



FACULTAD DE CIENCIAS

PROGRAMA DE MAGISTER EN CIENCIAS BIOLOGICAS MENCION
NEUROCIENCIA

**“DETECCIÓN DE ASAMBLEAS NEURONALES EN RETINA DE
OCTODON DEGU”**

SORAYA MORA BARRIENTOS

**Tesis para optar al grado de Magíster en Ciencias Biológicas Mención
Neurociencia**

Director de Tesis:

Prof. Dr. Adrián Palacios

AGRADECIMIENTOS

- 1) Gracias de corazón a Adrián Palacios y Rubén Herzog por guiar mi proyecto de tesis. Gracias por su paciencia, dedicación y motivación que ayudaron a hacer fácil lo difícil. Realmente ha sido un privilegio trabajar bajo su tutela.
- 2) Instituto de sistemas complejos de Valparaíso (ISCV) por facilitar el espacio para desarrollar la investigación llevada a cabo en esta tesis.
- 3) FONDECYT # 1150638 por financiar el proyecto de investigación.

INDICE

AGRADECIMIENTOS	2
INDICE	3
Índice de figuras	4
Abreviaciones.....	5
RESUMEN	6
1 INTRODUCCIÓN	7
1.1 Redes neuronales	7
1.2 Asambleas neuronales	9
OBJETIVOS.....	14
2 MÉTODOS.....	15
2.1 <i>Raster</i> de asambleas:.....	15
2.2 Análisis de componentes principales.....	16
2.3 Agrupación de datos: <i>Clustering</i>	18
2.4 Desempeño del método	20
2.4.1 Encontrando el número de asambleas:	20
2.4.2 Identificando a las <i>core cells</i>	20
2.4.3 Detectando los tiempos de activación de las asambleas	21
2.4.4 Área bajo la curva ROC	22
3 RESULTADOS	24
3.1 Creación del <i>raster</i> de asambleas sintéticas y <i>clustering</i> :.....	24
3.2 Buscando el mejor valor de “ <i>dc</i> ”	30
3.2.1 Identificando el número de asambleas	30
3.2.2 Identificando los tiempos de activación	35
3.2.3 Identificando las <i>core cells</i>	39
3.2 Detectando asambleas neuronales en retina de <i>Octodon Degus</i>	41
4 DISCUSIÓN.....	46
5 CONCLUSIONES	50
PROYECCIONES.....	51
REFERENCIAS.....	51
ANEXOS	57
Congresos.....	57

Índice de figuras

Teoría de Asambleas neuronales	9
Distribución de puntos sintéticos:	18
AUC de la curva ROC.....	22
Representación del <i>raster</i> de asamblea sintéticas	24
<i>Raster</i> de asambleas sintéticas para diferentes tasas de disparo	26
Algoritmo de <i>clustering</i>	28
Detectando asambleas	33
Detección de los tiempos de activación.....	37
Detección de las <i>core cells</i>	39
Detectando Asambleas neuronales en retina de degus.....	41
Detectando la actividad neuronal de cada asamblea	42
Asambleas en CGR de degú.....	44

Abreviaciones

CGR: Células ganglionares de la retina.

PCA: Principal Component Analysis.

CP: Componente principal.

FP: Falso positivo.

VP: Verdadero positivo.

ROC: Receiver Operating Characteristic.

as: assemblies

n: Células o Neuronas

fr: firing Rate

RESUMEN

Asambleas neuronales corresponden a un grupo de neuronas fuertemente interconectadas que son activadas por un orden secuencial de disparos. En particular se busca entender cómo este grupo de neuronas se articula a través de correlaciones entre ellas, para integrar y codificar de manera eficiente las señales de relevancia para el sistema nervioso. Sin embargo, la mayoría de los esfuerzos para comprender el comportamiento y funcionamiento de las asambleas han sido analizados sólo en corteza visual, pero aún es desconocida su presencia y función a nivel de retina —una parte del sistema nervioso central que se comunica directamente con el cerebro.

Las metodologías actuales para la detección de asambleas requieren mucha intervención del usuario, ya que para su estudio es necesario ajustar parámetros y umbrales para separar los datos relevantes del ruido y con ello obtener resultados confiables. Aquí se presenta una metodología de detección de asambleas neuronales por medio de *clustering* de actividad poblacional neuronal basado en patrones binarios. Como este método sólo depende de un parámetro: la distancia d_c que corresponde a la distancia entre el centroide de un *cluster* y otro, es capaz de analizar y agrupar los patrones binarios de actividad neuronal en un corto periodo de tiempo. Este método fue sometido a prueba mediante el uso de datos simulados, los cuales se varió la tasa de disparo de las neuronas, los tiempos de activación, tamaño y cantidad de asambleas. Los resultados obtenidos demostraron una detección de asambleas con alta precisión, inclusive cuando se aumenta la cantidad de ruido.

Finalmente se buscó la presencia de asambleas neuronales en retina, llevando a cabo un análisis de registro *ex vivo* de células ganglionares de la retina (CGR) de un roedor diurno *Octodon Degus*. Se demostró que ante un estímulo simple basado en pulsos de luz, existe una co-activación neuronal que puede ser constatada como asamblea neuronal. Además, se evidencia que esta co-activación pareciera estar segregada funcionalmente por el tipo de CRG ON y OFF.

1 INTRODUCCIÓN

1.1 Redes neuronales

El cerebro humano está compuesto de alrededor de 100 billones de neuronas, las que se encuentran anatómicamente organizadas y conectadas a través de sinapsis en diferentes escalas espaciales y temporales (Fornito *et al*, 2016). Una población de neuronas se encuentra interconectadas a través de potenciales de acción que originan patrones de actividad, que dependen de la anatomía, conectividad y actividad de la red (Ruminov and Sporns, 2010).

En los años 40, McCulloch y Pitts en su trabajo *A logical calculus of the ideas immanent in nervous activity* modelaron una red neuronal utilizando circuitos lógicos (McCulloch & Pitts, 1943). Años más tarde, Hebb propuso que las vías neuronales se refuerzan en la medida en que éstas son activadas (Hebb, 1949), sentando con esto las primeras nociones de plasticidad neuronal mediada por la actividad. Diez años después, Widrow and Hoff (Widrow & Hoff, 1960) utilizando herramientas de las comunicaciones, desarrollaron los primeros circuitos de redes neuronales en el contexto de *machine learning*. Shatz en su trabajo “*Emergence of order in visual system development*” desarrolló la idea de que las células que disparan juntas tienden a fortalecer sus conexiones (Shatz, 1996), entregando así una primera aproximación para indicar que el cerebro puede ser estudiado como una red.

A partir de los 80 se ha aplicado matemática estadística a sistemas complejos, lo que ha favorecido al desarrollo de nuevas teorías y conceptos relacionados con el modelamiento y análisis de redes neuronales. Asimismo, las nuevas tecnologías como el fMRI, microscopía electrónica, registro fisiológicos de poblaciones de neuronas a través de multielectrodos, entre otros, han ayudado a generar mapas anatómicos y funcionales del cerebro con diferentes resoluciones espaciales (Bullmore and Sporns, 2009; Chung and Deisseroth, 2013). Gracias a la unión de las áreas de matemática y

biología y al avance tecnológico computacional se ha podido modelar y simular la topología y dinámica las redes neuronales, con el objetivo de asimilar al cerebro humano y comprender cómo éste procesa la información del medio.

El propósito de esta tesis trata de la caracterización de redes de neuronas que han sido definidas como ensamblajes neuronales (Hansen and Salamon, 1990; Hashem *et al*, 1994; Opitz and Shavlik, 2010) en la retina, un tejido nervioso de fácil acceso. Revisemos, a título introductorio, algunos conceptos al respecto de redes.

Una red neuronal puede definirse como una estructura con elementos interconectados llamados neuronas artificiales (agentes), los cuales son capaces de realizar cálculos en base a la interconexión entre sus elementos (Basheer and Hajmeer, 2000). Para el desarrollo de estos modelos artificiales, se han tomado en cuenta características de sistemas biológicos en base a parámetros como: i) procesos no lineales; ii) procesamiento de datos en paralelo; iii) robustez frente a señales ruidosas, lo que provee una aguda predicción ante la presencia de datos inciertos y medidas de errores; iv) aprendizaje y adaptabilidad ante el cambio de la estructura interna de la red (simulando cambios en el ambiente) (Jain *et al*, 1996; Bressler *et al*, 2010, Power *et al*, 2010).

El modelamiento de las redes neuronales ha ayudado a entender cómo funciona y se comporta la vasta y compleja actividad cerebral, al interpretar al cerebro como un conjunto de interacciones cuya organización es inherentemente compleja pero ordenada. En razón de lo cual, la neurociencia ha puesto el foco en el estudio de las redes neuronales artificiales para así poder comprender cómo es la arquitectura, función y comportamiento de la compleja actividad cerebral. En específico, aquí se busca entender y caracterizar a la red neuronal como subgrupos de redes pequeñas que pueden ser interpretadas como ensamblajes neuronales (Miller *et al*, 2014).

1.2 Asambleas neuronales

El estudio de la red neuronal como un circuito funcional no hubiese sido posible sin la premisa de que la activación sincrónica y repetida de grupos de neuronas fortalecen sus conexiones, conjetura conocida actualmente como “regla de Hebb” (Harris, 2005). Fue Hebb quien en 1949 propuso la primera teoría a cerca de las asambleas neuronales, al definir las como un grupo fuertemente interconectado de neuronas activadas por un orden secuencial de disparos, a las cuales llamó “asambleas celulares” (Hebb, 1949). Esta nueva teoría generó un cambio radical en el pensamiento neuro científico, ya que instauró un nuevo paradigma que hace mención de que el cerebro tiene un “estado interno” que puede influir tanto en el comportamiento del individuo, así como también en la manera en cómo éste percibe su entorno. Con esta nueva mirada, se creó una línea de investigación que estudia la dinámica de los circuitos neuronales y cómo estos pueden influir en la evolución del estado interno del cerebro y sus procesos cognitivos asociados.

Como consecuencia, las asambleas neuronales se encuentran colectivamente activadas por entradas sensoriales formando un breve circuito cerrado que actúa en ausencia de estimulación externa (Wallace and Kerr, 2010). Debido a su alta conectividad, la sola estimulación de unos pocos miembros de una asamblea puede impulsar a la asamblea en su totalidad, así como también éstas pueden ser activadas por factores internos, por ejemplo, la estimulación de una asamblea vecina, lo cual forma así una secuencia en fase (Palm, 1981, 1987), como muestra la Figura 1. Motivo por el cual, se puede definir el concepto de asamblea neuronal como “Un subconjunto de neuronas que se encuentran transitoriamente unidas por conexiones dinámicas recíprocas” (Ranhel *et al*, 2012).

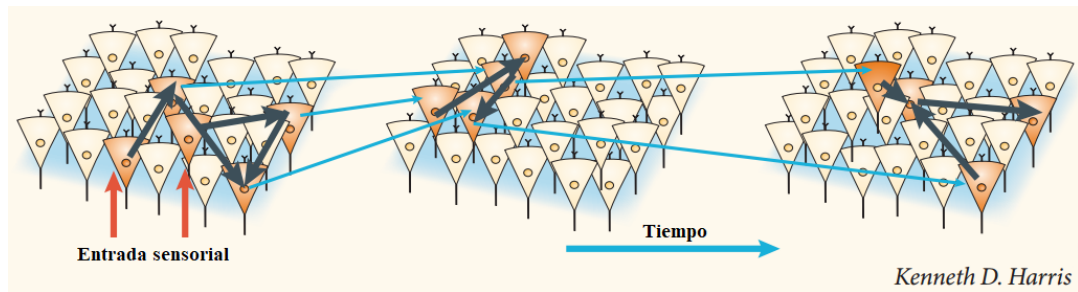


Figura 1: Teoría de Asambleas neuronales: La entrada sensorial (flechas rojas) impulsa a ciertas neuronas a disparar. A partir de ellas, la actividad evoluciona debido a la dinámica cortical intrínseca. Las conexiones recurrentes fortalecidas entre los miembros de una sola asamblea (flechas negras) estabilizan transitoriamente la actividad de la asamblea a través de la excitación mutua. A medida que la excitabilidad de este conjunto se desvanece, las conexiones entre asambleas (flechas azules) conducen a la activación posterior de un nuevo conjunto. La ‘*secuencia de fases*’ resultante evoluciona a través de la dinámica de la red y no está estrictamente determinada por la serie temporal de las entradas sensoriales (Harris, 2003).

Gyorgy Buzsáki, sugirió que las asambleas neuronales se encontrarían organizadas en relaciones de primer orden y de orden superior, las cuales unen la información en grupos de reglas sintácticas conocidas tanto por la célula que envía (codificación) y la que recibe la señal (decodificación), de la cual surge una comunicación más eficiente, con información ininterrumpida y sencilla de interpretar (Buzsáki *et al*, 2010). Si las entradas a un sistema producen el mismo patrón de actividad repetidamente, el conjunto de elementos activos que constituye ese sistema llegará a tener una inter-asociación más robusta. Es decir, cada elemento tenderá a activar a otros elementos y a inactivar (con pesos negativos) a los elementos que no formen parte del patrón. En otras palabras, el patrón de respuesta observado en su conjunto se convertirá en ‘auto-asociado’. Se puede decir que un aprendizaje (auto-asociado) es un patrón de “engrama” (Hebb, 1949). Por lo tanto, la actividad conjunta de las neuronas refleja la combinación de algunas características físicas seleccionadas del mundo y la interpretación del cerebro de esas características. (Buzsáki *et al*, 2004).

Gracias al desarrollo de nuevas tecnologías, se ha hecho posible, por una parte, el registro electrofisiológico simultáneo de cientos de neuronas, y por otra, la incorporación de nuevas herramientas computacionales, las cuales contribuyen al análisis y el modelamiento de redes neuronales, lo que a su vez permite observar la compleja y dinámica actividad de las ensamblajes neuronales. Sin embargo, pese a que su estudio ha sido llevado a cabo por décadas, aún no se conoce a cabalidad el principio fundamental por el cual las neuronas trabajan en conjunto, es por ello que se han generado métodos que intentan comprender cómo funciona el “código neuronal” (de Charms *et al*, 2000 & Theunissen *et al*, 1995). Uno es observar la actividad poblacional dentro de una ventana temporal (llamada *bin*), la cual refleja la actividad sincrónica de las neuronas. Este paradigma establece que, si las neuronas presentan una actividad coordinada, al ser sometidas a factores externos específicos (estímulos), se debería reflejar una alta sincronía con una precisión temporal mayor a la esperada (Harris, *et al* 2003). Esto indica que aparentemente la actividad temporal estocástica de estos grupos de neuronas es activada por patrones secuenciales temporales que superan el azar (Carrillo-Reid *et al*, 2015; Miller 2014 *et al*; Montijn, 2016).

A pesar de que existen diversas técnicas de decodificación como similitud métrica, correlaciones, distancia Hamming, clustering, entre otros, que pueden ayudar a esclarecer la relación entre la actividad neuronal y el estímulo, no pueden predecir cómo será la actividad neuronal más allá de aquella que es causada por un estímulo en común (Víctor and Purpura, 1996; van Rossum, 2001; Fellous *et al.*, 2004).

Además, para analizar la correlación y actividad sincrónica de las neuronas es necesario utilizar varias técnicas de filtrado que permita separar los datos relevantes desde el ruido. Una de estas técnicas utilizadas corresponde a la identificación de niveles de umbral para la correlación, lo cual se logra a través de varios pasos de procesamiento:

- i) Destruir las correlaciones y temporalidad de los datos mediante el método llamado “*shuffling*”, para luego utilizar conjuntos de pruebas estadísticas con el objeto de encontrar un umbral de corte (Pipa & Grün, 2003).
- ii) Definir y ajustar parámetros que permitan extraer los datos con mayor índice de correlación, los que según la teoría nos entregan la mayor explicación de la variación de los datos, y según esto puedan dar la mejor interpretación del fenómeno en estudio (Roy *et al*, 2000).

Sin embargo, el hecho de analizar sólo los grupos de neuronas que presentan mayor sincronía, no implica que no existan otros grupos neuronales co-activos que puedan tener una contribución clave al momento de procesar la información, y que al momento de generar un análisis e interpretación del fenómeno sean ignorados por el mero hecho de tener un índice de correlación bajo que no sea capaz de superar el umbral de corte.

Si bien estos métodos pueden procesar un registro con un gran número de neuronas, al ser utilizados en datos ruidosos no entregan un resultado confiable, ya que al incrementar la actividad neuronal, y luego generar el posterior análisis matemático, se reduce la participación estimada de la neurona, y como consecuencia puede ocurrir que algunas neuronas que son importantes dentro de una asamblea puedan confundirse con ruido y por ello ser ignoradas o eliminadas de los datos, sub o sobre estimando la actividad de asambleas y de sus respectivas células en la red (Lopes-dos-Santos *et al*, 2011).

Además, los métodos existentes (Carrillo-Reid *et al*, 2015; Miller *et al*, 2014, Motijin *et al*, 2016) requieren mucha intervención del usuario, ya que se deben ajustar parámetros y umbrales para separar los datos relevantes del ruido. Lo cual permite que el tiempo de cómputo del algoritmo aumente junto con los ajustes necesarios para estudiar una red en particular. Con lo cual se dificulta, de esta manera, con esto la exploración de datos cuando no se sabe *a priori* cuáles deberían ser aproximadamente los resultados esperados.

Debido a lo anterior, se propone un nuevo método de detección de ensamblas neuronales, el cual es flexible ante datos ruidosos, de rápido cómputo y que requiere poca intervención del usuario; capaz de extraer las características esenciales que conforman la actividad de las ensamblas neuronales como:

- i) determinar la cantidad de neuronas que participan en la actividad de la ensambla;

- ii) especificar la identidad precisa de las neuronas pertenecientes a cada ensambla;

- iii) identificar las fases de activación de diferentes ensamblas con alta precisión temporal.

OBJETIVOS

Objetivo general

Desarrollar un método computacionalmente eficiente que permita recrear patrones artificiales de actividad de ensamblas neuronales en datos ruidosos, para luego examinar el comportamiento y características de las ensamblas presentes en poblaciones de células ganglionares de la retina.

Objetivos específicos

- i) Implementar un modelo que simule actividad neuronal tipo asamblea, entregando como producto actividad neuronal sintética.
- ii) Explorar el método de *Clustering on this low-dimensional space* para determinar qué parámetros se ajustan mejor, y así caracterizar la actividad revisada de datos reales de registros de *retina in vitro*.
- iii) Evaluar la herramienta computacional implementada utilizando el modelo de actividad neuronal tipo asamblea para la recuperación de grupos de neuronas, caracterizando tiempos de activación y unidades celulares participantes en cada grupo.

2 MÉTODOS

2.1 *Raster* de asambleas:

Para la creación del *raster* de asambleas sintéticas, primero se generan una matriz de asambleas **A** con dimensiones $\mathbf{A}_{\mathbf{N} \times \mathbf{T}}$ donde “**N**” corresponde al número de neuronas y “**T**” al bin o ventanas temporales. Luego la matriz **A** adquiere valores 1 y 0 según la siguiente condición:

$\mathbf{A}(\mathbf{a}, \mathbf{t}) = 1$ si la asamblea **a** estuvo activa en el tiempo **t**, y $\mathbf{A}(\mathbf{a}, \mathbf{t}) = 0$ en caso contrario

La secuencia de activación de cada asamblea se encuentra determinada por medio de una distribución de Poisson; donde la probabilidad de activación de una asamblea se encuentra definida por:

$$P = \frac{P_A}{A}$$

Donde P_A es la probabilidad de activación de la asamblea y **A** es el total de asambleas.

Finalmente se agrega ruido a la matriz **A** en función de la tasa de disparo deseada, para ello primero se calcula la actividad de cada célula a lo largo del tiempo y luego se verifica que su valor coincida con la tasa de disparo ingresada, en caso de que ambos valores no sean coincidentes se agregan y/o remueven aleatoriamente células del *raster* hasta que la condición quede satisfecha. Con ello se obtiene una nueva matriz **R** llamada “*raster* de asambleas sintéticas”, donde $\mathbf{R} = \mathbf{A} + \text{ruido}$.

2.2 Análisis de componentes principales

Como el *raster* tiene N dimensiones, en donde cada dimensión representa la actividad de una neurona a lo largo del tiempo, se aplica la técnica llamada “Análisis de Componentes Principales” (PCA por sus siglas en inglés), con el objetivo de reducir las dimensiones del *raster* con la menor pérdida de información posible (Chapin JK, *et al*, 1999; Humphries MD, 2011).

Esta técnica tiene como origen una matriz multidimensional. Para estudiar las relaciones que se presentan entre las “ p ” variables, transforma el conjunto original de variables en otro conjunto de nuevas variables que ortogonalmente no tienen correlación entre sí, por lo que entrega una nueva matriz sin información redundante. Estas nuevas variables son combinaciones lineales de las anteriores y se van construyendo según el orden de importancia en cuanto a la variabilidad total que recogen de la matriz original. En otras palabras, los componentes principales (CP) buscan $m < p$ variables que sean combinaciones lineales de las p variables originales que se encuentren linealmente no correlacionadas, recogiendo con esto la mayor parte de la información o variabilidad de los datos. Para ello, utiliza los vectores propios de la matriz de covarianzas de la matriz multidimensional buscando aquellos valores propios que contribuyen más a su varianza, de esta manera, retiene aquellos valores de bajo orden que contienen el aspecto “más importante” de la información entregada por la matriz $C\{i, j\}$ que representa al *raster* de ensamblajes.

Por lo tanto, para realizar el cálculo del PCA se debe considerar una serie de variables $(x_1, x_2 \dots x_p)$ sobre un grupo de objetos (en nuestro caso células), y a partir de ellos se construye un nuevo conjunto de variables $(y_1, y_2 \dots y_p)$ no correlacionados linealmente entre sí, cuya contribución a la varianza total de la matriz va decreciendo progresivamente. Cada nueva variable $y_j (j = 1 \dots p)$ es una combinación lineal de las variables originales $(x_1, x_2 \dots x_p)$ es decir:

$$y_j = a_{j1}x_1 + a_{j2}x_2 + \dots + a_{jp}x_p = a'_j x_i$$

Entonces el primer CP se define como la combinación lineal de las variables originales que tiene varianza máxima y queda representado como.

$$y_1 = C a_1$$

De manera general, para calcular los CP tenemos que:

$$S a_i = \lambda_i a_i$$

Donde **S** es la matriz de covarianza y λ_i es el autovalor que mide la cantidad de varianza capturada.

En general, como ambas matrices **C** y **S** tienen rango **p**, existiendo tantos CP como número de células, se obtendrán “**p**” autovalores distintos ($\lambda_1 \dots \lambda_p$), tales que $\lambda_1 > \lambda_2 > \dots > \lambda_p$.

Por lo tanto, tenemos que:

$$|S - \lambda I| = 0$$

Y sus vectores asociados son:

$$(S - \lambda_i I) a_i = 0$$

Si llamamos **Y** a la matriz cuyas columnas son valores de los **p** CP en las **n** variables, estas nuevas variables están relacionadas con las originales mediante:

$$Y = CA$$

Donde $A'A = I$ y **C** es la matriz original. En pocas palabras, un PCA equivale a aplicar una transformación ortogonal **A** a las variables **C** para obtener unas nuevas variables **Y** no correlacionadas entre sí.

2.3 Agrupación de datos: *Clustering*

El arte de agrupar y organizar datos ha sido una de las herramientas fundamentales utilizado por el ser humano para aprender y comprender el entorno que nos rodea. Es por ello por lo que se han generado técnicas de agrupación de datos, denominadas *clustering*, las que operan básicamente considerando dos tipos de entradas: los objetos de estudio y las variables implicadas en ellos. Ambas entradas son organizadas en una matriz bi-modal de $n \times p$ en la cual las filas y columnas representan entidades diferentes (Tucker, 1964). En esta situación los objetos n (columnas) son medidos en una variable temporal continua p (filas).

El método aquí utilizado de *clustering* fue propuesto por Alex Rodríguez y Alessandro Laio el año 2014. Este método tiene como fuente principal el método de *clustering* llamado *k-medoids*, el cual compara dos objetos (i y j) e indica cuán remotos se encuentran uno del otro, basándose en la teoría de que los objetos del mismo *cluster* deberían encontrarse relativamente cerca unos de otros, mientras que los objetos de diferentes *cluster* se encuentran alejados entre sí. Para ello, se busca un punto central que corresponde al punto más representativo para ese conjunto de datos en particular y luego busca cada elemento remanente más cercano a ese punto neurálgico. Con ello se establece que la distancia entre el punto central y los otros elementos que componen al mismo *cluster* debe ser mínima (Vinod 1969, Rao 1971, Church 1978, Mulvey & Cowder 1979).

En este sentido, el método de *clustering* propuesto por dichos autores asume que el centroide del *cluster* se encuentra rodeado de vecinos con baja densidad local, y que el siguiente punto de mayor densidad local se encuentra a una gran distancia de él. Por lo tanto, para cada punto i , se computan dos variables: i) su densidad local ρ_i , el cual busca qué puntos están más cercanos a una distancia d_c , y ii) su distancia δ_i al siguiente punto con mayor densidad. Ambas variables dependen sólo de la distancia d_{ij} entre los datos, por lo tanto, la densidad local ρ_i y la distancia mínima δ_i entre los centroides de cada punto i quedan definidas como (Rodríguez & Laio, 2014):

$$\rho_i = \sum_j X(d_{ij} - d_c)$$

$$\delta_i = \min(d_{ij}) \rightarrow j: \delta_j > \rho_i$$

Donde $X(x) = 1$ si $x < 0$, $X(x) = 0$ en caso contrario, d_c es la distancia de corte que define un centroide de otro, es decir, el límite de la vecindad. Por consiguiente, la cantidad de *clusters* obtenidos queda definido por la cantidad de centroides encontrados. En la Figura 2^a se puede observar la representación de 5 *cluster* diferenciados con colores diferentes, luego al generar el gráfico de ρ_i v/s δ_i se observan 5 puntos con alta densidad, los que se encuentran a una gran distancia entre ellos (Figura 2B), representando los 5 centroides de los *cluster* mostrados en la Figura 3A.

Para detectar los centroides de los *clusters*, se fijó una curva *power-law* del gráfico de ρ_i v/s δ_i donde el límite superior de intervalo de confianza es 99.9% del ajuste utilizado como umbral (puntos con probabilidad de pertenecer al ajuste menor al 0.001). Aquellos puntos que no cumplieron con la condición fueron considerados como no-centroides y se agruparon al centroide más cercano.

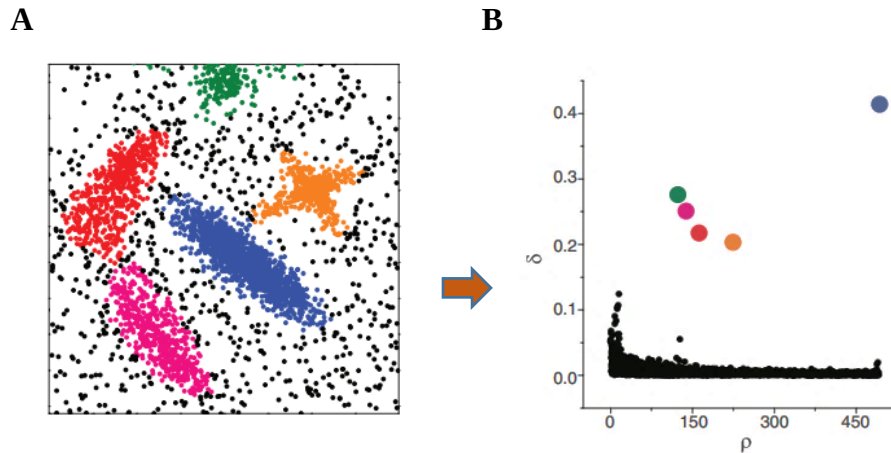


Figura 2: Distribución de puntos sintéticos: A) distribución de los puntos en un espacio bidimensional; B) gráfico de decisión, con los centroides de cada *cluster* coloreados. (Rodríguez A & Laio A 2014).

2.4 Desempeño del método

Como d_c es un parámetro que controla tanto a ρ como δ , se buscó el mejor valor de d_c que permita detectar las ensamblas, junto con sus células y tiempos de activación. Para ello se ejecutó el método verificando que sea capaz de recuperar las siguientes variables ingresadas en el *raster* de ensamblas sintéticas.

2.4.1 Encontrando el número de ensamblas:

Para detectar si el algoritmo es capaz de identificar y recuperar la cantidad de ensamblas ingresadas, se calculó la diferencia entre las ensamblas ingresadas con las encontradas.

$$\Delta A = A_{out} - A_{in}$$

Donde: A_{out} es el número de ensamblas encontradas y A_{in} es el número de ensamblas ingresadas; por lo tanto, se obtiene:

$$A_{in} > A_{out} \rightarrow \Delta A < 0$$

$$A_{in} < A_{out} \rightarrow \Delta A > 0$$

$$A_{in} = A_{out} \rightarrow \Delta A = 0$$

2.4.2 Identificando a las *core cells*

Las *core cells* son neuronas miembros de la ensamblas que fueron ingresadas al momento de crear el *raster* de ensamblas sintéticas.

Una vez recuperadas las ensamblas, se identificó si las células que la componen se corresponden con las *core cells*, para ello se calculó el coeficiente de correlación de Pearson (ρ) entre los tiempos de activación de cada neurona con los tiempos de activación de cada ensamblas.

Con el objetivo de determinar cuál es la probabilidad de que exista correlación entre una neurona y una ensamblas dada por azar, primero se obtuvo un umbral de correlación para cada neurona en cada ensamblas. Para ello se utilizó el método

llamado *shuffling* en el cual se mantuvo el tiempo de activación de la neurona n , pero se desordenó aleatoriamente la secuencia temporal de la asamblea a manteniendo su actividad en el tiempo. Este procedimiento fue repetido 1000 veces para cada asamblea, con lo cual se obtuvo una distribución de correlación entre la célula n y la asamblea as . Luego se obtiene el umbral de corte de correlación, utilizando 4 percentiles (prct) distintos de su distribución: i) prct 99, ($p < 0.01$), ii) prct 99.9 ($p < 0.001$), iii) prct 99.99 ($p < 0.0001$), iv) prct 99.999 ($p < 0.00001$).

Por lo tanto, se determinó a una célula como miembro de una asamblea sólo cuando el coeficiente de correlación entre los tiempos de activación de la célula y la asamblea superaba el umbral de correlación por azar.

2.4.3 Detectando los tiempos de activación de las asambleas

Los tiempos de activación fueron clasificados en dos categorías:

- Falsos positivo (FP): el tiempo de activación de la asamblea encontrada no coincide con el tiempo ingresado.
- Verdaderos positivo (VP): el tiempo de activación de la asamblea encontrada es coincidente con el tiempo ingresado.

Primero se identificaron los tiempos de activación de las asambleas encontradas y se compararon con los tiempos de activación ingresados, luego se calculó la tasa de falsos positivos y verdaderos positivo y finalmente usando la “Curva Característica Operativa del Receptor” (ROC por sus siglas en inglés) se buscó el valor del área bajo la curva para determinar con qué precisión esos tiempos de activación fueron recuperados.

2.4.4 Área bajo la curva ROC

La equivalencia entre las ensamblas predefinidas y las encontradas no es trivial. Que el método recupere en su totalidad las ensamblas ingresadas, no significa que necesariamente sus tiempos de activación sean equivalente con los ingresados, y menos aún, significa que las *core cells* coincidan con las originales; por ello, se realizó una prueba diagnóstica de los datos analizando el área bajo la curva ROC para cada valor de d_c .

La curva ROC representa la sensibilidad de una prueba diagnóstica que produce resultados continuos en función de los falsos positivos (FP) y verdaderos positivos (VP) para distintos puntos de corte. ***En pocas palabras, ROC es un parámetro que permite evaluar la bondad de una prueba diagnóstica.*** Para ello se debe calcular el área bajo la curva (AUC) que posee un valor entre 0.5 y 1: donde 1 representa un valor diagnóstico perfecto y 0.5 representa una prueba diagnóstica sin capacidad discriminatoria (Cerde & Cifuentes, 2012).

La Figura 3 muestra a modo de ejemplo dos situaciones de análisis de la curva ROC: a la izquierda se encuentra el histograma de frecuencia normalizada de los VP y FP y a la derecha su respectiva curva ROC. La imagen 3A representa un histograma que no tiene mayor sobreposición entre los VP y FP y luego al analizar la curva ROC, como consecuencia se obtiene que el $AUC = 0.999$, un valor muy cercano a 1, indicando así que el método de diagnóstico funciona casi a la perfección. Por el contrario, en la imagen 3B, se percibe una sobreposición entre los VP y FP en la región encerrada, donde la tasa de verdaderos o falsos positivos se encuentra entre 0.8 y 1; de ahí que, al analizar la curva ROC se obtiene un valor $AUC = 0.71$, lo que significa que existen FP que el método los clasifica como VP, por lo tanto, en este caso, la prueba diagnóstica tiene un margen de error que le impide discriminar correctamente los datos.

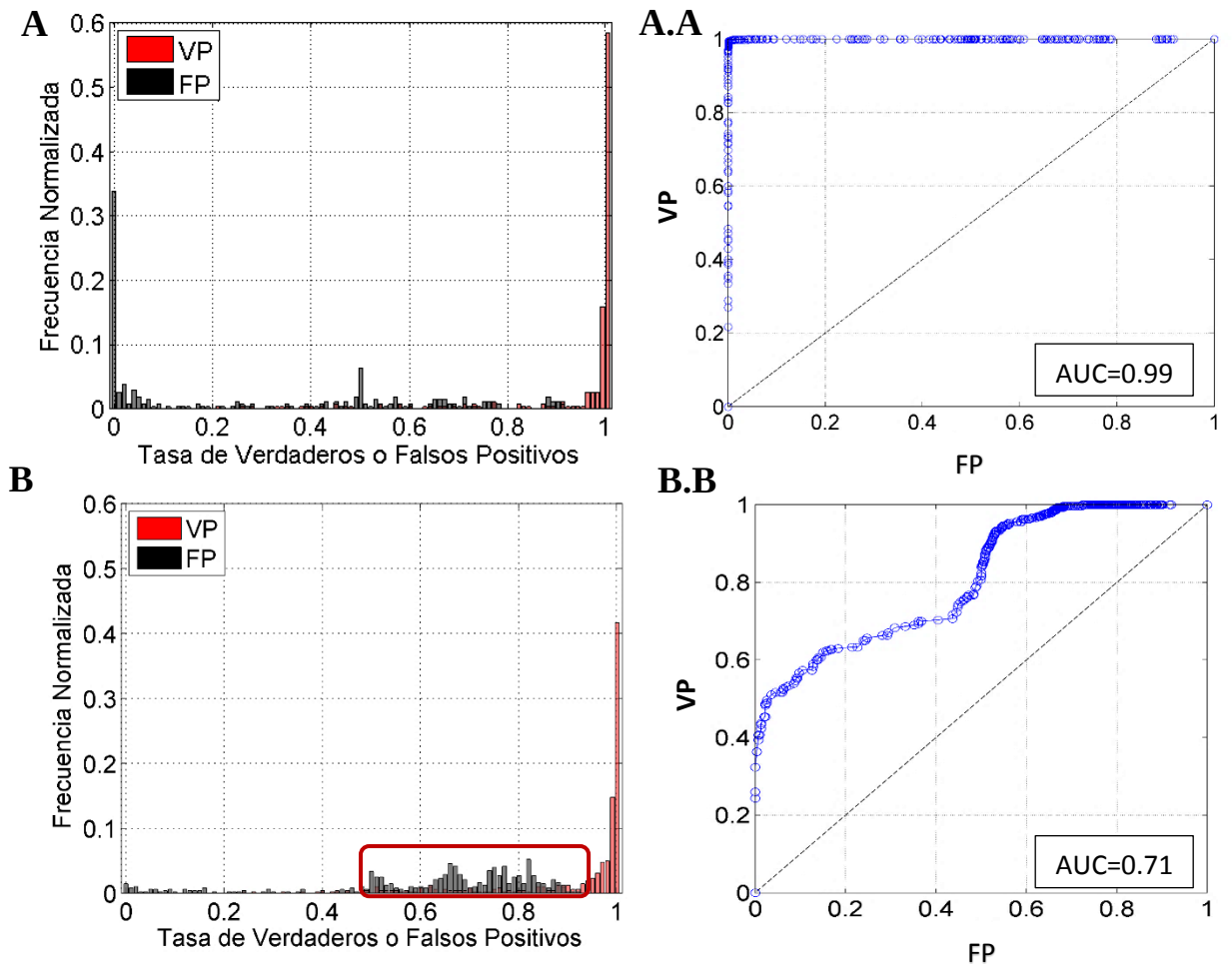


Figura 3: AUC de la curva ROC: *Izquierda:* Histograma sin superposición de la tasa de VP y FP de la distribución de frecuencia normalizada de las células obtenidas del *raster* de ensamblajes sintéticas ($n=300$). *Derecha:* Curva ROC de VP y FP. **A)** Sin superposición de VP y FP; **A.A)** Curva ROC con $AUC=0.99$; **B)** Con superposición de VP y FP (región encerrada); **B.B)** Curva ROC con $AUC=0.71$. VP: Verdaderos positivos y FP: falsos positivos.

3 RESULTADOS

Para verificar si el método de *clustering* propuesto entrega resultados confiables al momento de detectar ensamblajes, se realizaron evaluaciones utilizando datos simulados a través de la generación de conjuntos de *raster* de ensamblajes sintéticos. Para cada evaluación se realizaron modificaciones de las siguientes variables:

- i) El número de ensamblajes ingresadas ($1 < as < 40$).
- ii) El tamaño de la ensamblaje ($1 < n < 100$).
- iii) Los tiempos de activación de las ensamblajes.
- iv) La distribución de tasas de disparo (“fr” por sus siglas en inglés) de las células artificiales para 3 valores diferentes: $fr = 0.05$, $fr = 0.1$ y $fr = 0.2$.
- v) El valor de d_c ($0.01 < d_c < 0.07$).

3.1 Creación del *raster* de ensamblajes sintéticos y *clustering*:

La Figura 4 muestra a modo de ejemplo cómo se definió un *raster* con 3 ensamblajes sintéticos, en donde cada una se encuentra representada con los colores rojo, verde y naranja, respectivamente. Para ello se crearon dos matrices: la matriz **A** que indica qué células son los miembros de las ensamblajes, y la matriz **B** que define los tiempos de activación de las ensamblajes; en ambas matrices se ingresaron aleatoriamente los índices de valores 1 y 0, los cuales indican actividad e inactividad respectivamente; tanto para las células sintéticas, como también para los tiempos de activación de las ensamblajes. Luego se superpusieron ambas matrices, generando una nueva matriz **C** que caracteriza finalmente la matriz binaria de ensamblajes sintéticos, la que recibe el nombre de “*raster* de ensamblajes sintéticos”. En la parte inferior de esta figura, se observa la imagen obtenida a partir de la matriz **C**, la que muestra el comportamiento de cada ensamblaje en el tiempo; dicho de otra manera, representa el tamaño de la ensamblaje, así como también sus tiempos de activación. Cabe notar que el algoritmo es flexible ante la posibilidad de que una célula pertenezca a más de una ensamblaje, pero es inflexible ante la condición de que dos ensamblajes posean los mismos tiempos de activación.

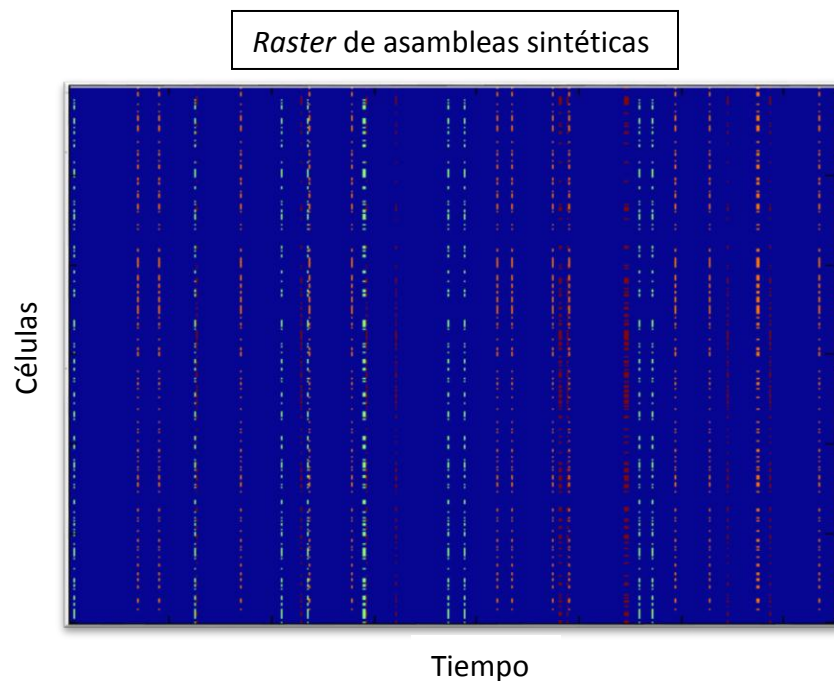
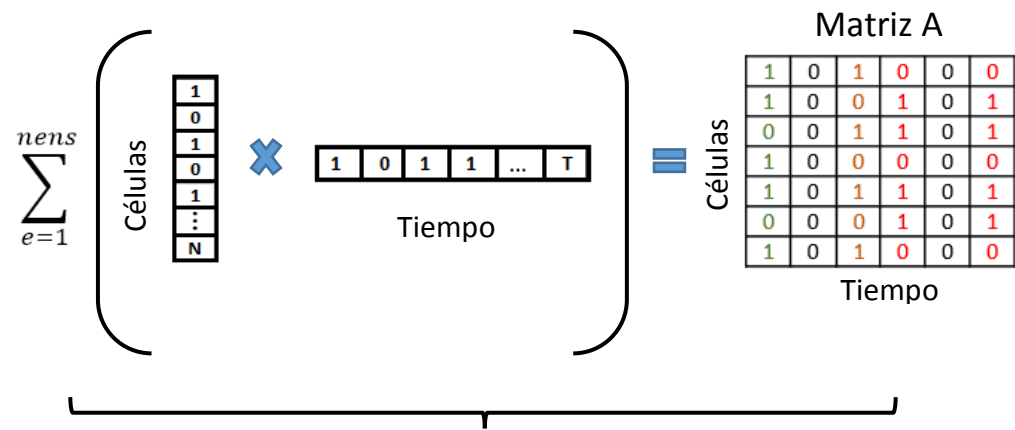


Figura 4: Representación del raster de ensamblaje sintéticas: *Arriba:* izquierda: producto entre vectores que representan la actividad de las células y tiempo de activación de la ensamblaje, lo que genera la actividad para una ensamblaje, esta operación es repetida hasta obtener la cantidad de ensamblajes deseada ($nens$) Derecha: Matriz A de ensamblajes sintéticas con un total de 3 ensamblajes representados en rojo, verde y naranja; en donde 1 indica que la célula estuvo activa y 0 que estuvo inactiva. Cabe destacar que las ensamblajes no pueden tener el mismo tiempo de activación. Abajo: imagen de la actividad temporal de las 3 ensamblajes obtenidas a partir de la matriz A.

Para simular un *raster* real, se corrompe el *raster* de ensamblajes sintéticos agregando o quitando células hasta que se obtenga la tasa de disparo deseada. Para el análisis del método, se utilizaron 3 distribuciones de tasas de disparo distintas que simulan tasas de disparos reales ($fr = 0.05$, $fr = 0.1$ y $fr = 0.2$), lo cual se puede observar en la Figura 5 donde se muestra cómo varía el *raster* de ensamblajes dependiendo de la actividad poblacional requerida.

En la Figura 5A se presenta un *raster* sin ruido de 300 células y con 3 ensamblajes en la que se distingue claramente la estructura y actividad de cada ensamblaje en el tiempo. Luego, al analizar el *raster* con ruido (Figura 5B) se percibe que la estructura de la ensamblaje cambia cuando se varía la tasa de disparo, por un lado, para $fr = 0.05$ no es posible ver con claridad las ensamblajes, sino que pareciera ser que están escondidas dentro del ruido, consecuencia de mantener una tasa de disparo baja, lo cual hace muy probable que al momento de ingresar el ruido se remuevan células que pertenezcan a las ensamblajes, y por consiguiente, éstas tenderían a disminuir su tamaño y a perder su estructura o forma original. Por el otro, para tasas de disparo altas es poco probable que las células removidas y/o agregadas al *raster* pertenezcan a la ensamblaje, lo que ayudaría a que éstas tiendan a mantener su estructura original, y es por lo que al momento de observar el *raster* con alta actividad, se puedan distinguir claramente dónde se encuentran las ensamblajes.

También se pueden observar diferencias en la caída de distribución de probabilidad de las tasas de disparo presentados en la Figura 5C, en los que se puede ver que mientras menor sea la tasa de disparo, menos representadas están las tasas de disparo altas y *viceversa*.

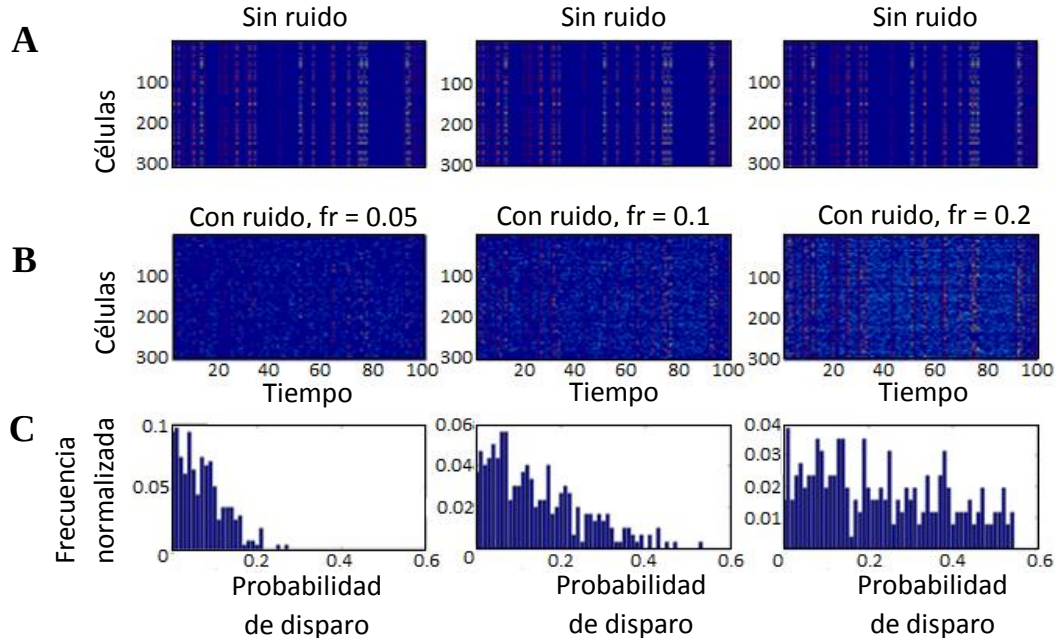


Figura 5: *Raster* de ensamblas sintéticas para diferentes tasas de disparo: **A)** Imagen de raster de ensamblas con $n = 300$, sin ruido; **B)** imagen del *raster* de ensamblas sintéticas para 3 tasas de disparos, *izquierda* $fr = 0.05$, *medio* $fr = 0.1$ y *derecha* $fr = 0.2$; **C)** histograma de frecuencia normalizada de la probabilidad de disparo de las células de acuerdo a su tasa de disparo.

Posteriormente, se aplica PCA al *raster* de ensamblas sintéticas con ruido para reducir su dimensionalidad de n (células) a $n_{pc} = 6$, y de esta manera es posible extraer el conjunto de datos que capturan los patrones poblacionales más salientes. Al graficar los valores obtenidos a partir del PCA, se observan 3 nubes de puntos con colores (rojo, verde y naranja), los que representan los *clusters* de las 3 ensamblas ingresadas en un inicio (Figura 6B).

Con el objetivo de detectar automáticamente los centroides de los *cluster*, se calcula la distancia euclidiana entre los puntos en el espacio definido por los 6 primeros componentes principales. Luego, usando el método de *clustering* de Rodríguez y Laio se caracteriza a cada punto con dos variables: i) la densidad " ρ " y ii) la distancia mínima al siguiente punto con mayor densidad " δ ". Por lo tanto, los

centroides quedan representados por aquellos puntos en los cuales tanto ρ como δ obtienen valores relativamente altos en relación al resto de puntos que conforman los datos. En el gráfico de la Figura 6C es posible distinguir 3 puntos en la parte superior que se encuentran muy separados del resto de la nube de puntos, los que simbolizan los 3 centroides de las ensamblajes ingresadas en un inicio, y de esta manera es posible determinar que la cantidad de ensamblajes encontradas corresponden a la cantidad de centroides que se encuentran apartados del resto.

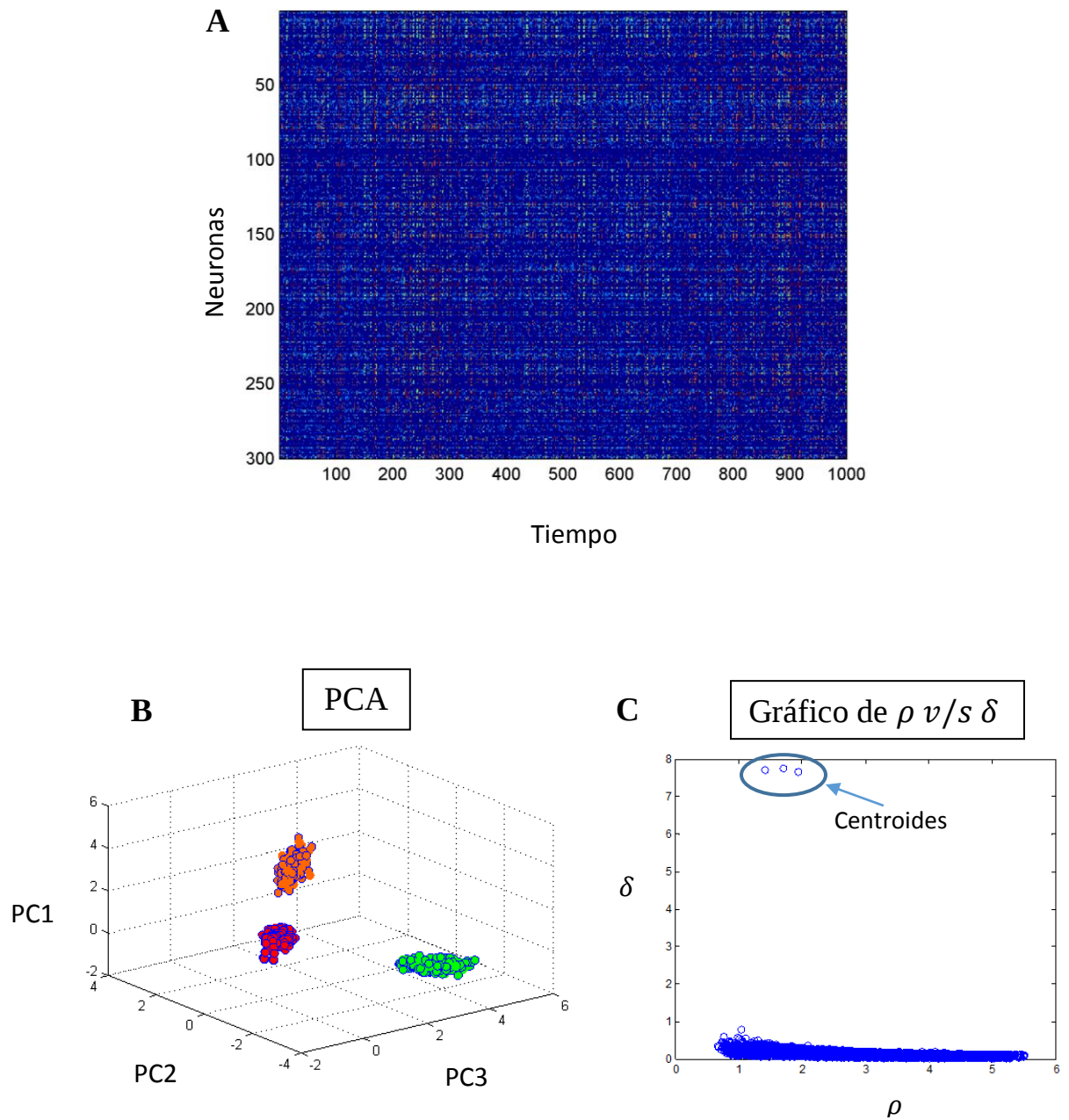


Figura 6: Algoritmo de *clustering*: **A)** *Raster* sintético con 3 asambleas representadas con diferentes colores; **B)** Análisis de componentes principales, cada nube de puntos simboliza a una asamblea representada en A (no se muestran los puntos que no pertenecen a ningún cluster); **C)** gráfico de densidad v/s distancia. Los 3 puntos superiores son los centroides que representan las asambleas.

3.2 Buscando el mejor valor de “ d_c ”

3.2.1 Identificando el número de ensamblajes

Para identificar si el algoritmo encontraba el número de ensamblajes ingresadas, se calculó la diferencia entre las ensamblajes ingresadas y las encontradas.

$$\Delta As = As_{out} - As_{in}$$

Los siguientes gráficos representan el resultado obtenido para el total de ensamblajes encontradas siguiendo las siguientes condiciones:

- Si $As_{out} < As_{in}$, se encuentran menos ensamblajes de las ingresadas, lo que es representado por la región azul.
- Si $As_{out} > As_{in}$, se encuentran más ensamblajes de las ingresadas, representado en color rojo.
- Si $As_{out} = As_{in}$, se encuentra exactamente la misma cantidad de ensamblajes ingresadas, lo que se representa en color blanco.

Para la tasa de disparo más baja ($fr = 0.05$) presentada en la Figura 7A se observa que para valores bajos de d_c , los gráficos muestran una gran área roja, indicando que el método encuentra más ensamblajes de las ingresadas, pero a medida que su valor aumenta, se distingue un incremento en el área de la región azul, cuando el número de células es superior a 40; lo que denota que la cantidad de ensamblajes recuperadas es menor a las insertadas. En cuanto a la región blanca, que es la que indica que se recuperaron las ensamblajes con exactitud, se puede determinar que para valores de d_c iguales a 0.1 y 0.2, el método es capaz de recuperar las ensamblajes ingresadas sólo cuando el número de ensamblajes se encuentra en un rango $5 < as < 10$ y el número de células es igual o superior a 20. Luego para los valores de $d_c \geq 0.04$, se observa que la región blanca va acotando su largo cuando la cantidad de células aumenta, lo que indica que para valores altos de d_c , el método recupera las ensamblajes cuando la cantidad de células se encuentra aproximadamente entre valores $20 \leq n \leq 40$. Por otro lado, es de notar que para valores entre $0.01 \leq d_c \leq 0.04$, existe una región que tiende al blanco cuando el número de células se mantiene constante en 20 y que es

independiente del aumento de ensamblas, lo que denota que para ese tamaño de ensamblas su detección no se ve alterada. Pese a que para esta tasa de disparo se evidencia una recuperación de ensamblas, estos resultados, no obstante, sólo se obtienen para un rango muy acotado de variables, por lo que se puede inferir que para tasas de disparo baja, el método no es capaz de detectar las ensamblas ingresadas.

Luego, para la tasa de disparo de 0.1 representada en la Figura 7B, se observa que al igual que la tasa de disparo anterior, la probabilidad de recuperar las ensamblas ingresadas disminuye conforme aumentan el valor de d_c , la cantidad de células y las ensamblas; encontrando mucho menos ensamblas que las previamente definidas. Por el contrario, en todos los valores de d_c , el método encontró una mayor cantidad de ensamblas cuando el número de células que la componen es igual o inferior a 20.

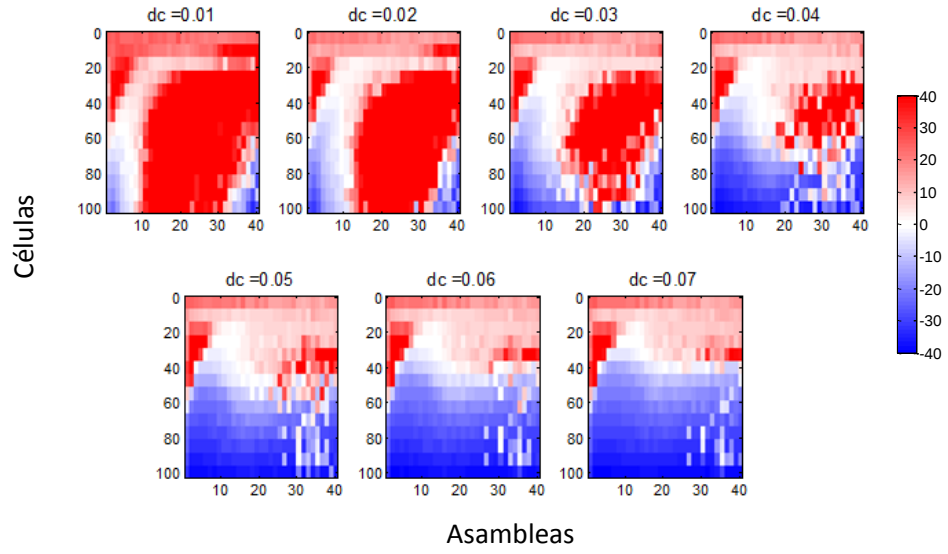
Además, para los primeros 4 valores de d_c ($0.01 \leq d_c \leq 0.04$) también es posible observar una región roja cuando el número de ensamblas ingresadas se encuentra por sobre un valor igual 25, pero en esta región se observa que su área disminuye al aumentar d_c . De igual manera, también se puede distinguir que, para esta tasa de disparo, existe un rango mayor entre los valores de las variables que permiten recuperar las ensamblas, sobre todo si se analizan los valores de d_c entre 0.01 y 0.03; en los que para un número de neuronas superior a 20 y un número de ensamblas no mayor a 30 es posible distinguir una región blanca de mayor área que la analizada en la tasa de disparo anterior. Lo cual significa que, en este rango, las ensamblas pueden ser recuperadas en su totalidad, ya que se obtiene que $As_{out} = As_{in}$, siendo en este caso el $d_c = 0.01$ el que permite obtener el mejor resultado.

Ahora bien, en la tasa de disparo de $fr = 0.2$ presentado en la Figura 7C se puede inferir que el método es capaz de recuperar las ensamblas originales en todas las condiciones, para valores en donde d_c se encuentra entre $0.01 \leq d_c \leq 0.02$, fallando sólo cuando la cantidad de células aumenta y la cantidad de ensamblas se mantiene en un valor bajo ($as > 10$ para $d_c=0.01$, $as > 15$ para $d_c=0.02$). Al igual que las tasas de disparo anteriores, se observa que el área de la región azul comienza a aumentar junto con el valor de d_c , indicando que para valores altos de d_c y para

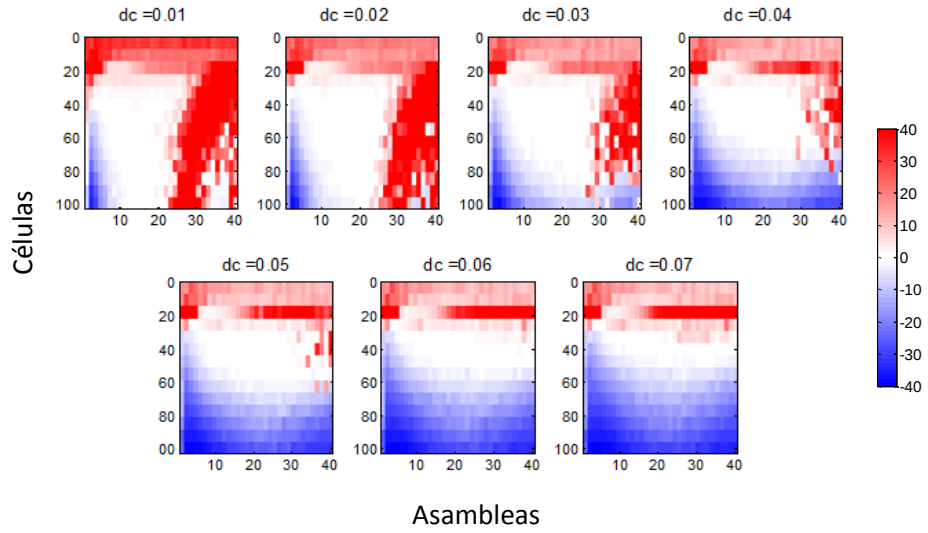
cualquier tasa de disparo, el método encuentra menos ensamblajes que los ingresados cuando la cantidad de células y ensamblajes va en aumento.

En resumen, se puede concluir que los mejores valores de d_c que permiten recuperar los ensamblajes son 0.01 y 0.02, sobre todo cuando la tasa de disparo varía entre 0.1 y 0.2. Sin embargo, es de notar, que cuando la cantidad de ensamblajes es inferior a 10, se distingue una relación inversa entre el aumento de ensamblajes y número de células, es decir, a medida que aumenta el tamaño de la ensamblaje, es menos probable su detección.

A) Tasa de disparo: $fr = 0.05$



B) Tasa de disparo: $fr = 0.1$



C) Tasa de disparo: $fr = 0.2$

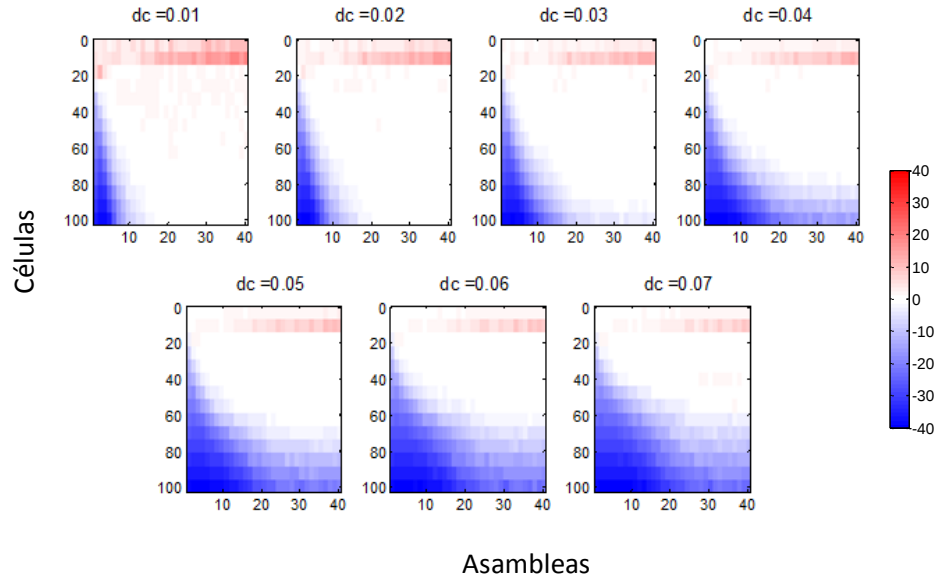


Figura 7: Detectando ensamblas: diferencia entre ensamblas ingresadas y encontradas para 3 valores de tasas de disparo: A) $fr = 0.05$, B) $fr = 0.1$ y C) $fr = 0.2$. En cada uno de los valores de fr se cambiaron variables tales como número de ensamblas y cantidad de células. Los colores rojo y azul indican que la cantidad de ensamblas detectadas fue mayor y menor, respectivamente; el color blanco denota que las ensamblas ingresadas fueron recuperadas con exactitud.

3.2.2 Identificando los tiempos de activación

A partir de los gráficos de la Figura 8, se puede observar que para todos los valores de d_c y tasas de disparo, existe una región azul cuando la cantidad de células que conforman la asamblea es $n < 8$, lo que sugiere que es imposible detectar los tiempos de activación en este rango, ya que el valor del $AUC = 0$. Por lo tanto, el método no tiene capacidad para diferenciar entre VP de los FP. Asimismo, se observa también que el método sólo puede recuperar los tiempos de activación de las asambleas sintéticas cuando la cantidad de células que la conforman es superior a $n < 20$ (región roja), ya que para este rango el $AUC \sim 1$, indicando así que los tiempos de activación de las asambleas ingresadas con las recuperadas coinciden perfectamente. Además, también se infiere que la probabilidad de recuperar los tiempos de activación disminuye conforme aumentan tanto el valor de la distancia d_c , como la cantidad de asambleas sintéticas y su tamaño.

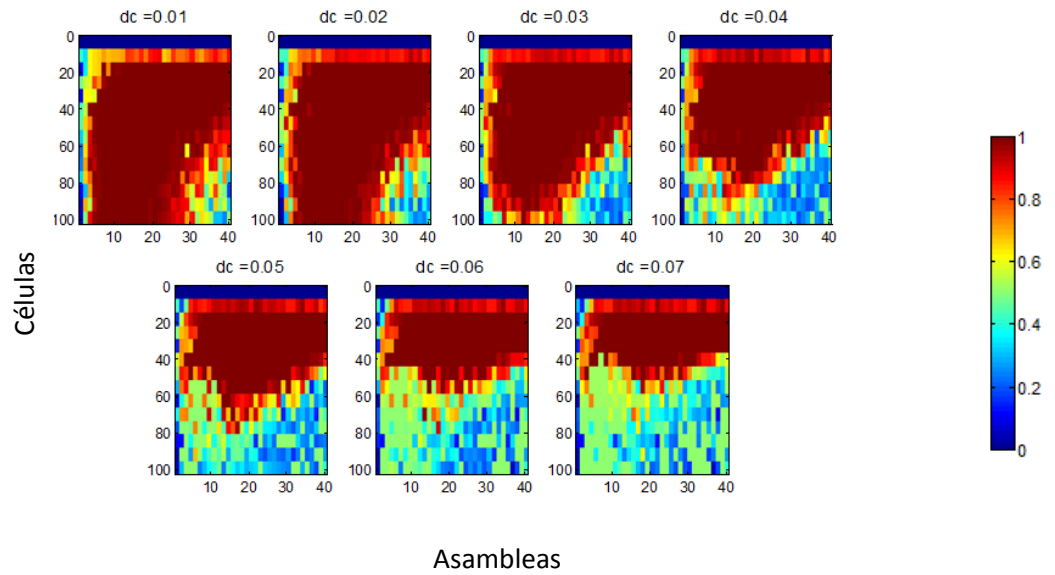
Al realizar el análisis para cada tasa de disparo por separado, se puede observar que para la tasa de disparo más baja de $fr = 0.05$, y valores de d_c altos, se pueden recuperar los tiempos de activación cuando la cantidad de asambleas es superior a 10, y el número de células que la conforman se mantiene en un rango entre $20 < n < 40$, manteniéndose así invariante al aumento de asambleas. Los mejores resultados para identificar los tiempos de activación se obtienen ante valores bajos de d_c , específicamente para $d_c = 0.01$ y $d_c = 0.02$, en los que se puede ver una gran región roja. El evento de color rojo indica que se recuperaron los tiempos de activación en su totalidad; ahora bien, esto sólo es válido para un rango de asambleas $5 < as < 30$ (ver figura 8A).

En relación a las tasas de disparo iguales a $fr = 0.1$ y $fr = 0.2$, los mejores resultados son obtenidos para los 3 primeros valores de d_c , en los cuales el área en que $AUC = 1$ -representada en rojo, tal como arriba se indicó- es mayor en relación a los d_c restantes. Ahora bien, cabe destacar para una cantidad de asambleas inferior a 10, la probabilidad de recuperar los tiempos de activación disminuye al aumentar el número de células; además para un $d_c = 0.03$ y $fr = 0.1$, esta probabilidad también disminuye cuando la cantidad de asambleas es cercana a 40.

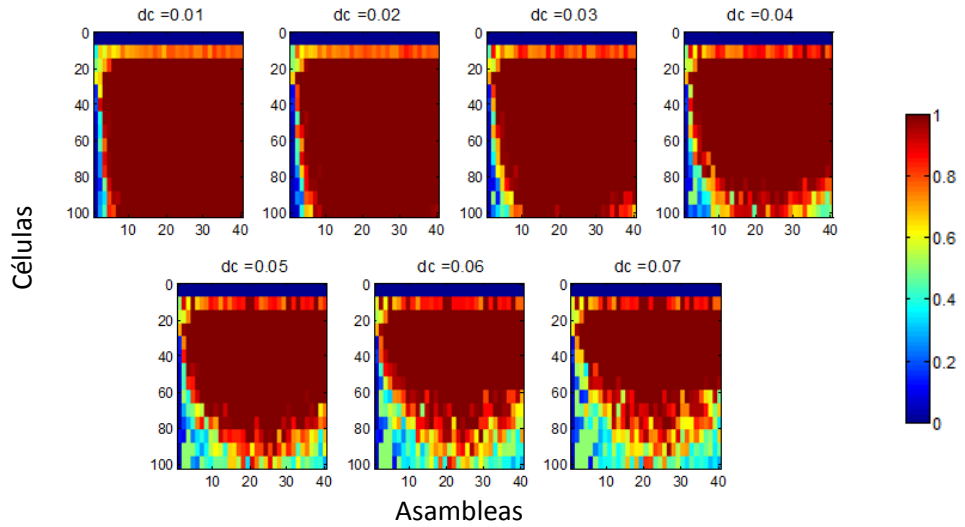
En consecuencia, se puede inferir que los valores óptimos de d_c que permiten recuperar los tiempos de activación de ensamblajes son los $d_c = 0.01$ y $d_c = 0.02$; pese a que no existe una gran diferencia entre las tasas de disparo $fr = 0.1$ y $fr = 0.2$. Para estos valores, se puede observar que ante la tasa de disparo inferior ($fr = 0.1$), existe una mayor probabilidad de recuperar los tiempos de activación cuando $as < 10$ y $n > 20$.

Por último, al comparar los gráficos de tiempos de activación con los de recuperación de ensamblajes, se puede observar que efectivamente los tiempos de activación son irrecuperables al rescatarse menos ensamblajes que los ingresadas, ya que si extrapolamos ambos gráficos se observa que la región azul del gráfico de recuperación de ensamblajes coincide con la región en la que los tiempos de activación son incapaces de ser recuperados.

A) Tasa de disparo: $Fr = 0.05$



B) Tasa de disparo: $Fr = 0.1$



C)Tasa de disparo: Fr= 0.2

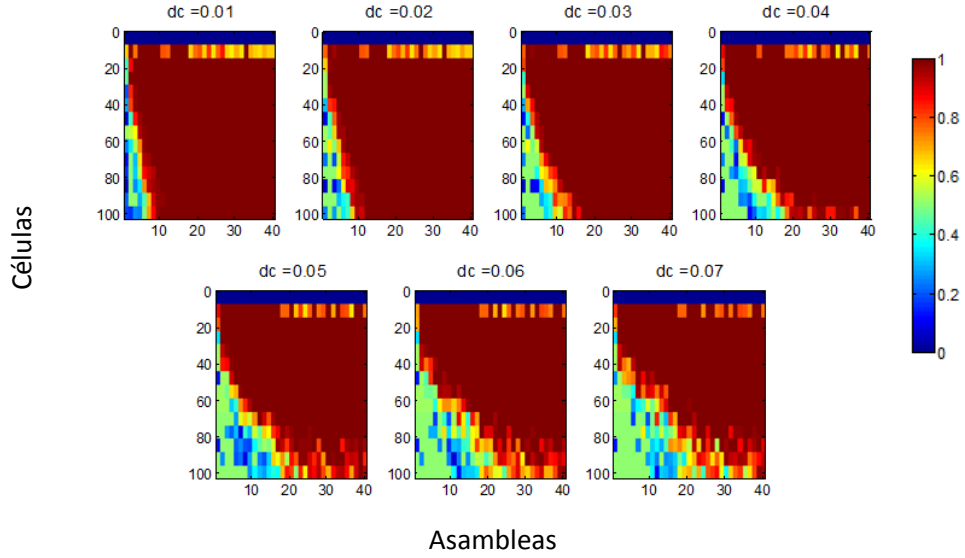


Figura 8: Detección de los tiempos de activación: AUC de la curva ROC: para siete valores distintos de d_c : $d_c = 0.01$, $d_c = 0.02$, $d_c = 0.03$, $d_c = 0.04$, $d_c = 0.05$, $d_c = 0.06$, $d_c = 0.07$; con un número de células entre $0 \leq n \leq 100$; con una cantidad de asambleas entre $0 \leq as \leq 40$; y valores de tasas de disparo: **A)** $fr=0.05$, **B)** $fr = 0.1$ y **C)** $fr = 0.2$.

3.2.3 Identificando las *core cells*.

Al igual que en la Figura 8, nuevamente se observa en la Figura 9 una región azul cuando el tamaño de la asamblea es pequeño ($n < 8$). Por lo tanto, se puede inferir que el método no puede recuperar ni los tiempos de activación ni tampoco las *core cells*; cuando las asambleas están compuestas de pocas células, lo cual puede ser consecuencia de que las células estén escondidas dentro del mismo ruido y por ende no puedan ser detectadas.

En cuanto a los 3 valores de tasas de disparo, ($fr = 0.05$, $fr = 0.1$ y $fr = 0.2$), la Figura 9 muestra que, a medida que el umbral de corte se hace más exigente, disminuye la probabilidad de recuperar las *core cells*, principalmente cuando las células y asambleas van en aumento. Lo cual ocurre, en especial en las regiones en que el número de células ingresadas es superior a 80 y la cantidad de asambleas se aproxima a 40. Ahora bien, cabe destacar, que para este rango el valor de AUC es superior a 0.96, lo cual significa que si bien, las *core cells* no son detectadas con exactitud, su recuperación es bastante precisa.

En relación al umbral de corte del percentil 99 ($p < 0.01$), se advierte que cuando la cantidad de células y asambleas es baja ($n < 40$ y $a < 5$), también baja la probabilidad de recuperar las *core cells*, con un valor de $AUC < 0.92$, resultado que se observa para las 3 tasas de disparo. En definitiva, se observa que independiente del aumento del percentil y de la tasa de disparo, el método puede recuperar las *core cells* con alta precisión, teniendo en todos los casos valores de $AUC \approx 1$.

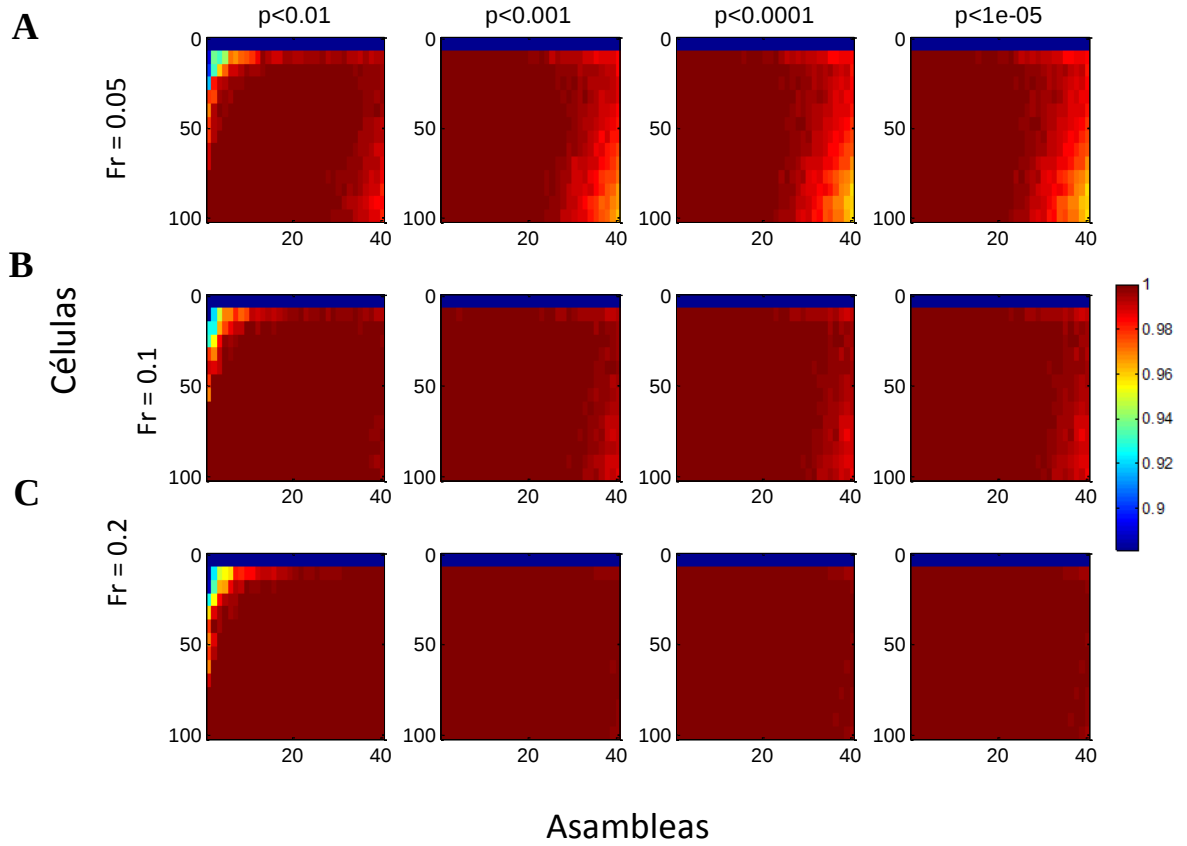


Figura 9: Detección de las *core cells*: AUC de la curva ROC para detectar *core cells* para 4 umbrales distintos: $p < 0.01$, $p < 0.001$, $p < 0.0001$, $p < 0.00005$; para un número de células entre $0 \leq n \leq 100$; con una cantidad de asambleas entre $0 \leq as \leq 40$; y 3 valores de tasas de disparo: **A)** $fr=0.05$, **B)** $fr = 0.1$ y **C)** $fr = 0.2$.

3.2 Detectando ensamblas neuronales en retina de *Octodon Degus*.

Con el objetivo de detectar si efectivamente existen ensamblas neuronales en retina, una vez validado el método con datos sintéticos, se realizó la evaluación del método sobre datos reales en células ganglionares de retina (CGR) *in vitro*, perteneciente al roedor diurno denominado *Octodon degus* la que fue estimulada con 10 pulsos de luz repetidos 20 veces, a una frecuencia de 100 ms, y con una intensidad luminosa igual a $1.94 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ y desviación estándar de $0.02 \mu\text{W}/\text{cm}^2$.

En la Figura 10 se presenta esquemáticamente la implementación del método en los datos de retina, la imagen 10A muestra el *raster* de la actividad neuronal a lo largo del tiempo para 829 neuronas. En la imagen 10B se observa el gráfico del PCA que permite extraer los vectores propios que presentan la mejor varianza de los datos obtenido a partir del *raster*. En este gráfico se observan varias nubes de puntos de diferentes colores que representan a los *cluster* que forman a las ensamblas neuronales. Pero se debe considerar que uno de esos *cluster* corresponde a los puntos que no tienen mayor semejanza entre sí, por lo que no pudieron ser asignados a ningún *cluster* anterior, de modo que fueron agrupados entre ellos recibiendo el nombre de “*Cluster de ruido*”. Por último, en la imagen 10C se vislumbran 10 puntos encerrados en cuadrados rojos que reflejan a los puntos con altos valores de ρ y δ que superan al umbral (curva *power law* azul), los que representan a centroides de los *clusters*, indicando, así como primera instancia, que existen 10 ensamblas, ahora bien, se debe tener presente que dentro de ese valor también se encuentran los *cluster* de ruido.

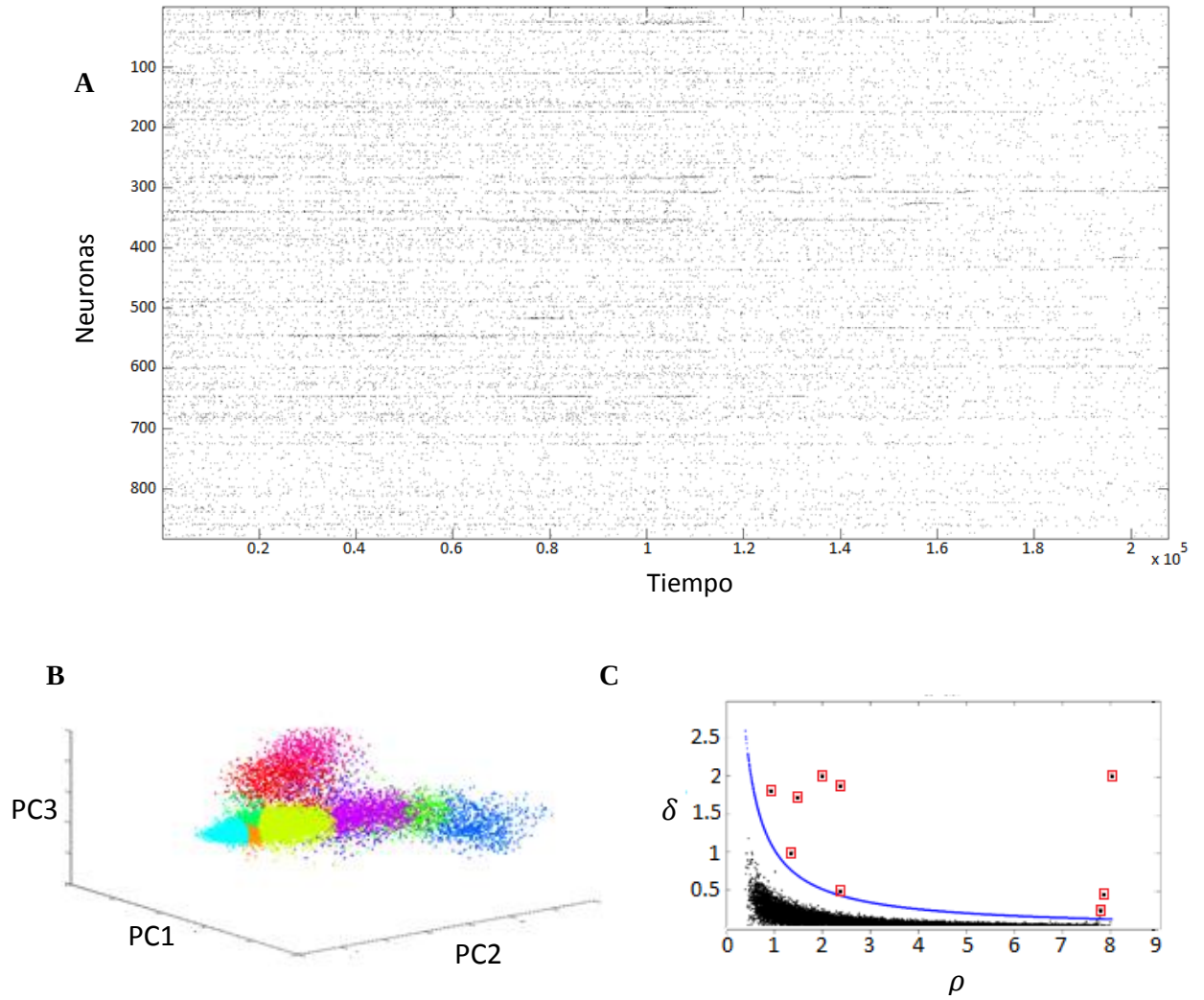


Figura 10: Detectando Asambleas neuronales en retina de degus: A) Raster de actividad de las células en el tiempo, B) gráfico de PCA en donde cada *Cluster* está representado por diferente color C) Gráfico de decisión de ρ *v/s* δ , los puntos rojos que se encuentran sobre el umbral de corte (curva *Power law* azul) corresponden a los centroides de los *clusters*.

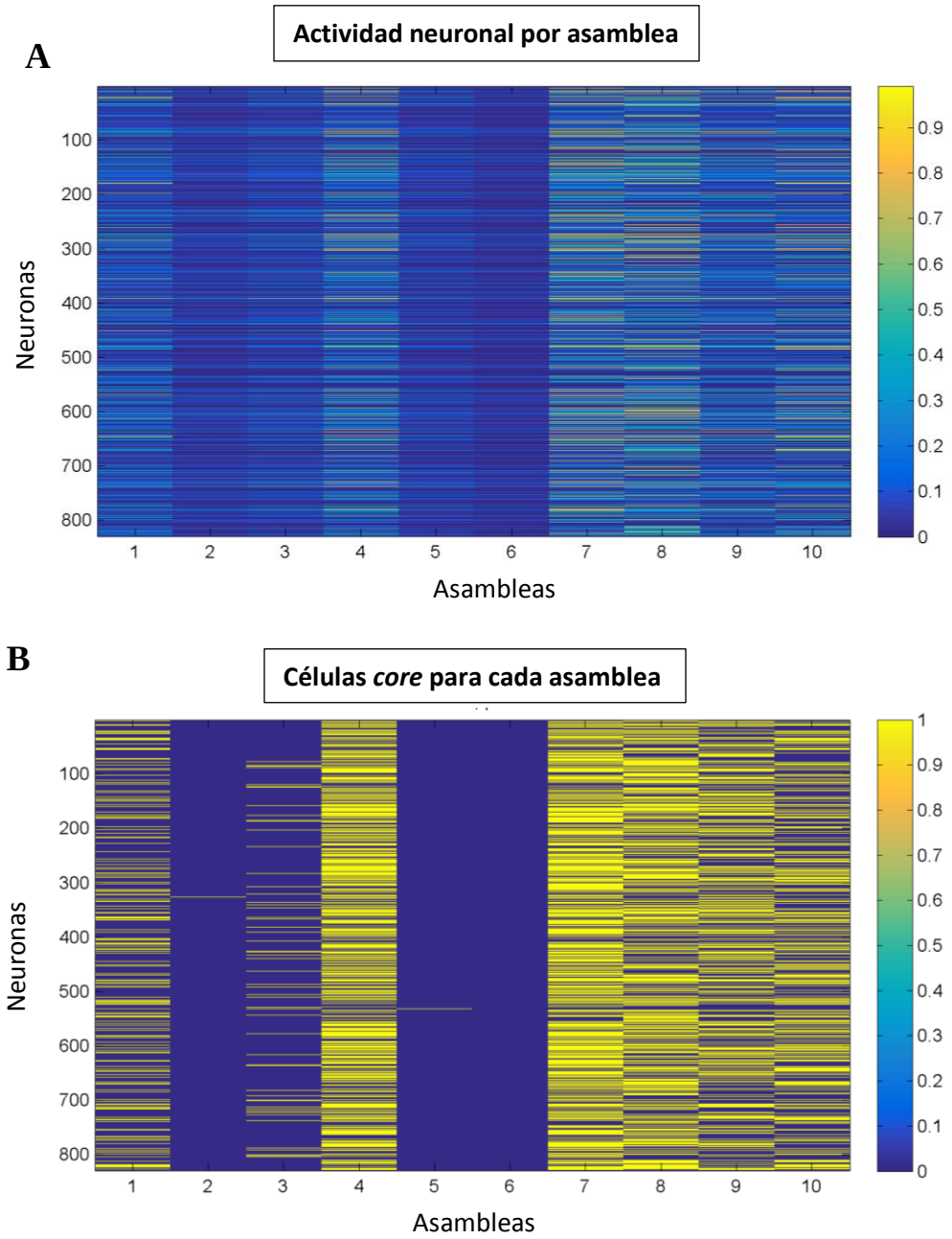


Figura 11: Detectando la actividad neuronal de cada asamblea: A) Actividad de cada neurona por asamblea para un total de 10 asambleas y 829 neuronas; **B)** En amarillo se muestran las *core cells* de cada asamblea detectadas con un umbral de $p < 0.01$.

Por lo tanto, con el objetivo de discriminar a los *cluster* de ruidos de los *cluster* de asambleas, una vez detectadas las 10 asambleas, se analizó la actividad neuronal en cada una siguiendo la hipótesis de que los *cluster* ruidosos no deberían poseer *core cells*, es decir, no debería existir co-activación neuronal significativa (distinta al azar) entre las células que lo componen; y de existir, sólo podría darse para una pequeña cantidad de neuronas. Además, también se debe considerar que, si el *cluster* es ruidoso, existiría una baja probabilidad de que las neuronas que lo conforman tengan alta actividad a lo largo del tiempo ya que las neuronas que lo componen sólo se activarían por azar y no necesariamente por ser reclutadas por el estímulo. Si se observa la Figura 11A, en la cual se muestra la actividad neuronal para cada asamblea, se puede distinguir que la asamblea 2, 5 y 6 tienen una actividad neuronal muy baja en relación a las demás, sugiriendo que esos *cluster* (o asambleas) corresponden a *clusters* de ruido. Luego para verificar finalmente la identidad de los *clusters* se identificaron las células *core* en cada uno y se eliminaron aquellos *clusters* que no presentaban *core cells*, o en su defecto, que estaban formados por pocas de ellas; cómo es posible distinguir en la Figura 11B, en que las asambleas 2 y 5 sólo están compuesta sólo por 1 *core cells* y la asamblea 6 no tiene ninguna. Es por ello que finalmente se determina que esas asambleas pertenecen a *cluster* de ruido detectados por el método y son eliminadas para análisis posteriores, obteniendo así, por último, un total de 6 asambleas.

La Figura 12 representa principalmente la activación temporal de cada asamblea. En ella se pueden distinguir barras verticales de color gris, lo cual indica oscuridad (OFF); y blanco indica luz (ON). La Figura 12A representa al *raster* de la actividad neuronal de las CGR en el tiempo. La Figura 12B muestra la actividad temporal de las 6 asambleas encontradas. En esta figura, se puede distinguir que cada asamblea tiene un comportamiento distinto, por ejemplo, la asamblea 1 y 6 presentan actividad de manera espontánea, es decir, se encuentran activas antes de generarse los pulsos de luz. La diferencia entre ambas radica en que la asamblea 1 muestra mucha actividad en un inicio sin un mayor orden, pero su actividad se ordena al ser sometida al estímulo. Por el contrario, la asamblea 6 presenta poca actividad en un comienzo, pero al ser sometida a los pulsos de luz, su actividad incrementa.

Por un lado, también se observa que existen ensamblas que sólo se activan cuando el pulso de luz está apagado (estímulo OFF), como es el caso de la ensambla 2 y 3, y, por otro lado, existen ensamblas que sólo se activan cuando se presenta un estímulo ON, como la ensambla 5, sugiriendo de esta manera que la activación de la ensambla está condicionada por el estímulo.

La Figura 12C representa el promedio de la actividad poblacional de las CGR. En ella se puede observar que existe un aumento de la actividad cuando se generan pulsos ON (barra blanca) y OFF (barra gris)

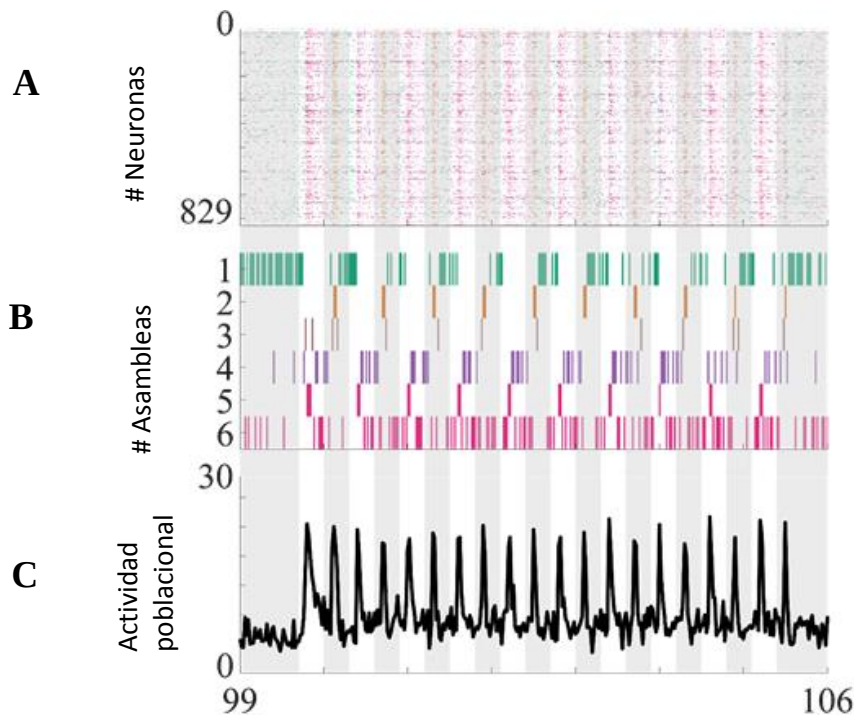


Figura 12: Asambleas en C Tiempo (s) ;us: **A)** Registro de la actividad neuronal ($n = 829$) de retina coloreado de acuerdo a la activación de cada ensambla; **B)** tiempos de activación de las ensamblas encontradas en retina de degus, para un total de 6 ensamblas; **C)** Promedio de la actividad de las células reclutadas en los pulsos ON OFF.

4 DISCUSIÓN

El creciente desarrollo tecnológico relacionado a registros de muchas neuronas en paralelo requiere de nuevos métodos computacionales para analizar a las poblaciones neuronales como un todo. En este contexto, el concepto de asamblea neuronal es adecuado en relación a registrar la actividad de una red neuronal de manera simultánea, y que captura los componentes neuronales que participan en dicha actividad. En este trabajo se propuso y desarrolló un método que cumple con la definición mínima de asamblea neuronal, posee pocos parámetros para configurar y es computacionalmente eficiente. Este método fue validado con datos sintéticos, en los cuales se obtuvo un muy buen rendimiento. Finalmente, este método es validado en datos de retina bajo un estímulo simple, obteniendo la separación de la actividad poblacional en al menos 3 sub-poblaciones funcionales basados en su afinidad al estímulo.

El *raster* de asambleas sintéticas fue creado siguiendo principalmente dos condiciones, la primera es que una célula puede estar activa en más de una asamblea, y la segunda, y la más importante es que una asamblea no puede compartir el mismo tiempo de activación con otra, es decir, cada asamblea debe activarse en distinto *bin*. (Carrillo-Reid, 2015). De ahí que se obtengan resultados variados para las distintas tasas de disparo al momento de ingresar ruido al *raster*, ya que, para mantener la tasa de disparo deseada, es estrictamente necesario considerar que al aumentar la cantidad de asambleas dentro del *raster* y el número de células que la conforman, debe disminuir la frecuencia de ocurrencia de cada asamblea. Dicho de otra manera, es esencial que la probabilidad de que las asambleas aparezcan se vea reducida conforme aumenta su número y tamaño. Si no se considera ese factor, el aumentar la cantidad de asambleas puede ocasionar un incremento en la tasa de disparo de las neuronas sintéticas dentro del *raster*, debido a que éstas tendrán más actividad en el tiempo.

Es por esto por lo que para la tasa de disparo más baja se encuentran resultados extremos, ya que, para mantener precisamente esta tasa de disparo, el algoritmo remueve células que son parte de la asamblea provocando que éstas pierdan su estructura. Por lo tanto, es probable que encuentre más patrones en común confundiendo y agrupando a las células de una asamblea con otras; creando asambleas nuevas y no necesariamente agrupando y detectando a las asambleas ingresadas. Por lo anterior, se cree que deben existir varios puntos altamente densos muy cercanos entre sí, y como el parámetro d_c es una medida de distancia entre un centroide y otro, al tener un bajo valor dentro de una densa nube de puntos con *clusters* incorrectamente agrupados, es muy probable que el método los identifique y clasifique como centroide de la asamblea, aunque no necesariamente correspondan a las asambleas en sí mismas. Por el contrario, al aumentar la distancia de corte d_c que diferencia un centroide de otro, posiblemente el método agrupe los centroides más cercanos entre sí, acoplando aquellos menos densos a los más densos y, por lo tanto, encuentre menos asambleas de las ingresadas al momento de clasificar y determinar la cantidad de centroides.

El aumentar la tasa de disparo permite una mayor actividad de las células. Entonces, al momento de añadir ruido al raster, es muy probable que las células removidas y/o agregadas pertenezcan al ruido y no a la asamblea, por lo que la estructura de la asamblea se mantendría intacta y por lo mismo sería más fácil que el patrón o forma de ésta se repita en el tiempo, favoreciendo así su detección y próxima clasificación como *cluster*.

Ahora bien, cabe notar que un valor $n = 20$ es un punto crítico ya que cuando el tamaño de la asamblea es inferior a éste, en todos los valores de tasas de disparo se encontraron más asambleas de las ingresadas, lo cual puede ser consecuencia de que las pocas células que conforman a las asambleas sean confundidas con ruido, provocando que el método detecte más *clusters* de los ingresados. De igual manera, cabe considerar que al aumentar la cantidad de neuronas y con ello también el tamaño de las asambleas, al ingresar pocas asambleas ($as < 10$) es probable que éstas se parezcan mucho entre sí ocasionando que el método las confunda y las clasifique

como parte del mismo *cluster*. Es por ello por lo que para todas las tasas de disparo y valores de d_c se encuentren menos asambleas que las ingresadas.

Los resultados negativos de detección de asambleas convergen con los resultados negativos para detectar los tiempos de activación de éstas, ya que se observa en ambos gráficos que en las regiones en las que se encuentran menos asambleas (regiones azules de la figura 7) coincide precisamente con la zona en la que los tiempos de activación tienen un AUC bajo. Asimismo, se obtiene un resultado similar cuando el tamaño de la asamblea es pequeño ($n < 20$), en el que el método detecta más asambleas de las ingresadas y, además, falla completamente cuando se buscan sus tiempos de activación. Estos resultados fueron totalmente esperados ya que es de suponer que, si el método encuentra asambleas distintas a las ingresadas, éstas tendrán un tiempo de activación propio, y no necesariamente el ingresado.

Si bien se analizó la detección de *clusters* aumentando el tamaño de la asamblea, en cada una de ellas existía el mismo número de células, es decir, no se consideró la posibilidad de que, por ejemplo, al ingresar 3 asambleas cada una tenga distinto tamaño, por lo que aún falta determinar cuál es la densidad mínima de componentes que debe tener un *cluster* para poder ser detectado sin problemas por el método (Rodríguez & Laio, 2014). Ya que como se pudo evidenciar, bajo ciertas condiciones el algoritmo agrupa incorrectamente a los datos, creando *clusters* inexistentes.

Para poder identificar la presencia de asambleas en retina de degú, se indagó en torno a cómo se comportan grupalmente el conjunto de CGR, analizando si efectivamente existe co-activación neuronal más allá de la que podría darse por azar al presentarse un estímulo. Los resultados sugieren que efectivamente existen grupos co-activos de neuronas en retina que puede ser clasificado como asambleas neuronales. Además, pareciera ser que éstas asambleas se encuentran organizadas dependiendo del tipo CGR que la compone, es decir, se observan asambleas que en su mayoría están compuesta por CGR ON (que responden a luz), asambleas que están formadas por CGR OFF (que responden a oscuridad), y asambleas con CGR de tipo

ON-OFF (que responden tanto a luz como a oscuridad), pero aún no se ha estudiado internamente a la asamblea para determinar el porcentaje de CGR ON, CGR OFF y CGR ON-OFF que la componen para poder generar una clasificación más precisa.

Cabe considerar también, que el análisis de las asambleas en degú, sólo se llevó a cabo para un estímulo simple basado en pulsos de luz de campo completo con una intensidad lumínica fija, por lo que los resultados obtenidos podrían estar condicionados de acuerdo al tipo de estímulo. Es por lo que para establecer realmente que las asambleas pueden clasificarse dependiendo del tipo de CGR que la componen, es necesario analizar y comparar estos resultados con estímulos más complejos, como película natura o ruido blanco. A demás estudios sugieren que las CGR pueden cambiar su preferencia al estímulo dependiendo de la intensidad de éste (Tikidjin-Hamburyan *et al*, 2014). En este sentido, una CGR que responde primeramente como tipo ON, puede responder como tipo OFF, y *viceversa*, al incremento de luz. Lo que podría sugerir que una asamblea que es clasificada como tipo OFF luego pueda cambiar a tipo ON.

En cuando al análisis de retina como una red neuronal de CGR, diversos autores han entregado evidencias de que éstas tienen una alta correlación en sus patrones de disparo, los cuales les permiten estimar características de una imagen específica y generar diferentes tareas como: i) diferenciar la luz de la oscuridad; ii) detectar objetos en movimiento y localizarlos en el espacio; iii) anticiparse al movimiento y predecirlo; iv) adaptarse a condiciones cambiantes, entre otros. (Schwartz *et al.*, 2007, Martinez-Conde *et al.*, 200, Baylor *et al.*, 1984; Schnapf *et al.*, 1990, Hosoya *et al.*, 2005 & Ölveczky *et al.*, 2007). Ahora, la organización y co-activación de las CGR al considerárselas como asambleas neuronales, de acuerdo al tipo de CGR que la compone, podría dar indicios de que cada asamblea podría corresponder a una sub red neuronal independiente dentro de una red mayor. En este sentido se sugiere que cada asamblea puede presentar una activación funcional que ayudaría a interpretar y filtrar los estímulos externos. Siguiendo esta idea, podría entenderse a la retina como una región del sistema nervioso que establece un primer

filtro de las señales visuales externas, y que luego esa información pre-filtrada es enviada hacia área superiores como corteza visual. (Montijn *et al*, 2016).

5 CONCLUSIONES

- La creación del raster de ensamblas sintéticas está condicionada de acuerdo a la tasa de disparo.
- Al explorar el método de *clustering*, se concluye que la distancia llamada “dc” óptima entre un centroide y otro se obtienen para valores iguales a $dc = 0.01$ y $dc = 0.02$, para valores más altos es muy probable que el método falle.
- La búsqueda de los tiempos de activación falla junto con el fallo de detección de las células que componen a las ensamblas, comprobando que el método funciona perfectamente, ya que si no se recuperan las células ingresadas, es de esperar que tampoco se recuperen sus tiempos de activación.
- Las células *core* pueden ser detectadas con alta precisión, incluso para umbrales de corte muy altos, indicando que el método es robusto en cuanto a su detección.
- Se evidencia la presencia de ensamblas neuronales en retina de degú. Pero sólo ante un estímulo simple de pulsos de luz con una intensidad luminosa fija. La presencia de ensamblas neuronales ante estímulos más complejos como película natural o ruido blanco no fue analizada, por lo que queda una nueva pregunta de investigación abierta que se propone como futura investigación.
- Se observan ensamblas que presentan una activación segregada de acuerdo al tipo de CGR que la componen, pero no se puede determinar aún si éstas pueden ser clasificadas como ensamblas tipo ON u ensamblas tipo OFF, ya que aún no se genera un análisis cuantitativo que indique el porcentaje de tipo de CGR que compone a la ensamblas para poder hacer una clasificación más detallada, lo que también se propone como futura línea de investigación.

PROYECCIONES

- 1) realizar el estudio de ensamblajes en retina bajo diferentes estímulos, para ver si diferentes estímulos reclutan diferentes ensamblajes y de esta manera demostrar que las ensamblajes células reclutadas en la ensamblaje son condicionadas a un estímulo preferente

TRABAJOS PUBLICADOS PARA ESTA TESIS

REFERENCIAS

- Basheer I.A, Hajmeer M (2000). Artificial neural networks: fundamentals, computing, design, and application. *Journal of microbiological methods*. 43: 3-31.
- Buzsáki G., Draguhn A. (2004). Neuronal Oscillations in Cortical Networks. *Science*. 304: 1926-1929.
- Buzsáki G. (2010). Neural syntax: Cell assemblies, synapsembles, and readers. *Neuron Review*. 68: 362 – 385.
- Baylor, D.A., Nunn, B.J., and Schnapf, J.L. (1984). The photocurrent, noise and spectral sensitivity of rods of the monkey *Macaca fascicularis*. *J. Physiol.* 357: 575–607.
- Bullmore E. and Sporns, O. (2009). Complex brain networks: graph theoretical analysis of structural and functional systems. *Nature Reviews*. 10: 186 – 198.
- Bressler, S.L. & V. Menon. 2010. Large-scale brain networks in cognition: emerging methods and principles. *Trends Cognit. Sci.* 14: 277–290.

Carrillo – Reid L., Miller J., Hamm P., Jackson J., Yuste. (2015). Endogenous sequential cortical activity evoked by visual stimuli. *Journal of neuroscience*. 35: 8813 – 8828.

Cerda. J, Cifuentes L, (2012). Using ROC curves in clinical investigation. Theoretical and practical issues. *Revista Chilena de infectología*. 29: 1388 – 141.

Chapin JK, Nicolelis MA (1999). Principal component analysis of neural ensemble activity reveals multidimensional somatosensory representations. *J Neurosci Methods*. 94: 121 – 140.

Chung. K, DeisserothK (2013). Clarity for mapping the nervous system. *Nature*. Pag 10: 508-513.

Church R (1978). Contrast between facility location approaches and non-hierarchical cluster analysis. *Paper presented at ORSA/TIMS Joint National Meeting, Los Angeles, California*.

deCharms, R C. Zador A. (2000). Neural representation and the cortical code. *Annu. Rev. Neurosci*. 23: 613 – 647.

Harris, K. D., Csicsvari, J., Hirase, H., Dragoi, G. & Buzsaki, G (2003). Organization of cell assemblies in the hippocampus. *Nature* 424: 552–556.

Hansen, L. & Salamon, P. (1990) Neural network ensembles. *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, 12: 993 - 1001.

Hashem, S., & Schmeiser, B. (1995). Improving model accuracy using optimal linear combinations of trained neural networks. *IEEE Transactions on Neural Networks*. 3: 792–794.

Hebb, D.O. (1949). *The Organization of Behavior*. New York: John Wiley & Sons, 1949

- Hosoya, T., Baccus, S.A., and Meister, M. (2005). Dynamic predictive coding by the retina. *Nature*. 436: 71–77.
- Humphries MD (2011). Spike-train communities: finding groups of similar spike trains. *J Neurosci*. 31: 2321 – 2336.
- Jain A. K, Mao J., Mohhiudin K. M. (1996). Artificial neural networks: a tutorial. *Computer*. 29: 31 – 44.
- Jain A. K. (2009). Data clustering: 50 years beyond K-means. *J. Elsevier*. 31: 652 – 666.
- Fellous J., Tiesinga P., Thomas P., Sejnowski T. (2004). Discovering spike patterns in neuronal responses. *JNeurosci*. 24: 2989 – 3001.
- Fornito A, Zalesky A, Bullmore E. (2016). Fundamentals of Brain Network Analysis. *NY: Academic Press*.
- Kaufman L. Rousseeuw PJ (2009). Finding groups in data: An introduction to cluster Analysis. *Publishen by John Wiley and Sons. Inc Hoboken, New Jersey*.
- Lopes-dos-Santos, V., Conde-Ocazonez S., Nicolelis M., Ribeiro S., Tort A. (2011). Neuronal assembly deteccion and cell membership specigication by Principal Component Analysis. *Plos one*. 6: e20996.
- Martinez-Conde, S., Macknik, S.L., and Hubel, D.H. (2004). The role of fixational eye movements in visual perception. *Nat. Rev. Neurosci*. 5: 229–240.
- Milller J., Ayzenshtat I., Carrillo-Reid L., Yuste R. (2014). Visual stimuli recruit intrinsically generated cortical ensembles. *Neuoscience*. 38: 1 – 9.
- McCulloch W.S, and Pitts W. (1943). A logical calculus of the ideas immanent in nervous activity. *Bull. Math. Byophys*. 5: 115-133.

Montijn J. Olcese U. Pennartz C. (2016). Visual stimulus detection correlates with the consistency of temporal sequences within stereotyped events of V1 neuroal population activity. *Journal of neuroscience*. 36: 8624 – 8640.

Mulvey J and Cowder H (1979). Cluster analysis: An aplication of Lagrangian relaxation. *Management Sci*. 25: 329-340.

Munsche H, Whitaker H. (2012). Eighteenth Century Classification of Mental Illness: Linnaeus, de Sauvages, Vogel, and Cullen. *Cognitive & Behavioral Neurology*. 25: 224-239.

Ölveczky B., Baccus S., Meister M., (2007) Retinal Adaptation to object motion. *Neuron*. 56: 689 – 700.

Opitz, D., Shavlik J. (2010) Actively searching for an effective neural network ensemble. *J. Connection Science*. 8: 337 – 354.

Palm, G. (1987). Computing with neural networks. *Science*. 235: 1227b–1228b.

Palm G (1981). Toward a theory of cell assemblies. *Biological Cibernetics*. 39: 181 – 194.

Pipa, G., Grün S., (2003). Non-parametric significance estimation of joint-spike events by shuffling and resampling. *Elsevier*. 52: 31 – 37.

Peña D. (2003). Análisis de datos multivariantes. *The McGraw-Hill Companies*. :133 – 148.

Power, J.D., D.A. Fair, B.L. Schlaggar & S.E. Petersen. (2010). The development of human functional brain networks. *Neuron*. 67: 735–748.

Rao, m R (1971). Cluster analysis and mathematical programming. *J amer. Statist. Assoc*. 66: 622-626.

Ranhel J. (2012). Neural assembly computing. *Ieee Trans. On Neural network and learning systems*. 23: 916 – 927.

Roy A., Steinmetz P. N. Niebur E. (2000). Rate limitations of unitary event analysis. *Letter*. 12: 2063 – 2082.

Rodriguez A., Laio A. (2014). Clustering by fast search and find of density peaks. *Science*. 334: 1492 – 1496.

Ruminov M., Sporns O. (2010). Complex network measures of brain connectivity: Uses and interpretations. *Neuroimage*. 52: 1059-1069.

Schwartz, G., Harris, R., Shrom, D., and Berry, M.J., 2nd. (2007). Detection and prediction of periodic patterns by the retina. *Nat. Neurosci*. 10: 552–554.

Schnapf, J.L., Nunn, B.J., Meister, M., and Baylor, D.A. (1990). Visual transduction in cones of the monkey *Macaca fascicularis*. *J. Physiol*. 427: 681–713.

Shatz C. J. (1996). Emergence of order in visual system development. *J. Physiol*. 90: 141-150.

Sporns O. (2013) Making sense of the brain network data. *Nature methods*. 10: 491 – 493.

Sporns O. (2011). The human connectome: a complex network. *N. Y acad. Sci*. 1224: 109 – 125.

Theunissen, F. & Miller, J. P. (1995). Temporal encoding in nervous systems: a rigorous definition. *J. Comput. Neurosci*. 2: 149 – 162.

Tikidji-Hamburyan – A.Reinhard, K. Seitter, H. Hovannisyan, A, Procyk, A. E. Schenk, M. Lucas R. J., Munch, T. (2014). Retinal output changes qualitatively with every change in ambient illuminance. *Nat Neurosci*. 18: 66 – 74.

Tucker, L. R (1964). The extension of factor analysis to three-dimensional matrices. Contributions to mathematical Psychology. *Edited by N Frederiksen an H. Gulliksen*. New york.

Van Rossum M. C. (2006). A novel spike distance. *Neural computation*. 13: 751– 63.

Victor J. D., Purpura K. P. (1996). Nature and precision of temporal coding in visual cortex: a metric-space analysis. *Journal of neurophysiology*. 76: 1310 – 1326.

Vinod, H (1969). Integer programming and the theory of grouping. *Journal of the American statist. Assoc.* 64: 506-517.

Wallace D., Kerr J. (2010). Chasing the cell assembly. *J elsevier*. 20: 296 – 305.

Widrow, G., & Hoff, M. E. (1960). Adaptive switching circuits. *Institute of Radio Engineers, Western Electronic Show and Convention, Convention Record*. 4: 96-104.

ANEXOS

Congresos

- 1) Soraya Mora, Ruben Herzog, Adrián Palacios, 2017. **Neural ensemble detection on spiking networks.** En: XIII Reunión Anual de la Sociedad Chilena de Neurociencia, 1 – 3 de Octubre de 2017. Castro – Chiloé.

Premio

- 1) BECA IBRO-LARC pasantía en la Universidad Nacional Autónoma de México.