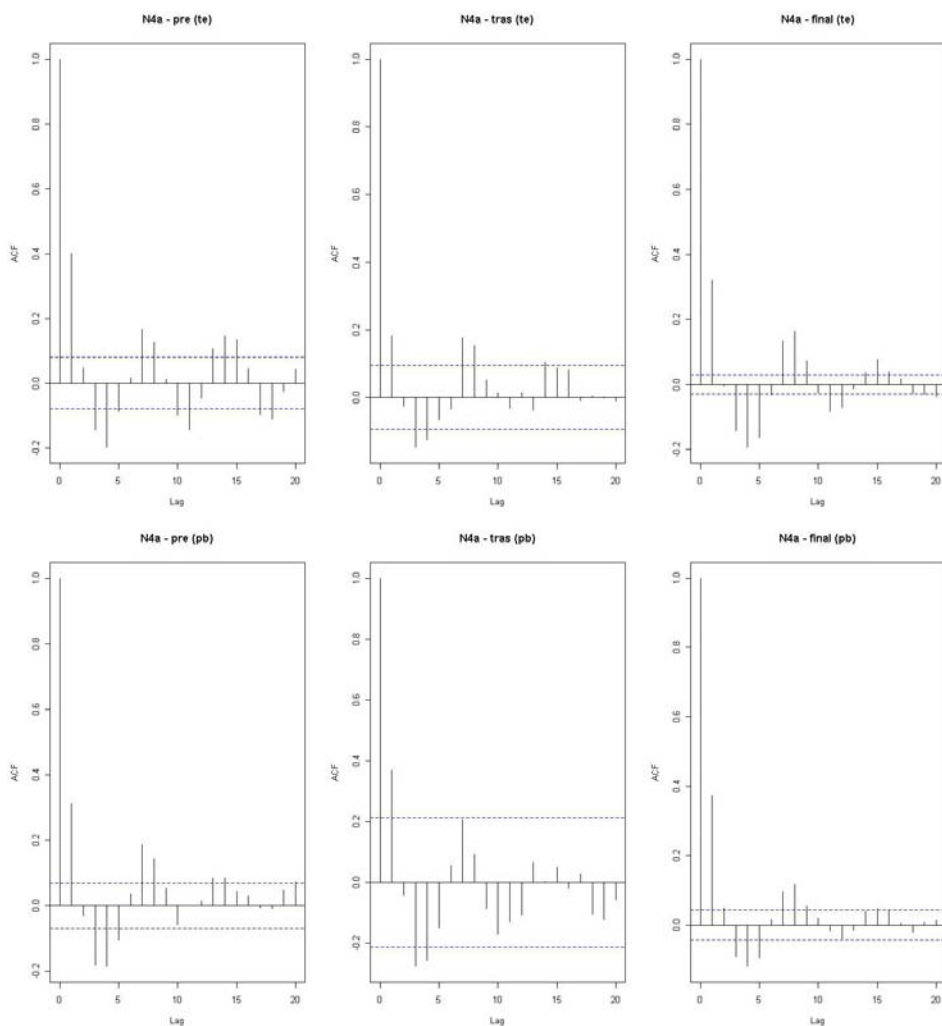


Figura 5.3: Autocorrelograma para para dos ensayos de la neurona N4a en cada período.

El hecho de que, en casi todas las neuronas, la autocorrelación serial baje en la parte *tras* del registro nos indica que la autocorrelación de una neurona que está bajo estímulo es menor que cuando se encuentra bajo actividad espontánea. Esto puede deberse a que en estado de sueño las neuronas se encuentran oscilando en condiciones fisiológicas normales. Al despertar esta oscilación desaparece, la autocorrelación cambia su estructura, disminuye pero no desaparece del todo.

En Perkel et al (1967a) se discuten distintos tipos de patrones en las tasas de disparos, como por ejemplo tasas cíclicas o rachas de crecimiento (o decrecimiento) locales, entre otras, que acarrearán una forma determinada de autocorrelograma serial. Algunos de estos casos son ejemplificados mediante estudios de simulación y para otros se presentan referencias. Un ejemplo de lo que en ese trabajo se discute es el de la neurona N4a: la alternancia entre coeficientes de autocorrelación serial positivos y negativos podría provenir de una gran alternancia entre ISI largos y cortos.

Hasta ahora hemos discutido la correlación entre los ISI. Otro tipo de correlación puede existir al tener en cuenta no sólo los tiempos entre disparos consecutivos sino también los intervalos de otros órdenes, es decir, los intervalos de tiempo que transcurren entre dos espigas cualesquiera.

Para motivar este tipo de asociación, que es muy utilizada en el campo de la neurociencia, en primer lugar, tomemos una secuencia de intervalos en el tiempo total del registro  $T$ . Tomemos,  $Q = \left\lceil \frac{T}{q} \right\rceil + 1$  intervalos de longitud  $q$ . El último intervalo podría terminar en un valor mayor a  $T$ , pero esto no resulta un problema en lo que sigue. Aquí es conveniente observar que en el caso de querer que a lo sumo un spike caiga en un intervalo  $[(i-1)q, iq)$ ,  $q$  debe ser lo suficientemente pequeño. Por ejemplo, una buena elección de  $q$  sería 1 ms, dado que sabemos que gracias al período refractario de las neuronas, no se pueden producir dos espigas en un intervalo de 1 ms.

Definamos una nueva serie  $\{V_i\}_{i=1}^Q$  como sigue:

$$V_i = \sum_{j=1}^{n+1} I\{(i-1)q \leq t_j < iq\}. \quad (5.1)$$

Dados los valores que asume esta nueva serie para un ensayo de un registro de una neurona:  $v_1, \dots, v_Q$ , podemos estimar su función de autocovarianza serial:

$$\hat{\gamma}_V(h) = \frac{1}{Q} \sum_{i=1}^{Q-|h|} (v_{i+|h|} - \bar{v})(v_i - \bar{v}).$$

Si desarrollamos el producto dentro del sumatorio obtenemos

$$\hat{\gamma}_V(h) = \frac{1}{Q} \sum_{i=1}^{Q-|h|} v_{i+|h|}v_i - \bar{v} \frac{1}{Q} \sum_{i=1}^{Q-|h|} v_{i+|h|} - \bar{v} \frac{1}{Q} \sum_{i=1}^{Q-|h|} v_i + \frac{Q-|h|}{Q} \bar{v}^2.$$

Ahora, si  $h$  es pequeño comparado con  $Q$ , entonces podemos aproximar,  $Q - |h| \approx Q$  y  $\sum_{i=1}^{Q-|h|} v_{i+|h|} \approx \sum_{i=1}^Q v_i \approx \sum_{i=1}^{Q-|h|} v_i$  y luego

$$\hat{\gamma}_V(h) = \frac{1}{Q} \sum_{i=1}^{Q-|h|} v_{i+|h|}v_i - 2\bar{v}^2 + \bar{v}^2 = \frac{1}{Q} \sum_{i=1}^{Q-|h|} v_{i+|h|}v_i - \bar{v}^2. \quad (5.2)$$

Como  $\bar{v}$  es independiente de  $h$ , podemos concentrarnos en  $\frac{1}{Q} \sum_{i=1}^{Q-|h|} v_{i+|h|}v_i$  sin modificar la forma de la función  $\hat{\gamma}_V(h)$ . Llamemos  $\hat{\gamma}_V^*(h)$  a  $\hat{\gamma}_V(h) + \bar{v}^2$ .

Dado un índice  $i$ ,  $v_{i+|h|}v_i$  valdrá el producto de la cantidad de PA en el  $(i + |h|)$ -ésimo intervalo por la cantidad de PA en el  $i$ -ésimo. Por lo tanto  $\sum_{i=1}^{Q-|h|} v_{i+|h|}v_i$  cuenta las ocurrencias del evento: “pares de PA en intervalos separados por  $|h|$  unidades del índice”. Luego  $\hat{\gamma}_V^*(h)$ , como función de  $h$ , es un histograma de estas frecuencias, dividido por la cantidad  $Q$ .

Observemos que en el caso  $q$  pequeño ( $q = 1$  ms, por ejemplo),  $v_{i+|h|}v_i = 0$ , salvo cuando que  $v_{i+|h|} = v_i = 1$ , en cuyo caso el producto será 1. Es por esto que, para cada  $h$ ,

$$\hat{\gamma}_V^*(h) = \#\{(v_{i+|h|}, v_i) : (v_{i+|h|}, v_i) = (1, 1)\} / Q$$

que es fácil traducir a distancias temporales. Cuando  $v_{i+|h|} = v_i = 1$  quiere decir que hay dos espigas que están separadas a una distancia de como mínimo  $|h| - 1$  ms y como máximo  $|h| + 1$  ms, luego, con  $Q\hat{\gamma}_V^*(h)$  estamos contando algunas de las veces que hay una distancia de  $|h| - 1$  ms a  $|h| + 1$  ms entre dos PA cualesquiera del tren en cuestión. Esta es la idea en la que se basa la definición de la autocorrelación que sigue.

La autocorrelación, como se la denomina en el campo de la neurociencia a pesar de ser más parecida a la autocovarianza serial, es muy semejante a  $\hat{\gamma}_V^*(h)$  pero se construye de una manera alternativa a la planteada en los párrafos anteriores. Se la define como el histograma de frecuencias relativas (o frecuencias en algunos casos) de los intervalos de tiempo ocurridos entre dos disparos cualesquiera. Generalmente se toma una distancia máxima  $w_{max}$ , a tener en cuenta en el histograma, es decir, las distancias entre disparos mayores a este valor son descartadas. Este  $w_{max}$  es elegido por el investigador y generalmente es mucho menor a  $T$ , lo que nos permite la comparación con la función de autocovarianza serial de la serie  $\{V_i\}$ , al permitir la aproximación en (5.2).

Dado un tren de PA, sea  $\{D_m\}_{m=1}^M = \{t_i - t_j / i, j \in \{1, \dots, n+1\}, i \neq j\}$  el conjunto de todas las distancias entre dos tiempos cualesquiera del tren tales que  $-w_{max} \leq D_m \leq w_{max}$ . Por otro lado, se debe elegir  $b$ , donde  $2b$  es el ancho de los intervalos del histograma. Luego, en este contexto definimos esta nueva versión de la estimación de la autocovarianza en una distancia  $d$ ,  $\hat{g}(d)$ , por:

$$\hat{g}(d) = \frac{1}{M} \sum_{m=1}^M I(d - b \leq D_m \leq d + b)$$

Aquí  $b$  juega un rol similar al de  $q$  en la definición de  $\hat{\gamma}_V(h)$ .

Este histograma es muy similar al obtenido a partir de la autocovarianza serial de la serie  $\{V_i\}$ . Las diferencias que puedan ocurrir provienen de la discretización y de la normalización. Es interesante observar que para obtener  $\hat{\gamma}_V^*(h)$  la discretización se realiza antes de tomar las distancias, mientras que en la definición de la autocorrelación la discretización se lleva a cabo a la hora de construir el histograma. Por otro lado,  $\hat{\gamma}_V^*(h)$  está dividida por  $Q$  en la definición de correlación serial mientras que en la definición de  $\hat{g}(d)$  se divide por  $M$ , luego las gráficas deberían resultar casi proporcionales. En la Figura 5.4 podemos observar el grado de similitud de estos histogramas para tres tamaños de  $q$  y  $b$ ,  $q = b = 0.001, 0.01$  y 1 seg. Hemos obviado dividir por  $Q$  y  $M$  a  $\hat{\gamma}_V^*(h)$  y  $\hat{g}(d)$  respectivamente, para pque se observen mejor las similitudes. Podemos ver que los histogramas son prácticamente iguales aunque sí existen algunas diferencias para los tres tamaños. Estas diferencias crecen con el tamaño de bin y cuando  $q = b = 1$  éstas son mucho más notorias.



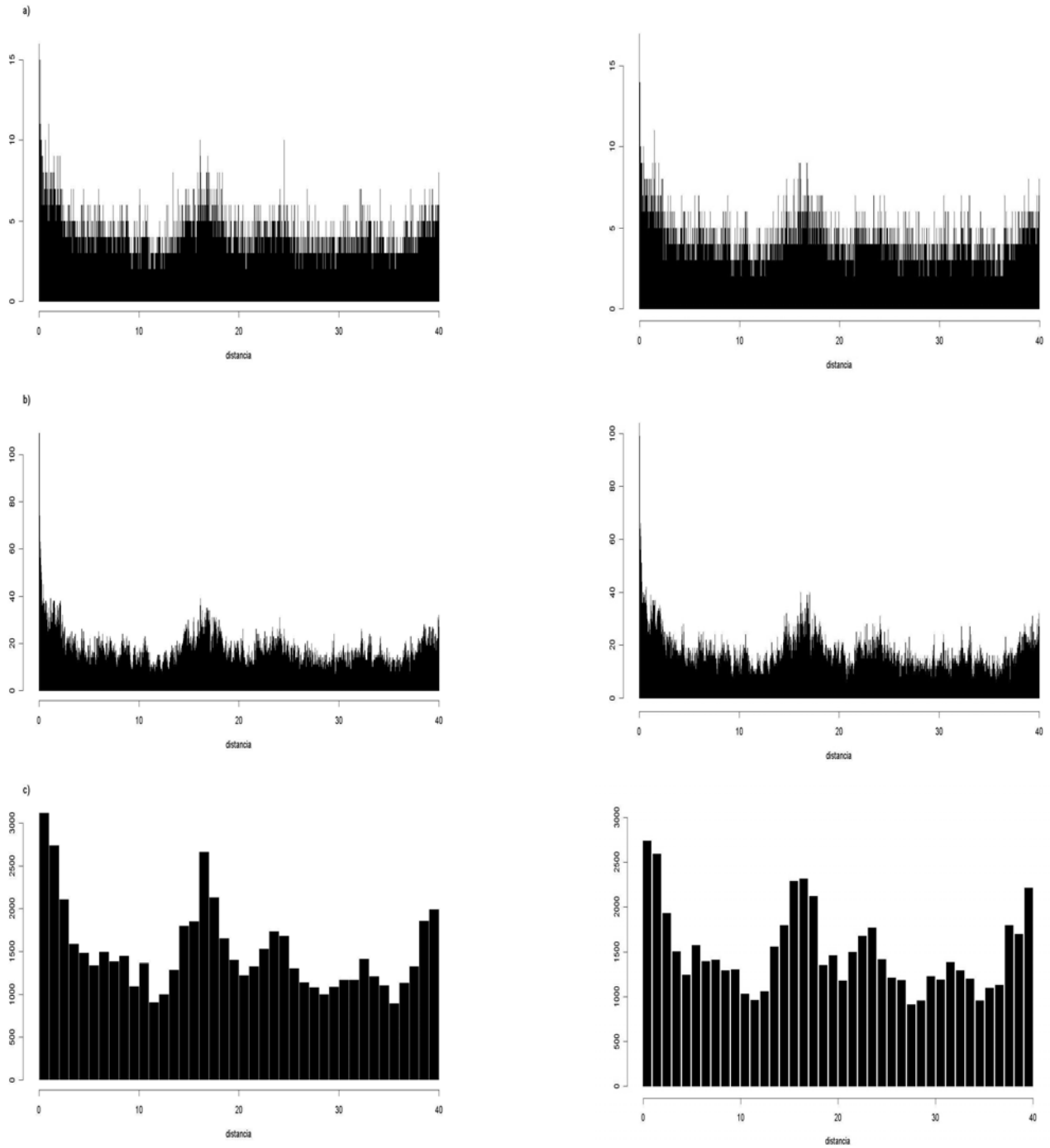


Figura 5.4: Funciones de autocorrelación (derecha) y funciones de autocovarianza serial modificada (izquierda) para la parte *pre* del segundo ensayo de la neurona N1. a)  $q = b = 0.001$ , b)  $q = b = 0.01$ , c)  $q = b = 1$ .

Observar que, en realidad, la autocorrelación no es más que un estimador de la densidad de probabilidad de los tiempos entre dos disparos cualesquiera. Para conseguir una estimación más suave, implementamos la estimación de esta densidad mediante un método núcleo.

Al estimador obtenido por este último método lo llamaremos  $\tilde{g}(d)$  y está definido por:

$$\tilde{g}(d) = \frac{1}{Mh} \sum_{m=1}^M K\left(\frac{d - D_m}{h}\right) = \frac{1}{M} \sum_{m=1}^M K_h(d - D_m)$$

## 5.1. Implementación de las funciones de autocorrelación en R

La construcción del histograma se realiza utilizando una ventana,  $2w$ , es decir, las distancias mayores a  $w$  se descartan en la construcción del histograma. Como en todo histograma también se considera un ancho de bin y luego se contabiliza cuántos tiempos entre espigas caen en cada bin de la ventana.

Se programó el Histograma de Autocorrelación (ACH) en R de la siguiente manera.

Dado un tren de espigas, se toma la primera y se calculan las distancias de ella a todas las otras del tren, descartando la distancia 0 (distancia con ella misma) se consideran todas las distancias menores (en valor absoluto) al ancho de la ventana entre dos ( $w$ ) y se almacenan en un vector. Luego se repite el mismo procedimiento usando como referencia cada una de las espigas del tren. Cuando se tiene el vector con todas las distancias se construye un histograma con el ancho de intervalo (bin) que se quiera.

En este caso se utilizaron histogramas de frecuencias relativas, dado que lo que interesa estimar, en realidad, es la densidad de los tiempos entre dos disparos cualesquiera de la neurona estudiada.

Como ya dijimos, este histograma estima la densidad de los tiempos entre dos disparos cualesquiera, luego podemos generalizar esta estimación utilizando métodos tipo núcleo para la densidad. Para esto, se implementó una nueva función, ACN, que utiliza el estimador tipo núcleo, con núcleo gaussiano  $\tilde{g}(d)$ . La elección de la ventana óptima se realizó automáticamente con R utilizando el método “plug-in” de Sheather y Jones.

En la Figura 5.5 podemos ver el histograma de autocorrelación para los 6 ensayos de la neurona N1. Se utilizó una ventana de 80 seg (40 antes de la espiga de referencia y 40 después) y un tamaño de bin (ancho de los intervalos del histograma) de 2 seg. En el ensayo 1 se puede ver que existe una alta densidad de probabilidad (alrededor de 0.025) de que dado que hay una espiga en el tiempo  $t$  haya otra en los pocos segundos siguientes (menos de 4 seg) y luego hay otro pico grande de probabilidad a los 26 seg. En los otros ensayos, la forma del histograma no es tan particular Sin embargo, salvo en el último ensayo, en el que se podría pensar que todos los tiempos mayores a 2-3 seg tienen igual probabilidad, se ve que no todas las distancias son igualmente probables y suelen haber picos cerca de los 18 seg.

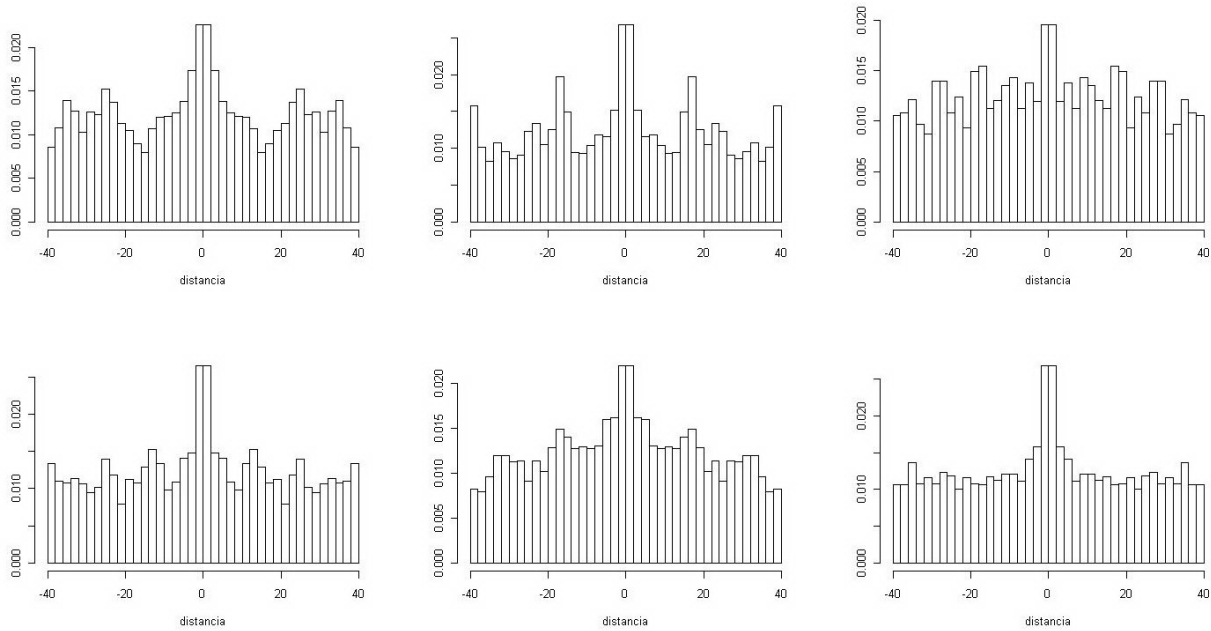


Figura 5.5: Histogramas de Autocorrelación de la neurona N1 en el período *pre*.

A continuación, en la Figura 5.6 podemos ver los histogramas para un ensayo (el primero) de las otras 6 neuronas y en la Figura 5.7 se pueden ver las estimaciones tipo núcleo con el primer ensayo de todas las neuronas.

Como ya habíamos observado para la neurona N1, en todos estos ensayos existe una alta probabilidad de que ocurran dos espigas muy seguidas y luego hay varios picos más de probabilidad. En la neurona N3a, las funciones de autocovarianza de todos los ensayos son muy parecidas, con una forma bastante semicircular, salvo quizás en tres de ellos que aparecen picos en el segundo 26. En la neurona N3b podemos ver que el pico central es más alto que los de la mayoría de las otras neuronas. Esto se mantiene en varios de los otros ensayos de esta neurona. Por lo general no hay otros picos muy marcados, salvo quizás en dos de los ensayos, en los que hay otro pico en el segundo 25 en un caso y en el segundo 18 en otro. Para la N4a vemos que el pico central es más bajo que en las otras neuronas y las distancias están más repartidas, presentando otro pico en torno al segundo 20. En los otros ensayos la funciones son más bien piramidales, también con las distancias repartidas y el pico central bajo. La neurona N4b presenta un pico central alto y el resto de las distancias con probabilidad más baja, pero con muchos picos. Esto ocurre en todos los ensayos de esta neurona. En la neurona N5 podemos observar dos picos más además del central. En el resto de los ensayos aparecen varios picos pero la forma es más bien constante. En la neurona N7 podemos observar un pico bastante marcado alrededor de 38. En otros ensayos presenta hasta 3 picos además del central.

Es interesante analizar qué significan los picos secundarios que aparecen en todas las gráficas. En un principio, se podría pensar que provienen de algún error de redondeo a la

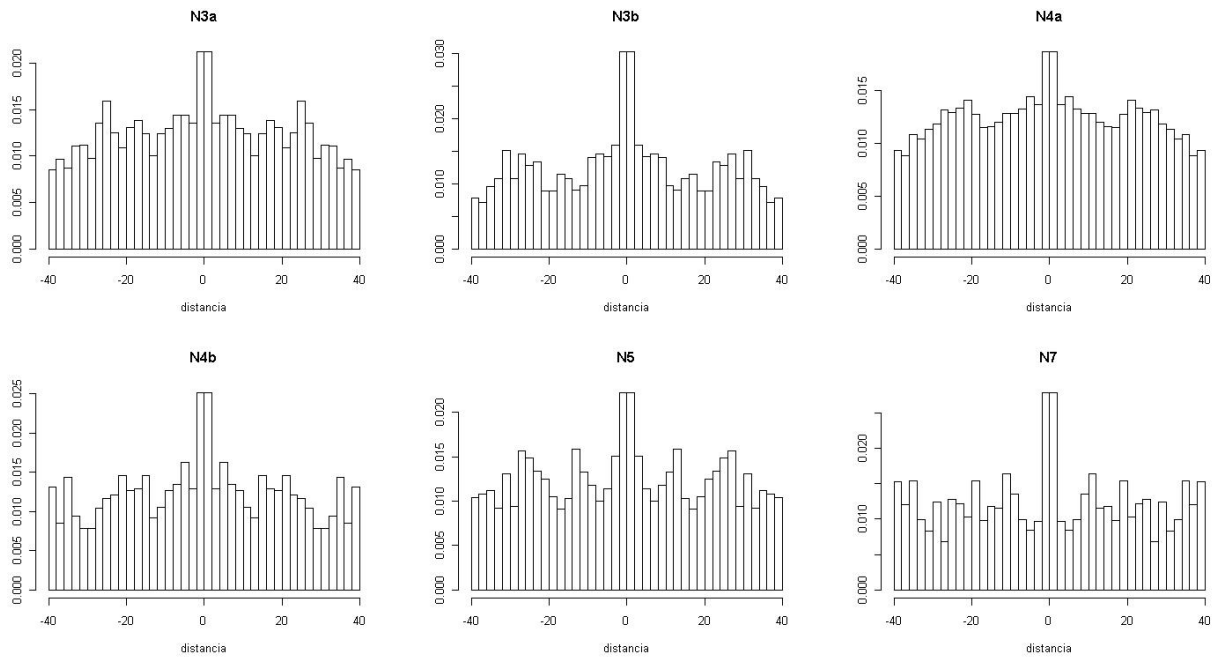


Figura 5.6: Histogramas de Autocorrelación de un ensayo de cada neurona en el período *pre*.

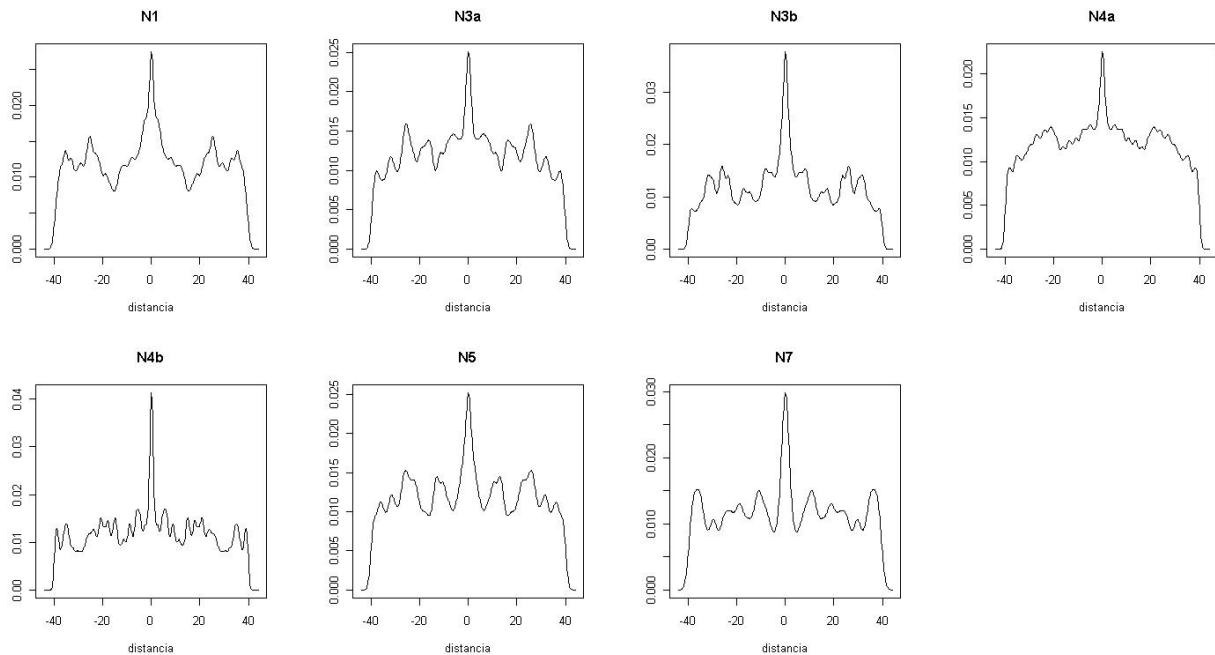


Figura 5.7: Autocorrelación suavizada por el método núcleo de un ensayo de cada neurona en el período *pre*.

hora de registrar los disparos. Sin embargo, analizando las características de los datos, podemos inferir otra cosa. Es común que las neuronas, en condiciones de sueño o, como en

este caso, anestesia, presenten una actividad oscilatoria menor a 1 Hz, a las que llaman actividades oscilatorias lentas. Las respuestas neuronales suelen agruparse en lo que se llaman *ráfagas*, las ráfagas son secuencias de potenciales de acción que cumplen ciertas características, entre ellas: que los disparos de una ráfaga no estén distanciados uno del siguiente en más de una cierta cantidad de milisegundos y que entre una ráfaga y otra haya por lo menos una distancia mínima. Si hay una oscilación de, por ejemplo, 0.05 Hz, lo que ocurre es que después de que una neurona genere una ráfaga de espigas, es bastante probable que la próxima ráfaga ocurra al cabo de unos 20 seg, 40 seg, etc. En gatos anestesiados es frecuente ver una oscilación de unos 0.1 Hz. Luego, una actividad oscilatoria lenta de unos 0.05 o 0.1 Hz puede ser la causante de la aparición de los picos a los 10 seg, 20 seg, 30 seg en nuestros autocorrelogramas.

Veamos ahora las funciones de autocorrelación en la parte *tras*. Recordemos que aquí el tiempo total de registro es de 20 seg, por esto utilizamos una ventana menor que antes, de 20 seg, y disminuimos el tamaño de bin también para los histogramas: 1 seg. En este caso las diferencias entre histogramas (o funciones de autocorrelación suavizadas por método núcleo) se encuentran principalmente en la dispersión que ellas presentan. Por ejemplo, la neurona N4a se caracteriza por presentar muchos valores de todas las distancias entre -10 y 10 mientras la N5 presenta la mayoría de sus valores entre -5 y 5. En este sentido, la N4b es bastante dispersa, salvo por dos trias en los que las distancias se encuentran más concentradas en torno al cero. Lo mismo ocurre para las neuronas N3a y N3b. La neurona N7 es muy poco dispersa pero recordemos que esta presentaba muy pocos disparos en la parte *tras*. Por lo general todos los histogramas son unimodales, pero hay algunos ensayos en los que se pueden observar algún pico secundario.

Como estamos en el período *tras*, tiene sentido comparar las estimaciones obtenidas para los ensayos de cada uno de los dos estímulos. En varias neuronas, como es el caso de la N3a, que se puede observar en la Figura 5.8, los histogramas para los ensayos del estímulo *te* presentan más dispersión que los del estímulo *pb* y por otro lado, en algunas neuronas tienen forma cóncava mientras los de *pb* tienen forma convexa. Esto último también se ve en la neurona N4a y en la N1, aunque no tan marcado. En las Figuras 5.9 y 5.10 podemos ver las estimaciones de la autocovarianza para un ensayo del estímulo *te* de cada neurona. En estas figuras observamos la unimodalidad. Sólo en la N5 se puede apreciar la presencia de un segundo pico, aunque muy pequeño.

Por último realizamos las estimaciones de la función de autocorrelación en la parte *final* del estudio. En la Figura 5.11 vemos estas estimaciones para un ensayo de cada neurona, los mismos que veíamos en la parte *pre*.

Vemos que si bien estas funciones estimadas son mucho más suaves que las de la parte *pre*, situación que proviene probablemente de la mayor cantidad de datos que forman la parte *final*, la forma general de estas funciones es muy similar a las respectivas de la parte *pre*. El pico de densidad de probabilidad sigue estando en el cero, aunque ahora con valores más variables, que van entre 0.02 y 0.03 con excepción de la neurona 4b, en la cual el valor máximo de probabilidad es de aproximadamente 0.07. Más allá de este pico alrededor del

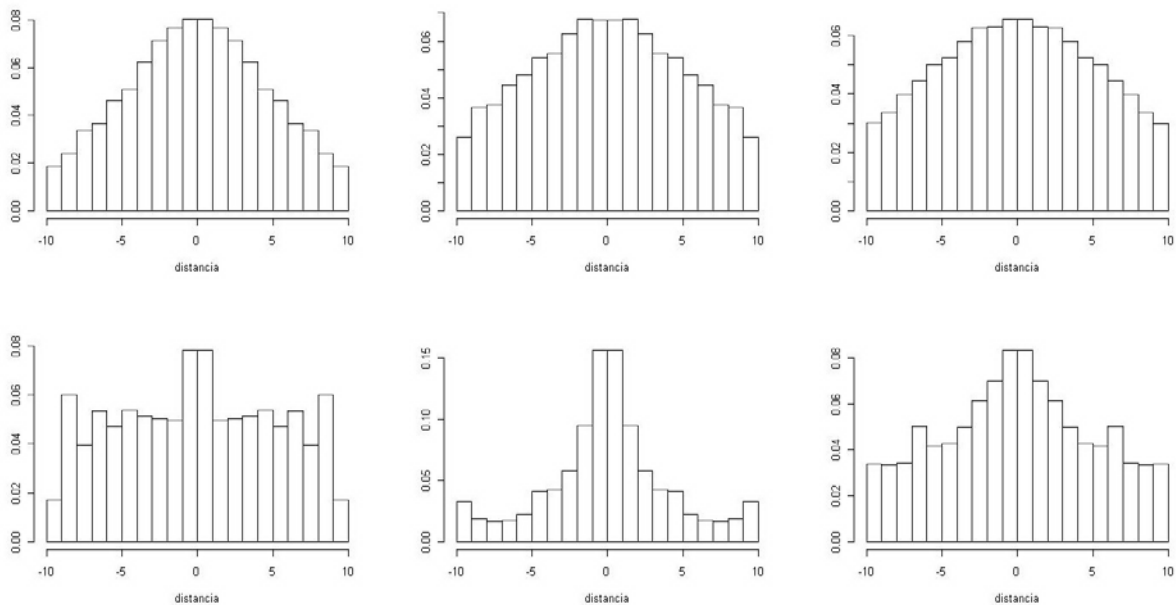


Figura 5.8: Histogramas de autocorrelación para los ensayos del período *tras* de la neurona N3a. Arriba: ensayos del estímulo *te*. Abajo: ensayos del estímulo *pb*.

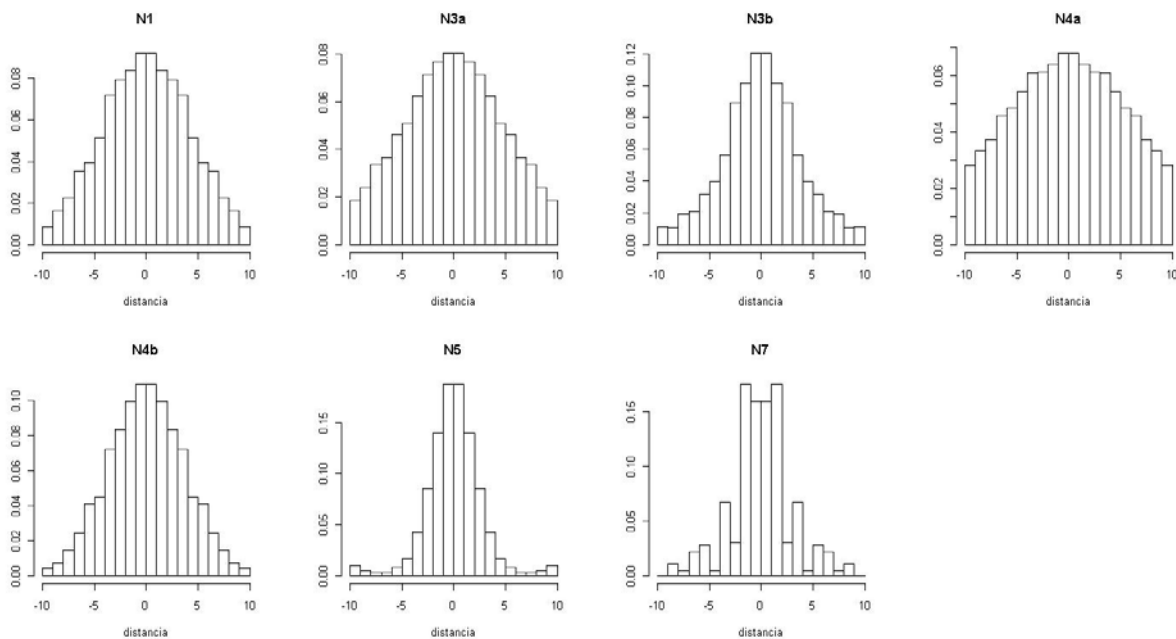


Figura 5.9: Histogramas de Autocovarianza para un ensayo de la parte *tras* de cada neurona.

cero, los otros picos son más suaves que en la parte *pre* pero están presentes. Es decir, que una vez que desaparece el efecto del estímulo, donde las distancias entre disparos eran sobre todo pequeñas, las distancias vuelven a alternarse entre pequeñas y grandes.

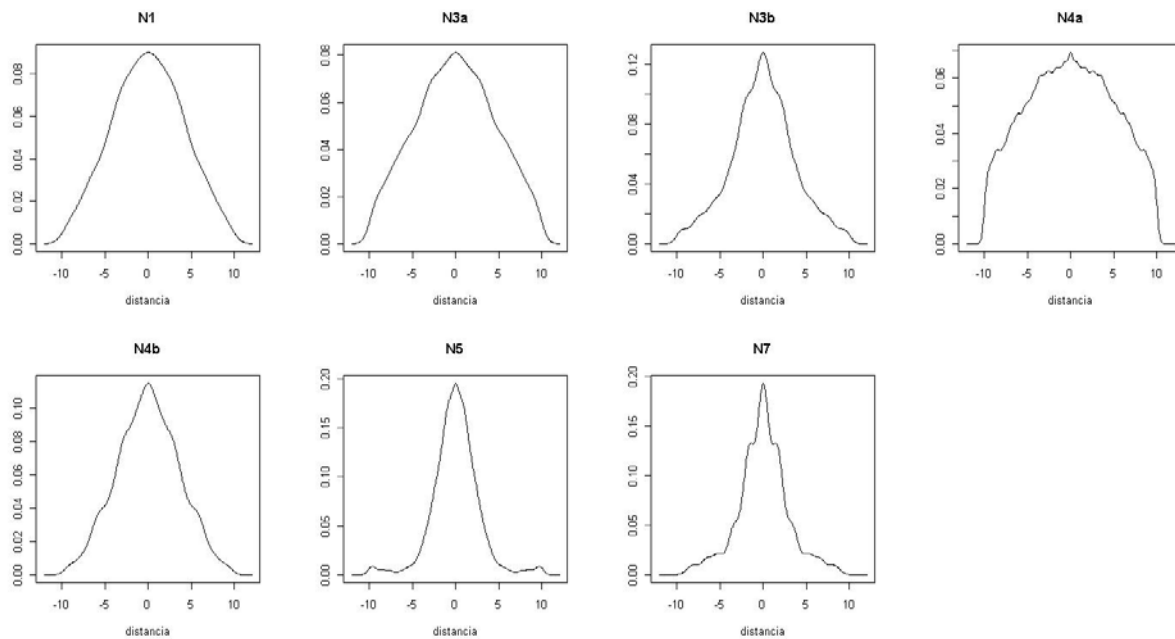


Figura 5.10: Función de Autocovarianza suavizada para un ensayo de la parte *tras* de cada neurona.

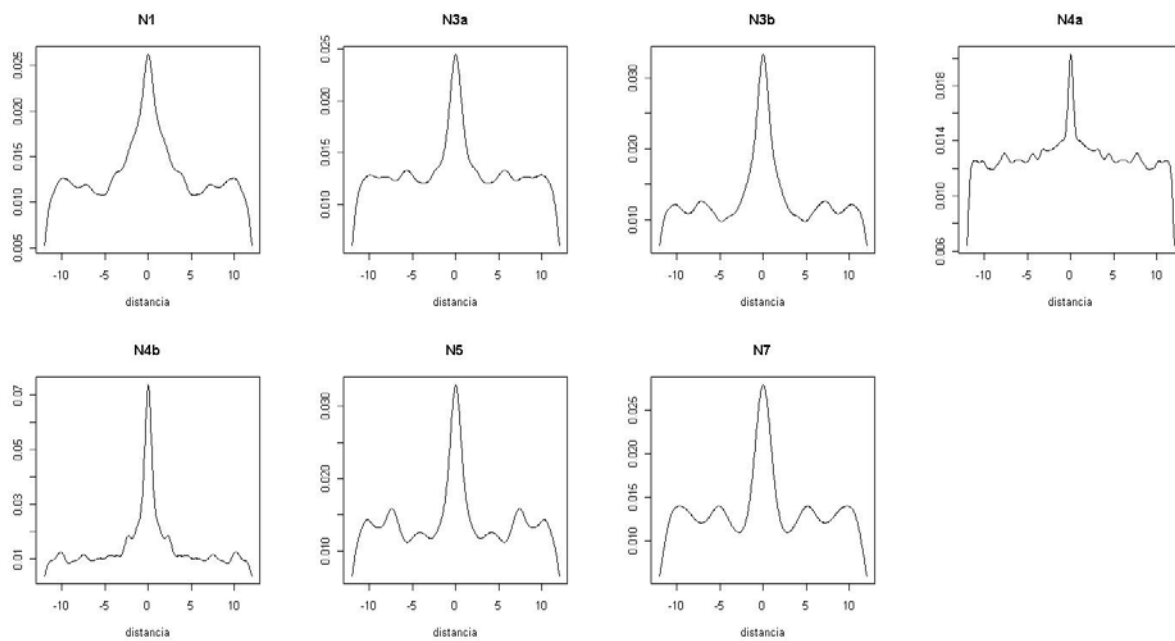


Figura 5.11: Función de Autocovarianza suavizada para un ensayo de la parte *final* de cada neurona.

## 5.2. Dependencia en los trenes de PA

Así como en el análisis de los ISI nos interesó ver si estos eran independientes, ahora es interesante estudiar si existe dependencia entre los tiempos que transcurren entre dos espigas cualesquiera. Es decir, queremos contrastar la hipótesis nula  $H_0$  : los tiempos entre dos disparos cualesquiera son independientes, contra la alternativa  $H_1$  : estos tiempos no son independientes.

Para realizar esta prueba utilizaremos dos tests distintos. Por un lado, si los tiempos entre disparos son dependientes, esta situación debe tener algún tipo de influencia en la forma de las funciones de autocorrelación, luego utilizaremos las estimaciones de estas funciones para formular el primer test. Compararemos la función de autocorrelación estimada de un tren de PA con la función de autocorrelación que correspondería a un tren de PA sin dependencia. Por otro lado, utilizaremos el estadístico de Kolmogorov-Smirnov para el contraste de homogeneidad de dos poblaciones, para comparar las distancias obtenidas de un tren observado con las obtenidas de un tren sin dependencia.

Para obtener la muestra de tiempos entre disparos independientes, sometemos a los ISI a una mezcla aleatoria. Es decir, remuestreamos de  $\{s_i\}_{i=1}^{n-1}$  obteniendo una nueva muestra  $\{s_i^*\}_{i=1}^{n-1}$ , destruyendo así toda dependencia en el orden pero preservando cualquier característica que no dependa de éste. Con esta nueva muestra de ISI construimos un nuevo tren, cuyos tiempos entre disparos son independientes:  $t_1^* = 0$  y  $t_i^* = \sum_{j=1}^{i-1} s_j^*$ . Luego las diferencias de la función de autocorrelación de este nuevo tren con la del tren original nos mostrarán cuánto se aleja el tren en estudio de la independencia. En Perkel et al (1967a) se discuten estas metodologías para la formulación de tests de independencia.

El primer contraste lo llevaremos a cabo de la siguiente manera: compararemos la función de autocorrelación obtenida de un tren de PA observado con la función de autocorrelación obtenida de un tren desordenado. Más específicamente, no utilizaremos un solo tren desordenado, sino que generaremos varios de ellos, calcularemos sus autocorrelogramas y los promediaremos para evitar caer en un caso que no sea representativo de la independencia. A la media de los autocorrelogramas obtenida la llamaremos  $\bar{g}(t)$  y como como estadístico de prueba utilizaremos la distancia  $L_1$  entre  $\tilde{g}$  y  $\bar{g}$ , es decir

$$T = \int |\tilde{g}(x) - \bar{g}(x)| dx.$$

Rechazaremos  $H_0$  para valores grandes de  $T$ .

Para el segundo contraste, el de Kolmogorov-Smirnov, sólo necesitamos las distribuciones empíricas de las dos poblaciones, la original y la sin dependencia. Para calcular la segunda con mayor precisión utilizamos, como antes, varias muestras desordenadas, es decir, generamos varios trenes desordenados mezclando los ISI originales y luego unimos los conjuntos de distancias entre dos espigas cualesquiera de estos nuevos trenes, que sabemos provienen de la misma distribución, para calcular la distribución empírica.



Para poder decidir si rechazar o no la hipótesis nula necesitaremos estimar las distribuciones de los estadísticos de prueba. Para esto utilizaremos una metodología bootstrap. Los pasos para el primer contraste son los siguientes:

1. Se remuestrea de  $\{s_i = t_{i+1} - t_i\}_{i=1}^{n-1}$  obteniendo una muestra  $\{s_i^*\}_{i=1}^{n-1}$  de distancias entre disparos consecutivos y se construye el tren bootstrap con  $t_1^* = 0$ , y  $t_i^* = \sum_{j=1}^{i-1} s_j^*$ , para  $i = 2, \dots, n$ .
2. Se estima  $\tilde{g}^*(t)$  con la función ACN para este tren bootstrap.
3. Se remuestrea  $N$  veces de  $s^*$  obteniendo  $N$  muestras  $s^{**(i)}$ ,  $i = 1, \dots, N$  como antes. Se construye  $t^{**(i)}$  como en el paso 1 y estima  $\tilde{g}^{**(i)}$  para cada tren  $t^{**(i)}$  con la función ACN. Luego se define  $\bar{g}^* = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \tilde{g}^{**(i)}$ .
4. Se obtiene  $T_{AC}^* = \int |\tilde{g}^* - \bar{g}^*|$ .
5. Se repiten los pasos 1-4  $B$  veces para obtener  $T_{AC,1}^*, \dots, T_{AC,B}^*$  y poder estimar los cuantiles deseados de la distribución de  $T_{AC}$  o el  $p$ -valor para  $T_{AC}^{obs}$ .

Para el test de Kolmogorov-Smirnov el procedimiento es muy similar:

1. Se construye el tren de espigas  $t^*$ , independiente, igual que antes.
2. Se calcula el conjunto de distancias entre dos disparos cualesquiera de este nuevo tren:  $\{d_m^*\}_{m=1}^M$ .
3. Se remuestrea  $N$  veces del tren  $t^*$ , construyendo  $N$  trenes  $\{t^{**(j)}, j = 1, \dots, N\}$  y para cada tren se calcula el conjunto  $\{d_m^{**(j)}\}_{m=1}^{M_j}$ .
4. Se calcula de  $T_{KS}^*$  como el estadístico de Kolmogorov-Smirnov para las muestras  $\{d_m^*\}_{m=1}^M$  y  $(d_1^{**(1)}, \dots, d_{M_1}^{**(1)}, d_1^{**(2)}, \dots, d_{M_2}^{**(2)}, \dots, d_1^{**(N)}, \dots, d_{M_N}^{**(N)})$ .
5. Se repiten los pasos 1-4  $B$  veces para obtener  $T_{ks,1}^*, \dots, T_{ks,B}^*$  y poder estimar los cuantiles deseados de la distribución de  $T_{KS}$  o el  $p$ -valor para  $T_{KS}^{obs}$ .

En general se pueden ver diferencias entre las funciones de autocorrelación de los datos originales y las remuestras. En principio, la densidad de los datos de las remuestras está más repartida y como consecuencia el pico central es más bajo que en la de los datos originales. Por otro lado, se ve que, con algunas excepciones, las densidades estimadas de las remuestras no tienen picos secundarios, es decir son unimodales, no como se podía observar en las funciones de los trenes originales, en las cuales solía haber otro pico al rededor de los 25 seg.

Realizamos los tests para 3 neuronas, la N1, la N3b y la N4b y para cada una de éstas lo hicimos en tres situaciones: un ensayo de la parte *pre* y dos de la parte *tras*, uno del estímulo *te* y otro del *pb*. Para decidir sobre la significación de los valores obtenidos tanto de los estadísticos basados en la autocorrelación como los de Kolmogorov-Smirnov calculamos los  $p$ -valores mediante la metodología bootstrap descrita, utilizando  $B = 500$

remuestras bootstrap,  $N = 80$  mezclas de cada tren bootstrap para la parte *pre* y  $N = 100$  para la parte *tras*. Sólo se realizaron los contrastes para 3 neuronas debido a que cada test lleva varias horas de ejecución. Esto es porque son necesarios una gran cantidad de cómputos: para cada repetición bootstrap (de las  $B$ ), el programa calcula una gran cantidad de mezclas de trenes ( $N$ ) y para cada una de estas debe calcular las distancias entre disparos para obtener los ACNs. Así mismo, para la parte *pre* se realizaron 80 mezclas y no 100 como en la parte *tras* porque el equipo informático que se utilizó no tenía la memoria necesaria para almacenar la cantidad de datos que suponía realizar 100 mezclas por cada tren bootstrap.

Los  $p$ -valores obtenidos se pueden observar en el Cuadro 5.1.

Cuadro 5.1:  $p$ -valores para los contrastes de independencia de las distancias entre dos espigas cualesquiera

	N1			N3b			N4b		
	<i>pre</i>	<i>tras</i>		<i>pre</i>	<i>tras</i>		<i>pre</i>	<i>tras</i>	
		<i>te</i>	<i>pb</i>		<i>te</i>	<i>pb</i>		<i>te</i>	<i>pb</i>
AC test	0	0.08	0.204	0	0.006	0.308	0	0.254	0.574
KS test	0.002	0.036	0.668	0.002	0.004	0.634	0.001	0.148	0.514

Lo que muestran estos resultados es que, en la parte *pre*, las distancias entre dos espigas cualesquiera no son independientes, dado que la muestra original no pertenece a la misma población que las remuestras desordenadas. En la parte *tras* esto no es así, de hecho, con los tests realizados el único caso en el que se rechaza la hipótesis de independencia es para el estímulo *te* de la neurona N3b (y según el test KS en el estímulo *te* de la N1). En todas las otras, la hipótesis no se puede rechazar a un nivel de significación del 5% y esta situación sólo cambia para el ensayo de *te* de la N1 si consideramos un nivel de significación del 10%

En la Figura 5.12 podemos ver la función de autocorrelación de dos trenes originales, tanto en la parte *pre* como *tras* (*te*) del registro, y las funciones de autocorrelación promediada bajo independencia, calculadas, en cada caso, con 100 mezclas de los datos originales. En ella podemos distinguir bien los casos en los que se rechaza la hipótesis nula (neurona N1 y *pre* de la neurona N4b) y en los que no (*tras* de la neurona N4b).

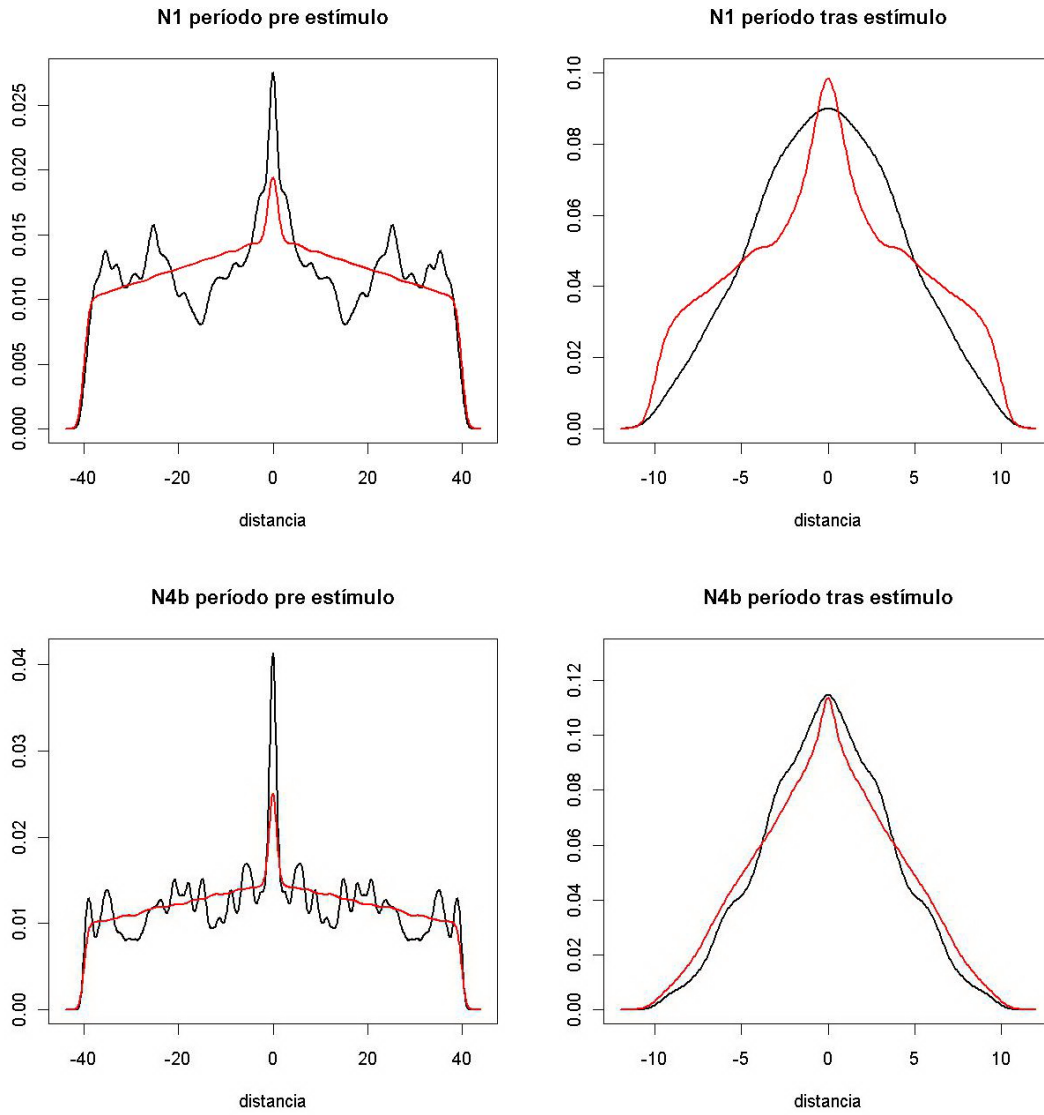


Figura 5.12: Comparación de las estimaciones de la función de autocovarianza original (negro) y la obtenida al promediar las funciones obtenidas de los trenes mezclados (rojo). ensayo 1 de las neuronas N1 y N4b.

### 5.3. Correlaciones Cruzadas

Con este mismo método utilizado por los neurocientíficos de estimar la función de autocovarianza se pueden estimar funciones de covarianza cruzada entre dos trenes de espigas distintos.

$$\hat{\gamma}_{1,2}(h) = \sum_{i=1}^{Q-|h|} (v_{i+|h|}^1 - \bar{v}^1)(v_i^2 - \bar{v}^2)$$

donde  $\{v_j^1\}$  y  $\{v_j^2\}$  son las series obtenidas al discretizar dos trenes de PA  $t^1$  y  $t^2$  como en (5.1) y  $\bar{v}^1$  y  $\bar{v}^2$  sus respectivas medias.

Esta función tiene semejanza con la función que en el campo de la neurociencia se denomina correlación cruzada. Análogamente a la función de autocorrelación, la función de correlación cruzada estima la densidad de los intervalos de tiempo que transcurren entre una espiga de un tren de referencia y las de otro tren. Luego, en este caso, también la función se estima con un histograma de distancias. En Perkel et al (1967b) se presentan estas correlaciones.

Se han programado las funciones CCH y CCN, para las covarianzas cruzadas, en R muy similares a ACH y ACN. La diferencia sustancial es que ahora tomamos un tren de referencia. En este tren nos paramos en una espiga que ocurre en el tiempo, digamos,  $t_0$ , abrimos una ventana de longitud  $2w$  en el segundo tren centrada en el tiempo  $t_0$  y contabilizamos las distancias de la espiga de referencia a todas las espigas del segundo tren que caigan en la ventana. Con estas distancias se construye el histograma o la función suavizada por el método núcleo, como antes.

Ejemplos de los resultados los podemos observar en la Figura 5.13 que muestra la covarianza entre las neuronas N3a y N3b por un lado y de la N4a y la N4b por otro, todas en la parte *pre* del primer ensayo.

En la Figura 5.14 podemos ver cómo se correlaciona la neurona N1 con todas las otras en la parte *pre*. En estas gráficas no se ven grandes diferencias. No podemos caracterizar la correlación de esta neurona con cada una de las otras. Al observar las funciones de correlación cruzada en la parte *pre* para un par de neuronas a través de los 6 ensayos tampoco podemos encontrar similitudes. No es posible caracterizar estas funciones para un par de neuronas dado bajo actividad espontánea.

Como antes, más interesante es analizar estas medidas de asociación en la parte del registro donde las neuronas están afectadas por el estímulo. En las Figuras 5.15 y 5.16 podemos observar las funciones de correlación cruzada para dos pares de neuronas, la N1 y N3a por un lado y las N3b y N5 por otro. En ellas se puede ver una fuerte diferencia entre las funciones para los distintos estímulos. Las funciones correspondientes al primer estímulo, *te*, son, por lo general más bajas y más suaves, mientras las correspondientes al segundo estímulo tienen el pico principal más alto, son más irregulares y presentan varios picos secundarios. Una descripción general que se adapta a todos los pares de neuronas

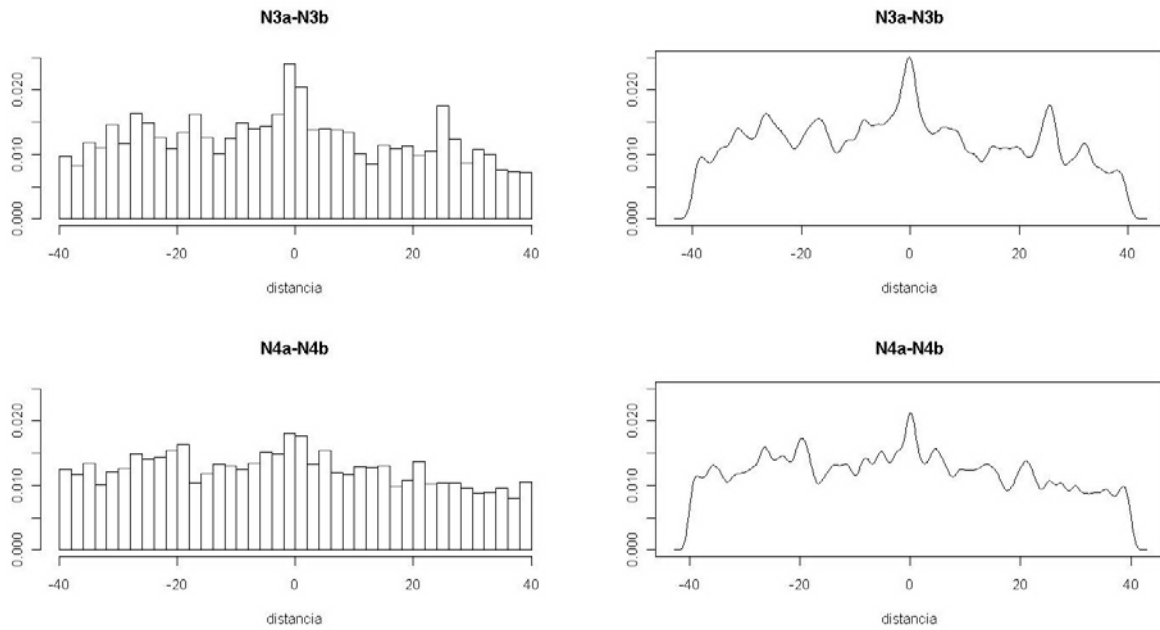


Figura 5.13: CCH y CCN para la parte *pre* de dos pares de neuronas.

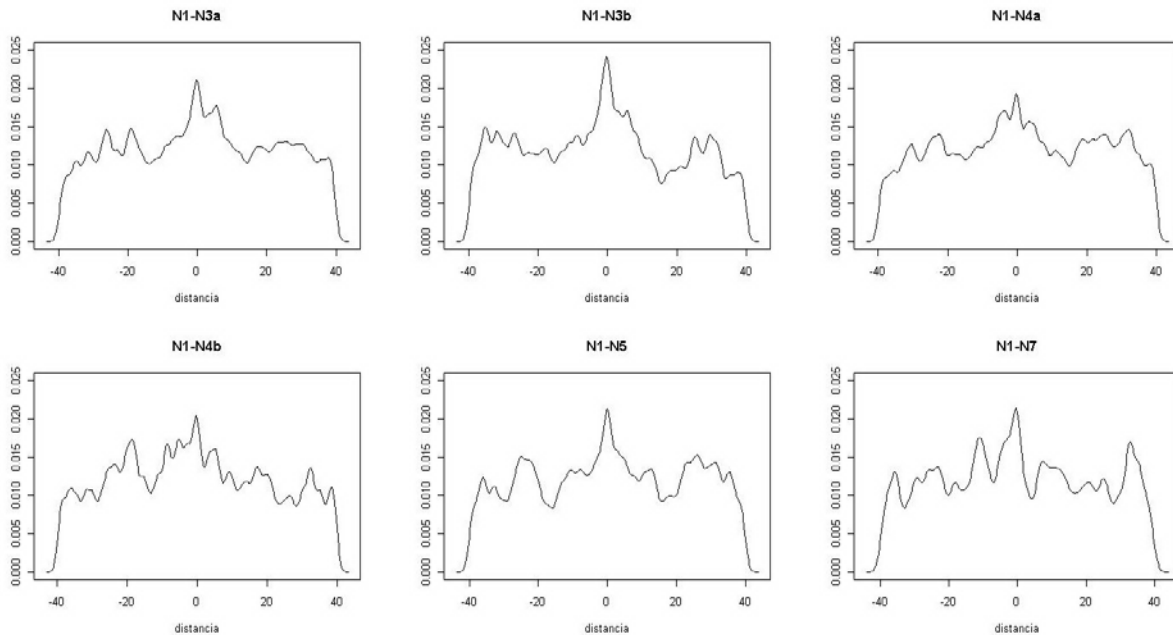


Figura 5.14: CCN de la parte *pre* de la neurona N1 con todas las otras neuronas.

es que las funciones del primer estímulo son suaves y “redondeadas” mientras que las del segundo estímulo son poco suaves y con algunos picos secundarios. Hay solo dos pares de neuronas en los que no se presentan estas diferencias, el de las neuronas N1 y N3b y el de las N3a y N3b. El hecho de que haya diferencias tan marcadas entre estímulos es muy interesante pues nos presenta una vía de estudio de cómo es afectada la sincronización

de las distintas neuronas cuando se las somete a un estímulo u otro, que es uno de los objetivos fundamentales de los experimentadores.

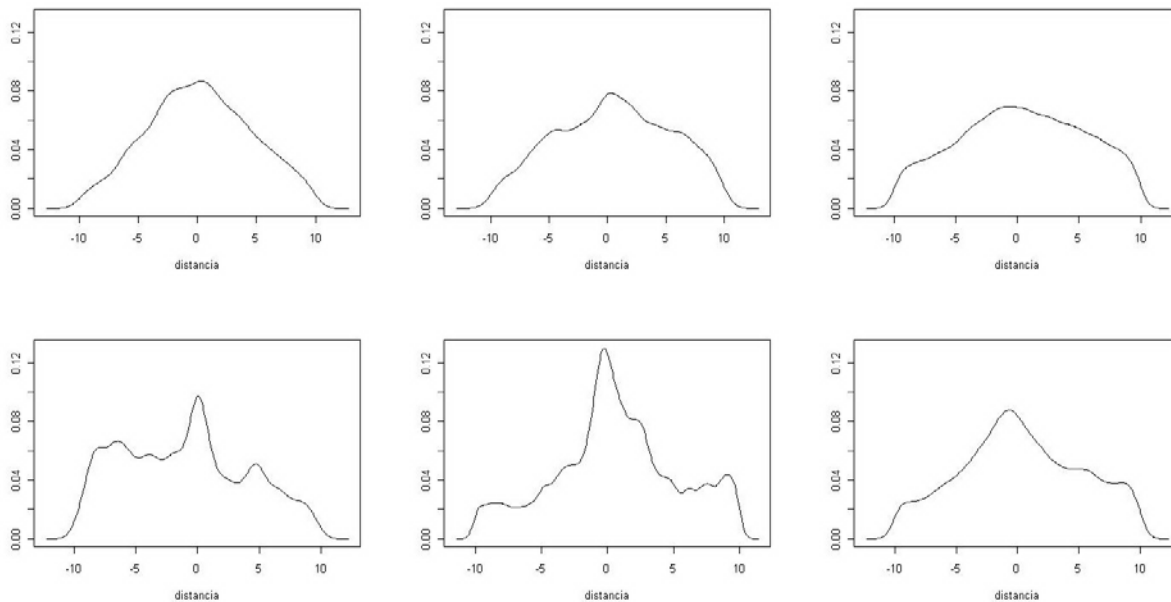


Figura 5.15: CCN de la parte *tras* de las neuronas N1 y N3a. Arriba se pueden observar los tres ensayos del estímulo *te* y abajo los del estímulo *pb*.

Por último, para hacer una comparación de las funciones de correlación cruzada en la parte *pre* y *tras*, realizamos las estimaciones de todos los ensayos en cada una de las partes pero utilizando el mismo ancho de ventana  $2w$  en ambas partes. En el caso que se observa en la Figura 5.17, hemos tenido en cuenta una distancia máxima entre espigas de  $w = 5$  seg, tanto en la parte *pre* como en la *tras* de las neuronas N1 y N3a. Una primera diferencia entre las dos partes del registro es que las correlaciones en la parte *pre* alcanzan un máximo mayor que las de la parte *tras*, aunque esto no es cierto para el segundo ensayo del estímulo *pb*. También es cierto que en este ensayo, tanto como en el primero de la parte *tras* de este mismo estímulo, el pico es tan alto como los de la parte *pre*, alcanzan 0.2. Sin embargo, los tres ensayos después del estímulo *te* son más bajos que los de la parte *pre*. Sabemos que, mientras están en actividad espontánea en condiciones de anestesia, las células se sincronizan y esta sincronización se pierde cuando aparece un estímulo y las neuronas se excitan. Basándonos en este hecho, podemos decir que el efecto del segundo estímulo (*pb*) parece afectar menos a la sincronización de este par de neuronas que el primer estímulo (*te*).

Lo que ocurre con estas dos células sucede con casi todos los otros pares. En general, en la parte *tras* del estímulo *te* raramente se sobrepasa el 0.15. Para el estímulo *pb* sí se supera en varias ocasiones y muchas veces los picos alcanzan los valores alcanzados en la parte *pre*. Esto sucede sobre todo en los ensayos 1 y 2 del segundo estímulo. Esto podría

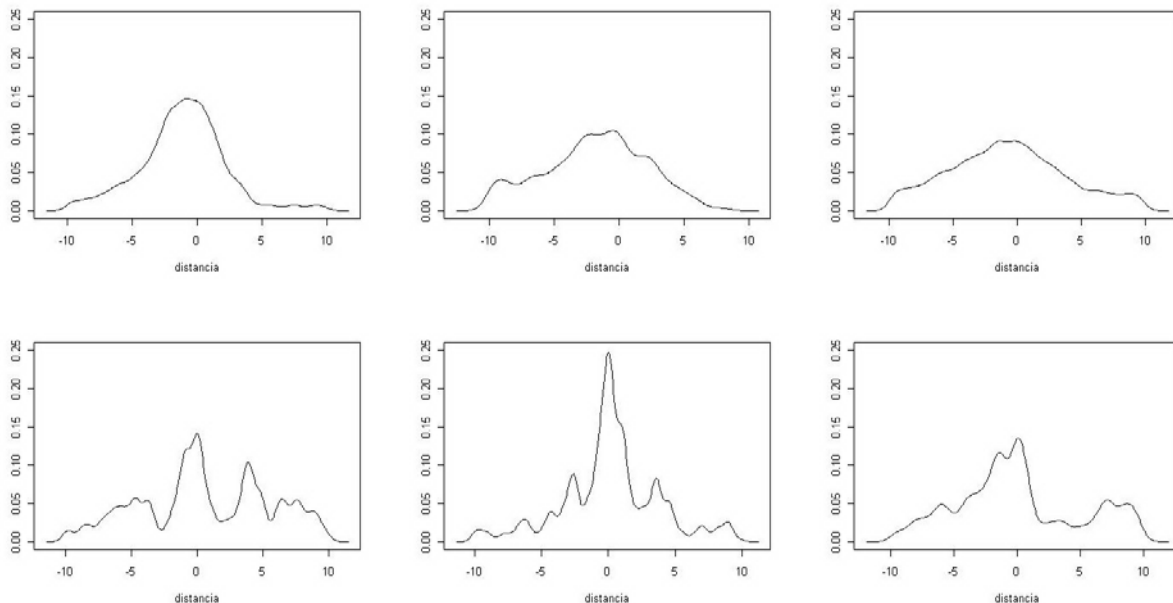


Figura 5.16: CCN de la parte *tras* de las neuronas N3b y N5. Arriba se pueden observar los tres ensayos del estímulo *te* y abajo los del estímulo *pb*.

darnos la pauta de que el segundo estímulo no desincroniza tanto a las neuronas como el primero, aunque también se podría pensar en algún error de registro, dado que esto casi siempre ocurre en los dos primeros ensayos. En algunos pares se dan situaciones distintas. Por ejemplo, en todos los pares que aparece la neurona N7 (salvo con la N1), los picos de la parte *tras* son muy altos. En algunos casos no hay diferencias entre *pre* y *tras*, como en el par de esta neurona con la N4a. En otros casos en el segundo estímulo los picos de *tras* sobrepasan a los de *pre* para el estímulo *pb*, caso N7 y N3a. En otros los sobrepasan en todos los ensayos, como en el par N7 con N4b ó N5. Otro par distinto es el de las neuronas N3b y N5 en el que es muy clara la reducción de la correlación en el estímulo *te* y, sin embargo, en el estímulo *pb* no se encuentran diferencias.

Estas medidas de correlación así implementadas, contando las distancias a lo largo de todo el tren, no tienen en cuenta la posible falta de estacionariedad en los trenes y por lo tanto suponen que la correlación es estacionaria. Muchas veces, esta estacionariedad no es fácil de justificar. Cuando las neuronas están bajo el efecto de un estímulo, éstas pueden adaptarse a él con el paso del tiempo o, más fácil aún, perder la estacionariedad debido a que el estímulo varíe en el tiempo y con él la respuesta neuronal. Para visualizar la falta de estacionariedad y poder ver como varía la correlación cruzada de las neuronas en cuestión se pueden calcular las funciones de correlación cruzada móviles. Estas consisten en utilizar una ventana móvil, como en el estudio de la estacionariedad de la densidad de los ISI, para calcular los CCH o CCN en cada instante de tiempo. El problema aquí es que se necesita una gran cantidad de datos para que las estimaciones sean precisas. Sería interesante calcular estas funciones en la parte *tras* de los registros para ver cómo va cambiando la

correlación cuando nos alejamos del momento en que ocurre el estímulo, pero al no contar con muchos datos esto resulta imposible. En cambio, podemos ver un ejemplo de cómo son estas funciones en la parte *pre*, donde podría, como no, existir estacionariedad. En la Figura 5.18 podemos observar los CCN móviles para las neuronas N1 y N3a, aunque no calculados en todo instante, sino con ventanas de tamaño 40 segundos centradas en instantes separados por 10 segundos y utilizando todas las distancias posibles dentro de la ventana (es decir, la ventana de la función CCN se tomó igual a 40). En esta figura podemos ver una falta de estacionariedad considerable en la correlación.

Este tipo de análisis nos presenta una herramienta poderosa para estudiar cómo cambia la correlación de los pares de neuronas cuando es aplicado el estímulo y cuando el efecto de éste desaparece.



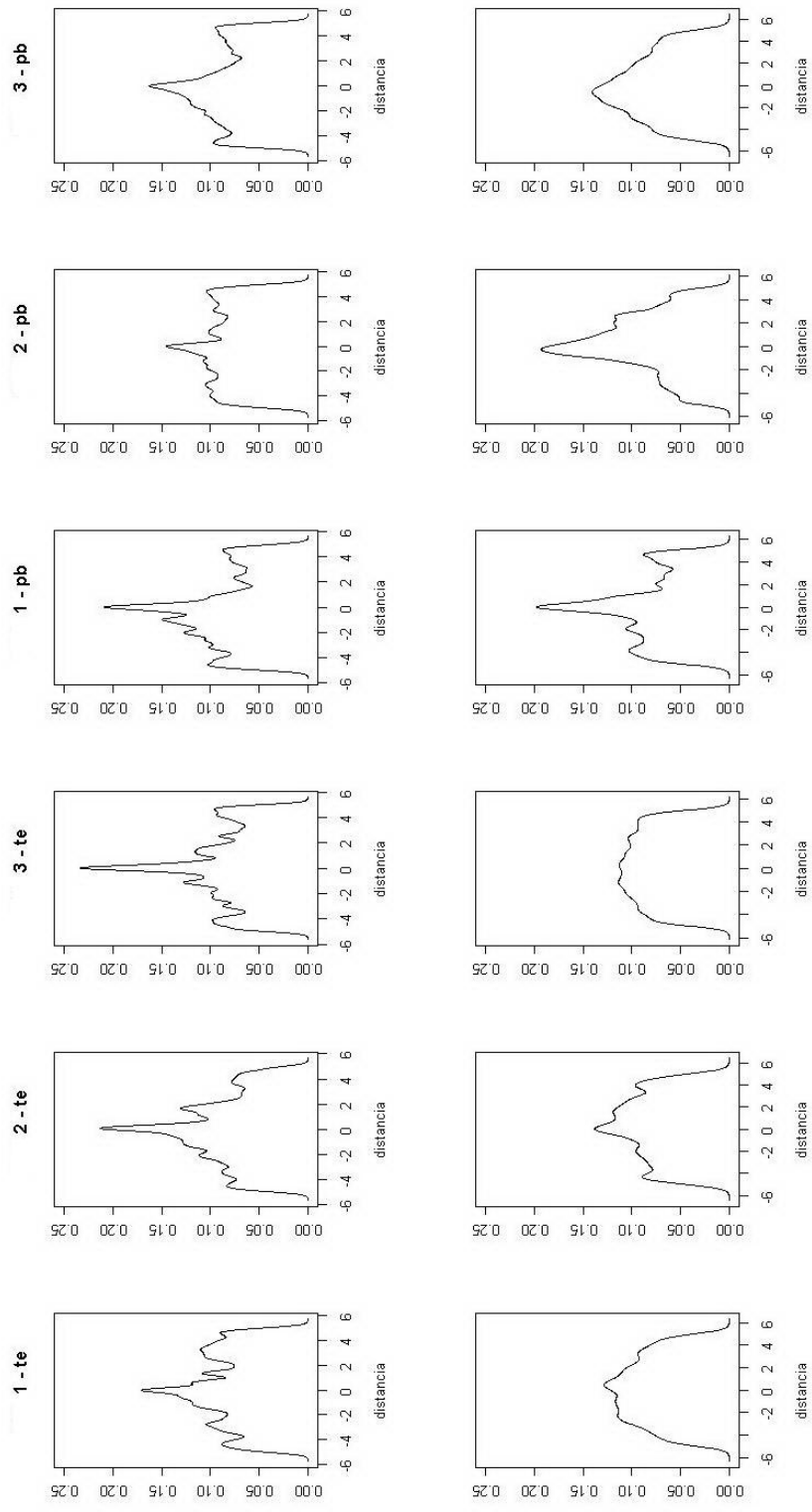


Figura 5.17: CCN de los 6 ensayos de la parte *pre* (arriba) y *tras* (abajo) de los ensayos del estímulo *te* (seis gráficas de la izquierda) y *pb* (seis gráficas de la derecha) de las neuronas N1 y N3a. Distancia máxima entre espigas considerada: 5 segundos.

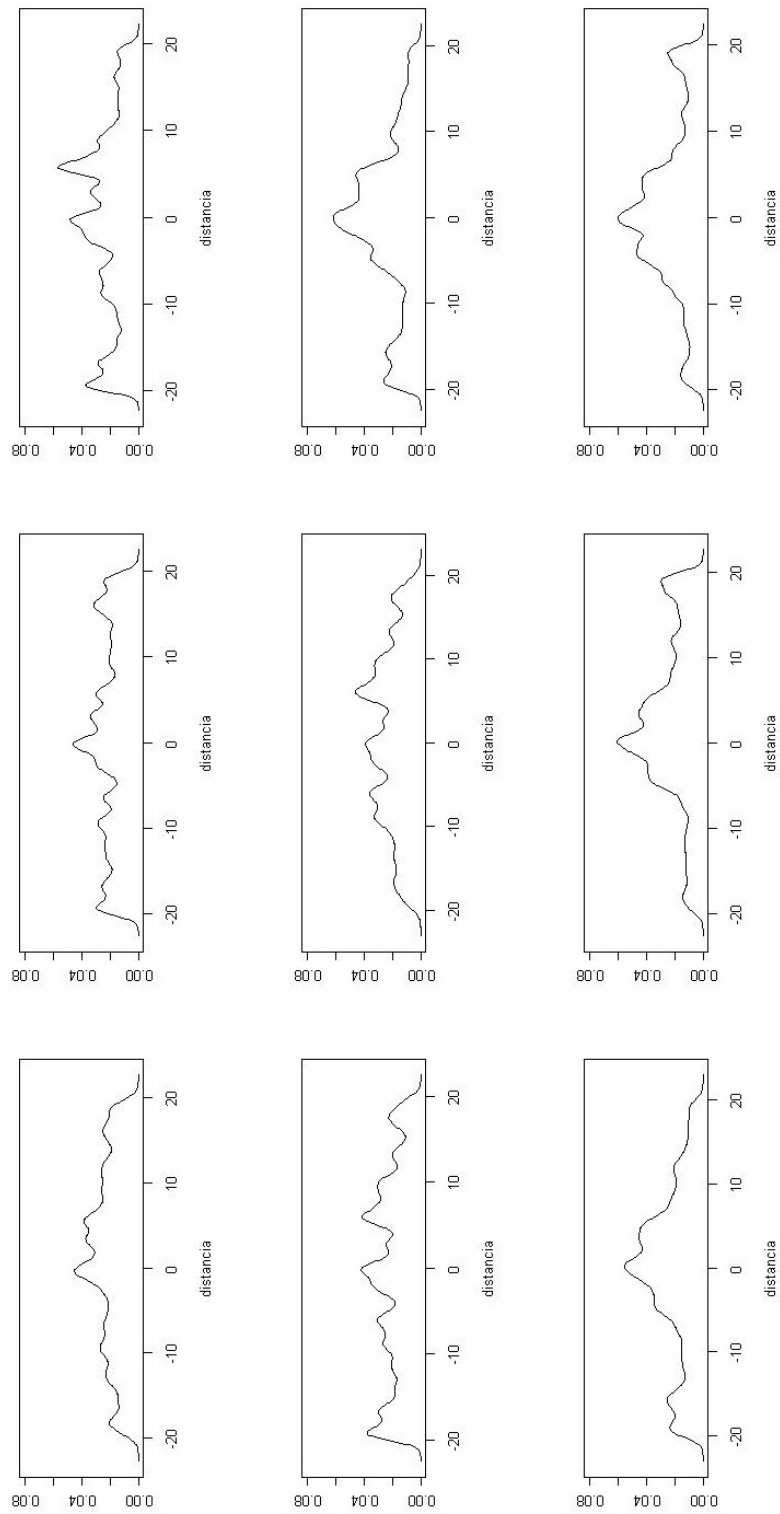


Figura 5.18: CCN móvil de la parte *pre* de las neuronas N1 y N3a. Ventanas de ancho 40 segundos centradas en instantes separados por 10 segundos, distancia máxima entre espigas considerada: 20 segundos.

# Capítulo 6

## Conclusiones y Discusión

En general, las preguntas más importantes a contestar cuando se trabaja con un código neuronal son: ¿qué tipo de información está codificada?, ¿en qué características del código se encuentra? y ¿cómo está codificada esta información? En este trabajo hemos visto algunas de las herramientas, entre muchas, que existen para este tipo de problema. En particular hemos visto herramientas utilizadas para tratar con actividad neuronal registrada intracranealmente.

En el caso del experimento que nos compete, el objetivo del estudio es la diferencia existente en la modulación de la corteza cerebral inducida por dos vías distintas, TE y PB. Conocer cómo trabaja cada una de estas vías es una parte fundamental para comprender el funcionamiento de los sistemas activadores que actúan durante las transiciones del sueño a la vigilia. Es decir, la información que se encuentra codificada es la acción que tiene cada una de las vías en las neuronas de la corteza visual durante el paso del sueño a vigilia y viceversa, información que es necesario . En este caso particular el objetivo de estudio no es el efecto del estímulo concreto que se aplica, sino las diferencias que se puedan encontrar cuando el estímulo es aplicado en una u otra zona. Es por esto que no es necesario conocer los detalles de los estímulos aplicados y sólo conocemos que son estímulos eléctricos de dos segundos de duración y sabemos en qué área fueron aplicados. La naturaleza de los datos con los que contamos es de una gran cantidad de segundos en los que las neuronas se encuentran en actividad espontánea y unos pocos segundos donde éstas se encuentran bajo el efecto de alguno de los dos estímulos.

En un principio presentamos las técnicas basadas en tasas de disparos de las neuronas. Aquí discutimos tasas de conteos de PA y las tasas de disparos dependientes del tiempo. Estas últimas fueron estimadas para todas las neuronas que conforman el estudio tanto en el período *pre* (actividad espontánea) como en el período *tras*. Bajo actividad espontánea, lo que estas tasas de disparos en función del tiempo nos permiten evidenciar es la gran diferencia que puede existir entre neuronas de una población que se encuentran razonablemente cerca. Si bien estas tasas cambian de un ensayo a otro de una neurona, los máximos y mínimos dentro de una misma neurona se mantienen considerablemente constantes lo que no ocurre de una neurona a otra. Por ejemplo, vimos que la neurona N7 presenta muy baja actividad, con máximos que no superan los 2.5 Hz mientras la neurona

N4a presenta valores que superan los 10 disparos por segundos en reiteradas ocasiones. Una situación distinta se da si tenemos las neuronas bajo el efecto de un estímulo y, por lo tanto, lo que se está registrando es la respuesta de las neuronas a ese estímulo. En este caso, podemos comparar los distintos ensayos entre sí y esperar respuestas diferenciadas para cada estímulo. Según lo que hemos podido observar en estas neuronas, el estímulo *te* tiene un efecto claro en la tasa de disparo y este se observa en los primeros segundos luego de ser aplicado. Sin embargo, el estímulo *pb* parece tener muy poco efecto en varias de las neuronas y en las que lo tiene, éste parece presentarse luego de transcurrido varios segundos desde el estímulo.

La utilidad de este tipo de funciones parece más interesante cuando se cuenta con datos de neuronas que se encuentran bajo el efecto de un estímulo. Cuando el estímulo, además, es conocido, se abren más posibilidades de estudio en este área, en el sentido que se puede “comparar” el estímulo con la respuesta obtenida para intentar entender en que aspectos de la tasa de disparo -forma, fase, amplitud- la información ofrecida por el estímulo se encuentra codificada en ésta. Existen varias formas de llevar a cabo un estudio de este estilo. Por ejemplo, la utilización de funciones sintonizadoras (“tuning functions”), que relacionan un parámetro del estímulo ( $s$ ) con la tasa de disparo,  $\hat{r}(t) = f(s)$ . Este tipo de análisis se puede encontrar en Kaufman et al (2005) donde se estudian funciones de regresión no paramétricas basadas en splines para funciones periódicas para explicar las tasas de disparos de neuronas de la corteza motora de un mono que realiza tareas en las que tiene que mover una palanca en ocho direcciones circulares.

Sería interesante implementar tests estadísticos con los cuales poder contrastar la diferencia entre las las funciones de tasas de disparos obtenidas en este trabajo. Considerando cada estímulo, *te* y *pb*, como una condición experimental, podemos pensar en contrastar la hipótesis de igualdad de curvas para estas dos condiciones y esto podríamos hacerlo para cada neurona o para todas como grupo. Es decir, se podría realizar una especie de ANOVA para igualdad de funciones a través de diferentes condiciones experimentales. Este tipo de análisis es presentado en Behseta et al (2007) utilizando tests de razón de verosimilitud para contrastar la igualdad de curvas de tasas de disparos tanto para instantes de tiempo puntuales como para todo el intervalo de tiempo en el que la tasa es estimada, en el caso de neuronas individuales y para poblaciones.

Por otro lado, hemos analizado los intervalos entre espigas (ISI) de los trenes de PA. En este caso hemos decidido trabajar con los logaritmos de los ISI debido a la gran variabilidad que presentan los datos originales: en todos los ensayos de todas las neuronas se pueden observar muchos tiempos pequeños, de hasta 0.25 seg y por otro lado se pueden observar tiempos grandes, de hasta 7 segundos en algunas ocasiones. Hemos verificado que nuestros trenes de PA no provienen de un proceso de Poisson, dado que los tiempos entre espigas no son exponenciales y tampoco son independientes. En cuanto a la estimación de la densidad de los ISI hemos encontrado características interesantes. En general, aunque hay excepciones, hemos visto que la densidad de estos tiempos de cada neurona es bastante particular, tiene una forma dada que se mantiene en cada ensayo y por supuesto al estimar la densidad con todos los ensayos juntos. Esta densidad es estacionaria ba-

jo actividad espontánea. Dicha estacionariedad se pierde con la aplicación del estímulo (aunque sólo pudimos verlo para una neurona) y se recupera en gran medida en la parte *final* de los registros. Estas densidades suelen ser bimodales, con una moda en valores muy pequeños y otra alrededor del cero (1 seg). Esto es consistente con la alternancia que se da en las neuronas entre tiempos pequeños y grandes que se puede observar muy bien en los “raster plots”.

Por último, presentamos algunas medidas de correlación para los trenes de espigas, tanto de uno consigo mismo como entre dos trenes distintos. En primer lugar, discutimos brevemente la autocovarianza serial de un tren de espigas. Estimamos estas funciones para las neuronas del estudio, sin obtener demasiada información debido a que éstas varían notablemente de un ensayo a otro de la misma neurona. Lo único que se mantiene bastante constante es el hecho de que la autocorrelación serial disminuye en la parte *tras* con respecto a las otras dos partes, sin embargo no desaparece del todo, lo cual indica que bajo el efecto del estímulo la autocorrelación de la neurona es diferente a la que existe bajo actividad espontánea, quizás menor, al no estar oscilando, pero existe algo de autocorrelación.

Por otro lado, estimamos la autocorrelación y correlación cruzada como suele utilizarse en el campo neurocientífico. En este caso es posible sacar algunas conclusiones más importantes. Como en la estimación de las densidades de los ISI, la forma de las funciones de autocorrelación es particular para cada neurona y se mantiene a través de los ensayos aunque, en general, en la parte *pre* estas funciones presentan un pico grande en el cero ( $\pm 2$  seg) que alcanza valores entre 0.025 y 0.04, dependiendo de la neurona, y luego aparecen otros picos secundarios que toman valores en torno a 0.015. Estos picos muestran la existencia de tiempos muy pequeños y grandes entre disparos y la relativa falta de tiempos intermedios. En la parte *tras* la situación es algo diferente. Aquí por lo general ya no vemos picos secundarios, aunque el tiempo de observación es más corto también. Hemos encontrado diferencias entre las funciones de autocorrelación bajo un estímulo y el otro que se basan principalmente en la dispersión, que es mayor para el estímulo *te* y en algunas neuronas hay una notoria diferencia en la forma de estas funciones: son cóncavas para *te* y convexas para *pb*. Por último vimos que al desaparecer el efecto del estímulo las funciones vuelven a parecerse a las de la parte *pre*.

En lo que respecta a las correlaciones cruzadas, hemos encontrado una diferencia sustancial entre las correspondientes a la parte *tras* del estímulo *te* y las de la parte *tras* del estímulo *pb*. Mientras las primeras son suaves y unimodales las segundas son muy poco suaves y con varios picos. Esta es una diferencia importante debido a que nos permite una primera caracterización de la diferencia en la sincronía que presentan los pares de neurona ante los diferentes estímulos. Por último vimos que, por lo menos en un caso, la correlación cruzada de las neuronas así definida no es estacionaria en el tiempo, lo que nos hace pensar que son necesarias herramientas que tengan esto en cuenta.

Existen muchas otras medidas con las que se puede estudiar la correlación de dos neuronas en el tiempo. Por ejemplo, el JPSTH (Joint Peri Stimulus Time Histogram), que

muestra, en un histograma bidimensional, el conteo de espigas conjunto en cada tiempo  $u$  para la neurona 1 y tiempo  $r$  para la neurona 2 a través de varios ensayos. Como su nombre indica, esta herramienta se utiliza cuando un estímulo es aplicado, de manera que se pueden contar los PA que ocurren tras él. Este método, al igual que el del CCH móvil, tiene varios contras, entre ellos: a la hora de querer hacer contrastes estadísticos, pueden realizarse varios distintos utilizando estos métodos, luego, los resultados dependerán de las suposiciones y la metodología utilizada. Por otra parte, tanto el JPSTH como el CCH asumen que distintos ensayos de una neurona son indistinguibles, mientras que esto puede no ser así, porque, por ejemplo, una neurona puede adaptar al estímulo presentado. Si este último fuera el caso, estas variaciones ensayo a ensayo podrían aparecer como sincronía artificial. Existen otros métodos que no tienen estos problemas, por ejemplo, algunos basados en procedimientos de suavización y tests de significación bootstrap. Este método se ve ejemplificado en Ito (2007) donde el autor aplica varios métodos estadísticos para el test de significación de la sincronía de trenes de PA no estacionaria basado en bootstrap y compara los resultados con los obtenidos utilizando suposiciones de que los datos provienen de un proceso de Poisson.

En Brown et al (2004) encontramos una buena discusión sobre las herramientas de análisis de datos de múltiples trenes de PA, en él se incluyen muchos de los métodos nombrados más arriba y otros, como métodos de clasificación de patrones de espigas, métodos de verosimilitud, métodos en el dominio de frecuencias y teoría de la información aplicada a código neuronal.

Además de las técnicas intracraneales para registrar actividad neuronal, existen técnicas extracraneales, como son el electroencefalograma (EEG), o la Imagen por Resonancia Magnética funcional (fMRI). La fMRI es una técnica que mide la hemodinámica relacionada a la actividad neuronal: cuando una zona del cerebro se activa consume más oxígeno y por lo tanto aumenta el flujo sanguíneo. Luego la fMRI puede utilizarse para crear mapas de actividad neuronal relacionada con cierto proceso mental. El EEG, por otro lado, registra la actividad neuronal con electrodos ubicados fuera del cráneo del individuo. La actividad que se registra por este método es, al igual que con la fMRI, global, es decir, de una población de neuronas.

Con todo lo expuesto hasta ahora podemos definir dos posibles líneas de trabajo futuro. Principalmente, resulta interesante el estudio más detallado de las distintas posibles medidas de correación de trenes de PA para utilizarlas en la búsqueda de un índice de sincronización temporal entre dos neuronas. El propósito de éste sería el estudio de la desincronización de las neuronas cuando el estímulo es aplicado y el de la re-sincronización cuando éste desaparece. Un índice de esta índole, ya utilizado, por ejemplo, en Ghisovan et al (2008), es el de tomar el valor más alto que alcanza la función de correlación cruzada calculada en un tiempo (CCH móvil), normalizado en relación a la tasa de disparo de cada neurona. Este tipo de índices resultan muy útiles en el área, dada la importancia de la sincronización de las neuronas en el estudio de la codificación de la información, por lo que es muy interesante el problema de definir un buen índice y estudiar sus propiedades estadísticas. Por otro lado, en el experimento que da origen al presente trabajo, también

se registra el EEG del gato en todo momento. El EEG del sueño que en nuestro caso es el EEG del gato anestesiado sin estímulo, presenta ondas de gran amplitud y baja frecuencia. En cambio, el EEG de vigilia, o en nuestro caso bajo el efecto del estímulo, presenta ondas de poca amplitud y alta frecuencia. Esta información podría utilizarse también para enriquecer el estudio de los efectos diferenciales de los dos estímulos incorporando variables de nivel poblacional.





# Bibliografía

- [1] Behseta, S., Kass, RE., Moorman, DE. and Olson, CR. (2007). Testing equality of several functions: Nalysis of single-unit firing-rate curves, across multiple experimental conditions, *Statistics in Medicine*, Vol 26, pp. 3958-3975.
- [2] Brockwell, PJ. and Davis, RA. (1996). Introduction to Time Series and Forecasting, *Springer*.
- [3] Brown, NE., Kass, RE. and Mitra, P. (2004). Multiple neural spike train data analysis: state-of-the-art and future challenges, *Nature Neuroscience* Vol.7(5), pp. 456-461.
- [4] Chakravarti, Laha, and Roy, (1967). Handbook of Methods of Applied Statistics, Vol. I, *John Wiley and Sons*, pp. 392-394.
- [5] Chernobay, A., Rachev, S. and Fabozzi, F. (2005). Composites goodness-of-fit tests for left-truncated loss samples, *Tech. rep., University of California Santa Barbara*.
- [6] Dayan, P. and Abbott, LF. (2001). Theoretical Neuroscience: Computational and Mathematical Modeling of Neural Systems, *The MIT Press*.
- [7] Gerstner, W. and Kistler, W. (2002). Spiking Neuron Models, Single Neurons, Populations, Plasticity, *Cambridge University Press*.
- [8] Ghisovan, N., Nemri, A., Shumikhina, S. and Molotchnikoff, S.(2008). Synchrony between orientation-selective neurons is modulated during adaptation-induced plasticity in cat visual cortex, *BMC Neuroscience*, Vol. 9 pp.60.
- [9] Ito, H. (2007). Bootstrap significance test for synchronous spike events - A case study of oscillatory spike trains, *Statistics in Medicine*, Vol. 26 pp. 3976-3996.
- [10] Kaufman, CG., Ventura, V. and Kass, RE. (2005). Spline-based non-parametric regression for periodic functions and its applications to directional tuning of neurons, *Statistics un medicine*. Vol. 24, pp. 2255-2265.
- [11] Nawrot, M., Aertsen, A. and Roter, S. (1999). Single ensayo estimation of neuronal firing rates: from single neurona to population activity, *Journal of Neuroscience Methods*, Vol.94 ,pp. 81-92.
- [12] Perkel, DH., Gerstein GL. and Moore, GP. (1967a) Neuronal Spike Trains and Stochastic Porcesses. I. The Single Spike Train, *Biophysical Journal*, Vol. 7(4), pp. 391-418.

- [13] Perkel, DH., Gerstein GL. and Moore, GP. (1967b) Neuronal Spike Trains and Stochastic Processes. II. Simultaneous Spike Trains, *Biophysical Journal*, Vol. 7(4), pp. 419-440.
- [14] Sheather SJ. and Jones MC. (1991). A reliable data-based bandwidth selection method for kernel density-estimation, *Journal of the Royal Statistical Society*, Vol 53(3), pp. 683-690.
- [15] Silverman, BW. (1986). Density Estimation. *Chapman and Hall*.
- [16] Stephens, MA. (1974). EDF Statistics for Goodness of Fit and Some Comparisons, *Journal of the American Statistical Association*, Vol. 69, pp. 730-737.
- [17] Wand, MP. and Jones, MC. (1995) Kernel Smoothing, *Chapman Hall*.