

**ESTUDIO DE LAS FIRMAS NEURONALES  
EN LOS  
GENERADORES CENTRALES DE PATRONES**

DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA INFORMÁTICA  
ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR  
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID



**Roberto Latorre Camino**

roberto.latorre@ii.uam.es

Junio 2004

Trabajo tutelado por Pablo Varona Martínez



# Resumen

El sistema nervioso utiliza varios mecanismos para la *codificación de información*. Típicamente se habla de *codificación espacial, temporal o espacio-temporal*. Para la codificación temporal se han descrito códigos que utilizan la frecuencia instantánea de disparo o el tiempo preciso de ocurrencia de los disparos. Aquí vamos a estudiar un código temporal perteneciente a esta última categoría descubierto recientemente en un Generador Central de Patrones.

Los Generadores Centrales de Patrones (CPGs) son redes neuronales cuyas células producen un patrón de actividad rítmico de una forma robusta y flexible. Este ritmo consiste en una secuencia de activación o disparo característica de cada una de las células que lo forman. Estas neuronas presentan un comportamiento que se caracteriza por la generación de ráfagas de potenciales de acción. El patrón rítmico generado sirve para controlar y coordinar actividades motoras repetitivas. Los CPGs son sistemas muy especializados que frecuentemente tienen elementos redundantes que les permiten actuar correctamente bajo muy diversas circunstancias. Son sistemas multifuncionales que pueden generar diferentes ritmos en función de su entrada sensorial y/o moduladora. Experimentos recientes han revelado la existencia de una firma identificativa en la actividad individual de cada neurona del CPG pilórico de los crustáceos. Esta firma consiste en una distribución temporal característica en cada célula de los potenciales de acción de las ráfagas que generan. Las firmas aparecen de forma simultánea con el ritmo producido por el sistema. No se sabe cuál es el papel que desempeñan estas estructuras temporales de la señal. Se ha comprobado que algunos músculos pueden reflejar pequeños cambios en la distribución temporal de los potenciales de acción de las motoneuronas que los controlan. Sin embargo, no está claro si las firmas neuronales pueden formar parte de los mensajes de control que reciben los músculos. También se desconoce si tienen algún significado para las neuronas que pertenecen al mismo CPG o a otros CPG interconectados.

El punto de partida de nuestra investigación es el descubrimiento de las firmas neuronales. Aquí presentamos los experimentos que hemos realizado para estudiar distintos aspectos relacionadas con ellas. En estos experimentos simulamos el comportamiento del CPG utilizando distintos modelos matemáticos. Los resultados obtenidos en las simulaciones nos permiten discutir cuál es el origen de las firmas y el posible papel que pueden desempeñar para el correcto funcionamiento del circuito. De nuestros resultados se deduce que el origen de las firmas depende de dos factores: la arquitectura de las conexiones entre las células del CPG y la dinámica individual de cada una de ellas. En los modelos también observamos que cuando se altera la firma de alguna de las células del CPG, también cambia el comportamiento colectivo del sistema. En algunos casos deja de producir su ritmo característico y pasa a generar otro distinto. Sin embargo, los casos más interesantes son aquellos

en los que el sistema genera el mismo ritmo, con la misma secuencia de disparo, pero en el que cambia la frecuencia de disparo o la relación de fase entre las ráfagas de potenciales de acción de cada neurona. Estos casos indican que las firmas neuronales individuales pueden codificar cierta información de control para el CPG ante la llegada de ciertos estímulos. Por ejemplo, se sabe que el ritmo generado por el CPG pilórico es diferente dependiendo de la temperatura o la textura de la comida, aunque se mantenga la secuencia de disparo.

Los resultados de las simulaciones que presentamos aquí y las características de la actividad registrada en el CPG biológico, apoyan la hipótesis de que las firmas forman parte de un código múltiple para el intercambio de información neuronal. Las firmas permitirían al receptor identificar quién es el emisor del mensaje y procesar la información restante en función de este reconocimiento. Así, una neurona podría reaccionar de forma altamente *selectiva* a la señal recibida de otras. Esta hipótesis debe validarse en el laboratorio. En caso afirmativo, este mecanismo definiría un nuevo *paradigma de comunicación neuronal* basado en el *reconocimiento de firmas*. Si el sistema nervioso dispone de mecanismos para el reconocimiento de las firmas, supondría que tiene una capacidad de codificar información muy superior a lo que se pensaba hasta el momento. Aún basándose en una codificación temporal, este código sería distinto de los códigos temporales estudiados hasta el momento, ya que no se ha tenido en cuenta que una neurona pueda identificar el origen de su entrada sináptica para utilizarla en el procesamiento de la información.

Este estudio también resulta de especial interés para el diseño de nuevos paradigmas de redes neuronales artificiales. En el contexto de las redes neuronales artificiales, no se ha explorado con detalle el potencial de la codificación temporal de la información, ni la utilización del reconocimiento del origen de una señal. Nuestro estudio sugiere la aplicación de los mecanismos de generación y reconocimiento de firmas para el diseño de nuevos algoritmos de redes neuronales artificiales y algoritmos de aprendizaje.

# Índice general

<b>1. Introducción</b>	<b>1</b>
<b>2. Conceptos biológicos</b>	<b>5</b>
2.1. Introducción . . . . .	5
2.2. El sistema nervioso . . . . .	5
2.2.1. Función del sistema nervioso . . . . .	5
2.2.2. La neurona . . . . .	6
2.2.3. Potencial de membrana . . . . .	7
2.2.4. Comunicación entre neuronas, el impulso nervioso . . . . .	7
2.2.5. Comportamiento neuronal . . . . .	9
2.3. Codificación neuronal . . . . .	9
2.4. Tipos de movimiento . . . . .	10
2.5. Movimientos rítmicos . . . . .	11
2.6. Generadores Centrales de Patrones, CPGs . . . . .	11
<b>3. El ganglio estomatogástrico</b>	<b>13</b>
3.1. Introducción . . . . .	13
3.2. El sistema estomatogástrico . . . . .	14
3.3. Esquema neuronal del STG . . . . .	15
3.3.1. Neuronas del STG . . . . .	15
3.3.2. Sinapsis graduales . . . . .	16
3.4. El CPG gástrico . . . . .	16
3.5. El CPG pilórico . . . . .	17
3.6. Interacción entre el CPG gástrico y el pilórico . . . . .	18
<b>4. Firmas neuronales individuales en el CPG pilórico</b>	<b>19</b>
4.1. Introducción . . . . .	19

4.2.	Firmas neuronales individuales . . . . .	20
4.3.	Origen de las firmas neuronales . . . . .	22
4.3.1.	Modelos de neurona y de red . . . . .	22
	Modelos neuronales individuales . . . . .	22
	Modelos de red del CPG pilórico . . . . .	23
	Modelos de sinapsis . . . . .	24
4.3.2.	Comportamiento de las neuronas individuales . . . . .	25
4.3.3.	Resultados . . . . .	25
4.4.	Efecto de la firma en el comportamiento del CPG . . . . .	29
4.4.1.	Efecto de las firmas en el ritmo generado por el CPG . . . . .	29
	Modelos de neurona y de red . . . . .	30
	Medida de información neuronal . . . . .	30
	Resultados . . . . .	32
4.4.2.	Importancia de la firma en la correcta generación de ritmos . . . . .	34
	Modelos de redes y de neuronas . . . . .	34
	Dinámicas libres y forzadas . . . . .	35
4.4.3.	Resultados . . . . .	37
4.5.	Discusión . . . . .	38
4.6.	Trabajo futuro . . . . .	40
4.7.	Apéndice A: Modelos neuronales . . . . .	42
4.7.1.	Modelo de Komendantov-Kononenko . . . . .	42
4.7.2.	Modelo de Hindmarsh-Rose . . . . .	44
4.7.3.	Modelo de Huerta et al. . . . .	45
4.8.	Apéndice B: Modelos de sinápsis . . . . .	46

# Capítulo 1

## Introducción

La *Neurociencia* estudia el *sistema nervioso* de los animales desde diversos puntos de vista (anatomía, biología, química...) e intenta aplicar sus bases a otros campos. Este estudio está enmarcado en el campo de la *Neurocomputación*. Ésta es una rama de la *Inteligencia Artificial* íntimamente relacionada con la *Neurociencia*. Surgió del intento de explicar el funcionamiento del sistema nervioso animal y obtener de él ideas para diseñar nuevos paradigmas de computación. De esto se deriva que tiene una doble vertiente, que hace que dentro de ella haya que distinguir dos campos de estudio: la *Neurociencia Computacional* y la *Computación Neuronal Artificial*. La primera de ellas estudia partes individuales del sistema nervioso animal para comprender su funcionamiento desde la perspectiva del *procesamiento de información*. La segunda utiliza el conocimiento obtenido para construir sistemas artificiales capaces de resolver problemas en otros campos de la ciencia.

La unidad básica para el procesamiento de información en el sistema nervioso de cualquier animal es la *neurona*. Estas células reciben información en forma de corrientes eléctricas y producen una respuesta no lineal coherente con la entrada recibida en forma de potenciales de acción (mecanismo que se explica en el capítulo 2). En Neurocomputación se construyen *modelos matemáticos* que reproducen este comportamiento. Estos modelos permiten estudiar el sistema nervioso desde un punto de vista teórico. Para construirlos se debe reproducir (i) el comportamiento individual de los componentes (principalmente *neuronas*) de la parte del sistema nervioso estudiado y (ii) las conexiones que se establecen entre ellos (*sinapsis*). Normalmente se parte de datos experimentales obtenidos en laboratorios de neuroanatomía (arquitectura de las conexiones) y neurofisiología (funcionamiento). Con estos datos en mente, se define el conjunto de ecuaciones matemáticas que aproximan el comportamiento del modelo al observado en el laboratorio. Los modelos matemáticos se pueden *simular* en un ordenador mediante programas que calculan la evolución temporal de las variables dirigidas por sus ecuaciones. Las simulaciones de modelos complementan las técnicas tradicionales de la Neurociencia, permitiendo postular nuevas hipótesis sobre el comportamiento del sistema nervioso. Una simulación permite analizar las características individuales del sistema estudiado de forma rápida y sencilla modificando los parámetros del modelo. Estos parámetros representan algunos de los factores que influyen en que el sistema muestre un comportamiento determinado. Muchos son muy difíciles de aislar tanto en preparaciones *in vivo* como en preparaciones *in vitro*, por lo que sin las simulaciones sería muy complicado, y en algunos casos incluso imposible, analizar su posible significado.

Un ejemplo de aplicación de la Neurociencia a otros campos, lo constituyen las *redes neuronales artificiales* [Fausett, 1994, Haykin, 1998]. El sistema nervioso de cualquier animal es un sistema complejo cuya misión fundamental, en términos muy generales, es procesar y utilizar distinto tipo de información. En cierta medida funciona como un ordenador que ha evolucionado con el tiempo para controlar toda la actividad del animal. Es un sistema muy potente que realiza una gran cantidad de tareas de forma rápida y eficiente. Muchas de estas tareas no son innatas. Los individuos las aprenden y perfeccionan a lo largo del tiempo. Es de esperar que un sistema artificial construido con las mismas bases estructurales y funcionales también presente estas características. Las primeras *redes neuronales artificiales* surgieron con esta idea, pero con el tiempo han aparecido nuevos modelos que se alejan de las bases biológicas. Dos de las características más significativas que las redes neuronales artificiales han heredado de los sistemas biológicos son: la capacidad de detectar patrones de comportamiento y la de aprender a partir de ejemplos sin la necesidad de formalizar el conocimiento a tratar. Estas características son la base de dos de sus principales ventajas respecto a otros paradigmas de la *Inteligencia Artificial*: el *aprendizaje adaptativo* y la *autoorganización*. El primero es la capacidad de aprender a realizar tareas basadas en un entrenamiento o experiencia previa. El segundo es la capacidad de crear su propia representación de la información. Estas propiedades, entre otras, han permitido utilizarlas con gran efectividad en aplicaciones muy diversas, tales como sistemas expertos, sistemas de clasificación, sistemas de control, etc. A la hora de utilizar una red neuronal artificial se pasa por dos fases: la de *entrenamiento* y la de *prueba*. En la primera se usa un conjunto de datos para que la red "aprenda" sus características. No necesitan un algoritmo específico para resolver un problema concreto, sino que el algoritmo de aprendizaje permite que se autoorganicen para adaptarse a cada problema. Este aprendizaje es lo que se conoce como *reconocimiento de patrones*. En la segunda fase, se utiliza el modelo obtenido en la fase anterior para clasificar patrones reales y dar un resultado definitivo.

De todo lo anterior se puede deducir que los elementos fundamentales de la Neurocomputación son los *modelos matemáticos de redes neuronales*. Por un lado, contribuyen a la comprensión del funcionamiento del sistema nervioso y, por otro, a la elaboración de nuevos paradigmas de computación basados en él, aplicables en el campo de la inteligencia artificial, la robótica y la bioingeniería entre otros.

En este trabajo se va a modelar unos sistemas neuronales pertenecientes al *sistema nervioso motor* conocidos como *Generadores Centrales de Patrones* o *CPGs*, del inglés Central Pattern Generators. Concretamente, se va a analizar el *CPG pilórico de los crustáceos*, que es uno de los sistemas neuronales más estudiados y mejor conocidos. El objetivo fundamental de este trabajo es postular hipótesis sobre el significado de la dinámica rápida de sus neuronas, centrándose en unas estructuras temporales, denominadas *firmas neuronales*, que se han descubierto recientemente en su actividad. La misión fundamental de un CPG es generar un patrón de actividad para controlar ciertos músculos que deben moverse de forma rítmica. Para otros campos de la ciencia, son sistemas interesantes ya que pueden tener múltiples aplicaciones. Una aplicación inmediata es el control del movimiento en el campo de la robótica (Figura 1.1). Parece evidente que si han sido los mecanismos elegidos por la naturaleza para realizar esta función, puedan también ser útiles para controlar el movimiento de un robot. Otra de sus posibles aplicaciones es la de controlar sistemas

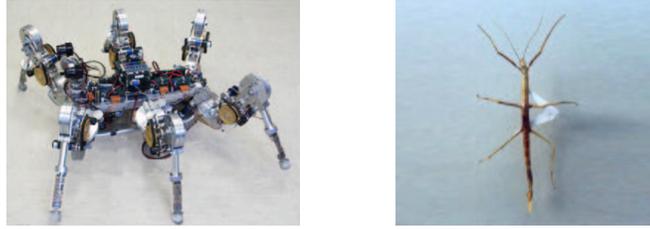


Figura 1.1: Izquierda, ejemplo de robot [Barnes, 1998, Fukuoka et al., 2003] en el que el movimiento de las patas está controlado por un CPG artificial inspirado en los que controlan el movimiento de las patas del bicho palo (*Phasmidia*) (imagen derecha).

físicos, normalmente denominados plantas, que (i) se deben optimizar para conseguir un objetivo final, (ii) deben ser robustos ante posibles fallos y/o (iii) deben pasar rápidamente de un estado a otro en función de ciertos parámetros [Huerta et al., 2000]. La planta se modelará con un CPG y se realizará una búsqueda en el espacio de posibles conexiones entre sus neuronas para encontrar aquellas que maximicen las prestaciones deseadas. Este tipo de modelos se denominan modelos neuromecánicos.

Pero además de estas aplicaciones inmediatas, el estudio de la dinámica rápida de sus neuronas puede servir para descubrir un nuevo paradigma de codificación temporal de la información neuronal. En él, el procesamiento de la información se basaría en el reconocimiento del emisor del mensaje en función de su firma. Hasta el momento no se había tenido en cuenta este tipo de mecanismos en la comunicación neuronal. Las neuronas del CPG pilórico presentan un comportamiento muy común en otros sistemas neuronales, lo que permite que las conclusiones obtenidas aquí se puedan extrapolar a estos sistemas. En particular, es de especial interés el caso de las redes neuronales artificiales en las que muy pocas aproximaciones se basan en una codificación temporal de la información.

Sin contar esta breve introducción, este documento se divide en tres capítulos:

- En el capítulo 2 se hace una pequeña introducción del sistema nervioso y de los CPGs. En él se explican las bases biológicas sobre las que se va a asentar nuestro estudio posterior. Se describe cuál es la misión del sistema nervioso de un animal, explicando, el tipo de células que lo forma (*neuronas*) y los mecanismos que utilizan éstas para comunicarse entre si y desempeñar correctamente su misión. Se presta especial atención a los mecanismo de *codificación neuronal*. Además, se explica qué es un CPG y la importancia que tienen para el control motor. Dado que pertenecen al sistema nervioso motor, también se describen los tipos de movimiento que puede controlar y coordinar.
- El capítulo 3 describe el *sistema estomatogástrico* de los crustáceos al que pertenece el *CPG pilórico*. Al ser el sistema que vamos a modelar posteriormente, este CPG se describe de forma detallada. Pero también se presta una especial atención al *CPG gástrico*. Éste es interesante porque su forma de comunicarse con el pilórico va a ser significativa para nuestro estudio. Se describe detalladamente la arquitectura de estas redes neuronales, identificándose las neuronas que las forman y las conexiones, tanto

intrínsecas como extrínsecas, que se establecen entre ellas. Además, se describen los ritmos generados por ambos CPGs y las acciones que controla cada uno de ellos.

- Por último, en el capítulo 4 se presenta nuestro estudio del CPG pilórico. Vamos a estudiar las *firmas neuronales individuales* descubiertas en sus neuronas. Por ello, lo primero que se va a hacer es explicar qué son y las razones que hacen que sean interesantes de estudiar. Nuestro estudio se va a basar en la realización de simulaciones de diferentes modelos de CPG y en el análisis de los datos obtenidos en ellas. En este capítulo se van a presentar las ecuaciones matemáticas que describen estos modelos, tanto funcionales como morfológicos, así como las técnicas usadas en el análisis de los datos generados. Los resultados obtenidos nos van a permitir realizar algunas *hipótesis* sobre el origen y significado de las firmas neuronales. Por último, se va a indicar cuáles van a ser nuestras líneas de trabajo futuro en dos campos de investigación. Por un lado, continuando el estudio de las firmas neuronales en sistemas biológicos. Por otro, intentando aplicarlas en el diseño de redes neuronales artificiales.

# Capítulo 2

## Conceptos biológicos

En este capítulo se van a explicar brevemente los conceptos biológicos en los que se basan los modelos neuronales. Se va a identificar los componentes fundamentales del sistema nervioso, explicando cuál es la función que desempeñan. Además, se describen los mecanismos que permiten el flujo de información nerviosa. Estos mecanismos son los que, formalizados matemáticamente, se utilizan para establecer las conexiones entre neuronas a la hora de construir un modelo.

### 2.1. Introducción

Una de las grandes preguntas sin respuesta de la ciencia es cómo funciona el cerebro o, más concretamente, cómo lo hace el sistema nervioso al que pertenece. Hasta hace relativamente poco tiempo no se podía realizar estudios detallados en este campo. Sin embargo, gracias a las mejoras de las técnicas de investigación, se ha identificado los elementos que lo forman y los mecanismos que les permiten realizar eficientemente su misión. Al igual que cualquier sistema biológico, el sistema nervioso está formado por células. Estas células tienen la *capacidad de comunicarse* entre sí mediante la transmisión de una señal eléctrica que contiene la información nerviosa. El sistema nervioso es capaz de generar información, bien por sí sólo, bien identificando estímulos procedentes del exterior, procesarla y dar una respuesta coherente a la entrada que ha recibido.

### 2.2. El sistema nervioso

#### 2.2.1. Función del sistema nervioso

La misión fundamental del sistema nervioso es recibir, procesar y transmitir información. El cuerpo de cualquier animal recibe una serie de *estímulos*, procedentes tanto de su interior como de su exterior, a través de los receptores sensoriales. Como consecuencia de un estímulo puede producirse una respuesta, típicamente un movimiento, mediante los órganos efectores (por ejemplo los músculos). En los animales pluricelulares más avanzados, los receptores sensoriales suelen localizarse a cierta distancia de los correspondientes

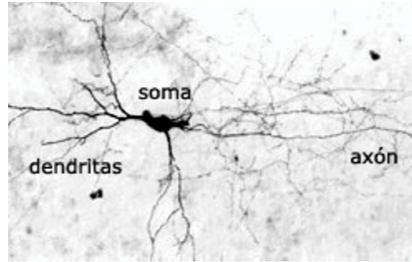


Figura 2.1: Fotografía de una *neurona*. En ella se ve el *soma* o *cuerpo*, el *axón* y las *dendritas*. Las conexiones, *sinapsis*, normalmente se establecen entre el axón de una célula y las dendritas de otra.

efectores. De ahí la necesidad de un sistema que transmita la información con eficacia y rapidez. Este sistema es el *sistema nervioso*. Funcionalmente hablando, se divide en tres partes fundamentales: el *sistema nervioso sensorial*, cuyos componentes (receptores sensoriales) reciben los estímulos, el *sistema nervioso motor*, cuyos componentes realizan los movimientos respuesta a los estímulos recibidos, y el *sistema nervioso central* que organiza y procesa toda la información.

### 2.2.2. La neurona

En el siglo XIX *Santiago Ramón y Cajal* propuso que el sistema nervioso animal estaba constituido por células. Estas células se denominan *neuronas* y presentan un alto grado de especialización. Morfológicamente hablando, constan de tres partes: el *soma*, el *axón* y las *dendritas* (Figura 2.1). El *soma* es el cuerpo celular de la neurona. Presenta los mismos orgánulos que el centro metabólico de cualquier otra célula (núcleo, mitocondrias, etc). Las *dendritas* son pequeñas ramificaciones que salen del soma formando los denominados *árboles dendríticos*. Su misión fundamental es recibir información de los receptores sensoriales o de otras neuronas. Sin embargo, se ha descubierto que algunas también pueden transmitir información hacia el exterior de la célula. Por su parte, el *axón* es una larga prolongación del soma que, generalmente, ocupa la posición contraria a las dendritas. Al contrario que éstas, sólo presenta ramificaciones en su terminación, cerca de otras neuronas. Estas ramificaciones constituyen los *terminales presinápticos*, estructuras especializadas en la transmisión de información. La misión del axón es transmitir información a otras neuronas o a los órganos efectores.

Existen muchos tipos diferentes de neurona que pueden clasificarse mediante distintos criterios. La clasificación más frecuente es la que tiene en cuenta el esquema de funcionamiento básico descrito anteriormente. Siguiendo este criterio se pueden diferenciar tres tipos de neurona: las *sensoriales*, las *interneuronas* y las *motoneuronas*. Las *neuronas sensoriales* son las encargadas de recibir los estímulos y transformar la energía física de éstos en impulsos nerviosos (energía eléctrica). Las *interneuronas* propagan estos impulsos nerviosos entre distintas neuronas. Los reciben de sus *neuronas presinápticas* y despolarizan o hiperpolarizan a sus *neuronas postsinápticas*, tal y como se verá en el siguiente apartado. Y, por último, las *motoneuronas* reciben información de las neuronas sensoriales o de las interneuronas e inervan de forma directa a los órganos efectores.

### 2.2.3. Potencial de membrana

Los fenómenos relacionados con la generación, almacenamiento y liberación de energía eléctrica en las neuronas se producen gracias a las características de su *membrana citoplasmática*. Ésta separa la célula de su ambiente extracelular. Debido a su permeabilidad selectiva a ciertos iones y a la diferente movilidad de éstos (hechos que se explican más adelante), cuando una neurona está en reposo, existe una distribución desigual de carga eléctrica a un lado y a otro de la membrana. Por ejemplo, fuera predominan el cloro ( $\text{Cl}^-$ ) y el sodio ( $\text{Na}^+$ ) y dentro el potasio ( $\text{K}^+$ ). Esta diferencia de carga hace que la membrana sufra una diferencia de potencial que produce la energía eléctrica responsable de la transmisión de la información nerviosa.

La membrana citoplásmica está dotada de una serie de "poros", denominados *canales iónicos*, que permiten el movimiento de iones a través de ella. Este movimiento hace que se produzca el *impulso nervioso*, ya que genera pequeñas variaciones en la diferencia de potencial entre el interior y el exterior de la célula. Los canales iónicos pueden ser de dos tipos: *activos*, que siempre están abiertos, y *pasivos*, que se abren o cierran en función del potencial de membrana o de la concentración de algunas especies iónicas (por ejemplo, el calcio). En una neurona en reposo, es decir, en ausencia de estímulos externos, sólo están abiertos los pasivos. En este caso, las propiedades de la neurona dependen fundamentalmente del flujo de iones de sodio ( $\text{Na}^+$ ) y de potasio ( $\text{K}^+$ ). Considerando su tendencia a entrar o salir de la neurona según sus gradientes de concentración, las cargas se equilibrarían en el interior y exterior. Sin embargo, éste se mantiene constante por dos mecanismos, conocidos como *bomba de sodio* y *bomba de potasio*. La primera toma iones  $\text{Na}^+$  del interior y los saca al exterior en contra del gradiente de concentración. La segunda actúa de forma análoga pero con los iones  $\text{K}^+$  del exterior. En esta situación, la membrana de la célula sufre una diferencia de potencial negativa respecto al exterior, conocida como *potencial de reposo* (fase 1 del panel izquierdo de la Figura 2.2). La membrana actúa como un condensador eléctrico, almacenando carga y suavizando la respuesta a cambios bruscos en la corriente.

### 2.2.4. Comunicación entre neuronas, el impulso nervioso

Las neuronas realizan funciones muy complejas, pero no lo hacen por sí solas, se agrupan en componentes de nivel superior, denominados *redes neuronales*. Éstas constituyen el sistema nervioso animal. Las agrupaciones de neuronas se realizan mediante conexiones eléctricas y/o químicas, denominadas *sinapsis*. Típicamente se establecen entre la terminación axónica de una neurona origen (*neurona presináptica*) y el árbol dendrítico de una neurona destino (*neurona postsináptica*). Las sinapsis se dan entre neuronas que pertenecen o no a la misma red. Su misión es transmitir información (*impulso nervioso*) de una neurona individual o de una red a otra. El *impulso nervioso* es una señal eléctrica que *codifica* la información que viaja por el sistema nervioso. Los impulsos nerviosos que llegan a una neurona pueden ser *excitatorios* o *inhibitorios*. Los primeros provocan un aumento del potencial de membrana (*despolarización*), mientras que los segundos lo disminuyen (*hiperpolarización*).

En las *sinapsis eléctricas* la neurona presináptica y la postsináptica están en contacto, de forma que la corriente fluye directamente entre sus membranas. Esto hace que en este tipo de sinapsis la información se transmita de una forma muy rápida.

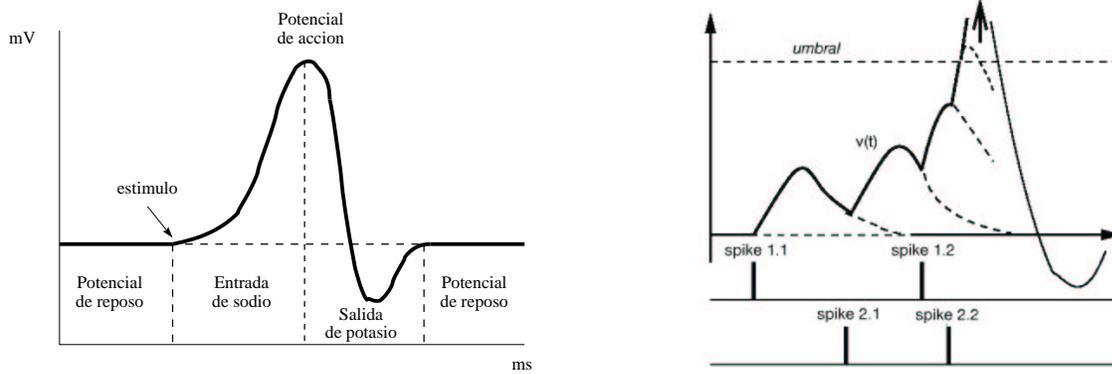


Figura 2.2: Panel izquierdo. Mecanismo que provoca la generación de un *potencial de acción* o *spike* en una neurona al recibir un estímulo excitador. Inicialmente la neurona está en reposo (fase 1). Cuando el estímulo alcanza el *potencial umbral*, se abren los canales de sodio [Hodgkin and Huxley, 1952]. La entrada de  $Na^+$  provoca que la membrana se despolarice, cargándose negativamente las zonas adyacentes. En este punto se genera el *potencial de acción*. Después de esto, los canales de sodio se cierran y se abren los de potasio [Hodgkin and Huxley, 1952], lo que conlleva una hiperpolarización debida a la salida de  $K^+$  (fase 3). Esto se produce hasta el momento en el que se reestablece la bomba sodio-potasio restaurando el potencial de reposo (fase 4). Durante la hiperpolarización, la neurona no puede recibir ningún tipo de excitación. Panel derecho. En ocasiones para producir un *potencial de acción* se debe combinar el efecto de varios en las neuronas presinápticas. Individualmente, los cuatro *spikes* de la figura no alcanzan el potencial umbral. Sin embargo, al llegar de manera consecutiva, el nivel en el que se encuentra la neurona receptora no es el potencial de reposo. Con cada uno de ellos se encuentra en un nivel superior. En este caso, la combinación de los cuatro hace que se produzca la transmisión del impulso nervioso.

Las sinapsis más abundantes en los sistemas naturales son las químicas. En este tipo de sinapsis las neuronas no están en contacto. La señal eléctrica se transmite gracias a la acción de unas sustancias químicas denominadas *neurotransmisores* (por ejemplo, la acetilcolina, la adrenalina o la histamina) que se encuentran almacenadas en las *vesículas sinápticas*. Cuando un impulso llega a la terminación axónica de una neurona presináptica acarrea una reacción metabólica que hace que desaparezca la membrana de algunas de estas vesículas. Esto conlleva la liberación de los neurotransmisores. La neurona postsináptica es permeable a algunos de estos neurotransmisores. Al entrar en la célula, se unen a unos receptores específicos de cada neurotransmisor, lo que hace que se abran determinados canales iónicos. Esta reacción es la que hace que el impulso nervioso se transmita. Existen neurotransmisores *excitadores* e *inhibidores*. Los canales iónicos que abren los primeros provocan una corriente que despolariza la neurona. Mientras que los que abren los neurotransmisores inhibidores provocan una corriente hiperpolarizadora. Cuando una neurona se despolariza, si el estímulo tiene la suficiente intensidad y supera un valor de potencial, denominado *potencial umbral*, se abren los canales activos. Esto puede producir un incremento muy rápido del potencial de membrana en la neurona postsináptica durante un corto intervalo de tiempo (ver detalles en la Figura 2.2). Este incremento se conoce como *potencial de acción* o *spike* y gracias a él se transmite la información nerviosa. Con los estímulos inhibidores ocurre un proceso análogo pero que, en lugar de despolarizar la neurona, la hiperpolariza.

El *potencial umbral* está asociado a cada canal iónico y determina la permeabilidad de la neurona a cada ión. Hasta hace poco tiempo se pensaba que era constante. Sin embargo, hay evidencias experimentales que indican que no lo es, dependiendo de los potenciales de acción anteriores [Azouz and Gray, 1999]. Muchas veces la llegada de un potencial de acción

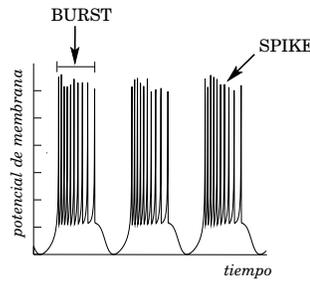


Figura 2.3: Ejemplo de comportamiento spiking-bursting. En la figura aparecen tres *bursts* (*trenes* o *ráfagas*), identificándose cada uno de los potenciales de acción o *spikes* que contienen

a una terminación axónica no implica la generación de uno en la neurona postsináptica. Sin embargo, si varios llegan en una ventana de tiempo pequeña (panel derecho de la Figura 2.2) puede ocurrir que su combinación si lo produzca. De ahí la importancia de la distribución temporal de los potenciales de acción.

### 2.2.5. Comportamiento neuronal

La diferencia de potencial de la membrana citoplasmática se utiliza para caracterizar el comportamiento neuronal. Si se representa gráficamente en el tiempo se obtiene el esquema de comportamiento de la neurona. Si éste se caracteriza por la alternancia entre potenciales de acción y periodos de relajación se dice que presenta un *comportamiento spiking*. Sin embargo, muchas veces los potenciales de acción no se presentan de forma aislada, sino que se agrupan en *trenes* o *ráfagas*, también denominados *bursts* (Figura 2.3). En este caso, se produce la combinación de una onda lenta (*bursts*) y una rápida (*spikes*). Cuando se produce este fenómeno, se dice que la neurona tiene un *comportamiento spiking-bursting*.

De todos los tipos de comportamiento que puede presentar una neurona, las que vamos a modelar en este estudio presentan variaciones del *comportamiento spiking-bursting* y el *comportamiento spiking*. Dentro de estos tipos de comportamientos puede haber modificaciones en la forma y fase en la que se presentan los potenciales de acción (regular, caótico, etc).

## 2.3. Codificación neuronal

El procesamiento de información en el sistema nervioso se debe realizar de forma rápida y eficiente. Para ello se utiliza un conjunto de *códigos* propios mediante los que se representan los estímulos que se reciben del exterior, las neuronas se envían información de unas a otras y se optimizan las capacidades de memoria y aprendizaje. La información nerviosa se transmite mediante sinapsis eléctricas y químicas, neuromoduladores, hormonas, etc, lo que hace difícil identificar una única unidad de información. En la gran mayoría de sistemas se puede asumir que los códigos neuronales se basan en la generación de potenciales de acción. Sin embargo, no está tan claro la forma en que éstos codifican la información. La naturaleza de la codificación neuronal ha sido motivo de debate durante mucho tiempo [Stevens and Zador, 1995, Ferster and Spruston, 1995, Nádasdy, 2000]. Típicamente, se

han descrito códigos neuronales basados en la *codificación espacial* o en la *codificación temporal* de la información o en una combinación de ambas (*codificación espacio-temporal*). Ambos tipos de codificación están muy relacionados y en ocasiones no se puede realizar una distinción clara entre ellas [Theunissen and Miller, 1995].

Tradicionalmente [Adrian, 1926] se ha pensado que para comunicarse las neuronas individuales utilizan códigos basados en el *ratio o frecuencia de disparo (rate codes)*, es decir, en el número de potenciales de acción que se producen por unidad de tiempo. En ellos el instante preciso en el que se producen los *spikes* no tiene ninguna importancia. Toda la información neuronal está contenida en la frecuencia instantánea del impulso nervioso. Sin embargo, estudios recientes han mostrado que las neuronas pueden usar otros mecanismos de codificación. Sus propiedades en muy raras ocasiones se mantienen constantes en el tiempo, tal y como asumen los paradigmas de codificación espacial. Esto ha hecho que poco a poco haya cobrado una mayor relevancia la *codificación temporal* [Bialek et al., 1991, Softky, 1995, Rieke et al., 1997, de Ruyter van Steveninck et al., 1997, Berry et al., 1997, Buracas et al., 1998]. Muchas veces, los *spikes* generados por algunas neuronas ante un mismo estímulo son muy precisos temporalmente, del orden de milisegundos [Berry et al., 1997, de Ruyter van Steveninck et al., 1997]. Los códigos temporales se basan en el instante preciso en el que se produce cada potencial de acción. Además, la generación de cada potencial de acción no siempre es independiente de la del resto, sino que está relacionada con la de los producidos anteriormente [Shadlen and Movshon, 1999, Nirenberg and Latham, 2003]. De esta forma, los patrones de disparo de las neuronas también podrían contener información para el receptor de la señal. Teniendo en cuenta estos dos factores, para la codificación temporal se han descrito códigos que utilizan la frecuencia instantánea de disparo o el tiempo preciso de ocurrencia de los potenciales de acción. De esta forma, los códigos temporales se basan en la *precisión* o en la *integración de secuencia*. En el primer caso, la información se codifica en la distribución temporal de los potenciales de acción. En el segundo, en el instante en el que cada uno de ellos se produce con respecto al anterior. La *codificación temporal* es un mecanismo que incrementa de forma muy significativa la capacidad de codificar información del sistema nervioso.

Se debe tener en cuenta que en el sistema nervioso las neuronas no trabajan de manera individual. Un grupo de neuronas puede tener un esquema de codificación diferente a la suma de los mecanismos de codificación individual. La *integración* de las neuronas mediante sus conexiones y la dinámica colectiva permiten utilizar paradigmas de codificación más complejos. Una gran cantidad de evidencias experimentales muestran la existencia de los llamados *códigos de población (population codes)* en los que grupos neuronas codifican información de forma colectiva [Georgopoulos et al., 1986, Fitzpatrick et al., 1997]. Este tipo de códigos pueden ser espaciales, temporales o espacio-temporales. En ellos los estímulos complejos se representan mejor de lo que lo hacen las neuronas individuales.

## 2.4. Tipos de movimiento

Las partes que constituyen el cuerpo de cualquier animal están en continuo movimiento. El encargado de controlar todos estos movimientos es el *sistema motor*, tanto si son movimientos externos (por ejemplo desplazarse) como si son internos (por ejemplo los aso-

ciados a los latidos del corazón). Cualquiera de los movimientos que realiza un animal se produce gracias a la acción de uno o varios músculos que interpretan y ejecutan las instrucciones enviadas por el cerebro. Teniendo esto en cuenta, el sistema motor puede dividirse en dos partes fundamentales que interactúan entre sí: el *sistema motor central* y el *sistema motor periférico*. Los componentes del sistema motor central pertenecen al sistema nervioso central (corteza cerebral, espina dorsal, cerebelo...) y son los encargados de controlar los movimientos. Los elementos del sistema motor periférico (músculos y nervios motores) son los encargados de realizar los movimientos indicados por el sistema motor central.

Los movimientos que puede realizar un animal se pueden agrupar en dos categorías en función de su voluntariedad: *movimientos voluntarios* y *movimientos involuntarios*. Los *movimientos voluntarios* son los asociados a acciones que se realizan sin un estímulo sensorial que las provoque. Un ejemplo de movimiento voluntario es coger un objeto. Estos movimientos son los más complejos de realizar. En la mayoría de las ocasiones implican (i) la realización de un plan de acción para alcanzar el objetivo, ya que éste se puede alcanzar de diversas formas, y (ii) la coordinación entre diferentes movimientos individual. Los movimientos voluntarios no son innatos. Por su parte, los *movimientos involuntarios* o *actos reflejos* pueden ser de dos tipos: *innatos* o *condicionados*. Los *movimientos innatos* son un tipo de movimiento que se realiza de forma instintiva, ya que forman parte del código genético de cada animal. Normalmente sirven para que el sistema nervioso central controle otras partes del cuerpo, por ejemplo el corazón. Por su parte, los *actos reflejos condicionados* son movimientos simples y rápidos respuesta a una entrada sensorial (estímulo). Por ejemplo, retirar la mano al tocar un objeto caliente.

## 2.5. Movimientos rítmicos

Gran cantidad de movimientos innatos requieren ciclos de actividad que se repiten en el tiempo. Este tipo de movimientos se denominan *movimientos rítmicos* y pueden ser externos (caminar) o internos (latidos del corazón). Para realizar un movimiento rítmico, los músculos que intervienen en él se contraen y/o expanden siguiendo una secuencia rítmica continua y repetitiva. Es fundamental coordinar la acción de cada uno de estos músculos para que actúen en el instante que les corresponde. El sistema nervioso realiza este control mediante la *generación de ritmos*. Éstos son patrones temporales, básicos para la actividad motora de cualquier animal, que se repiten durante el movimiento que coordinan. En la mayoría de los casos, las encargadas de generarlos son unas redes de interneuronas y motoneuronas denominadas *generadores centrales de patrones* que se explican en detalle en el siguiente apartado.

## 2.6. Generadores Centrales de Patrones, CPGs

Los *Generadores Centrales de Patrones* o *CPGs* (del inglés Central Pattern Generators) son pequeños sistemas neuronales integrados en ciertos ganglios. Aparecen en la mayoría de los animales, tanto vertebrados como invertebrados. Por ejemplo, en la espina dorsal humana hay una gran cantidad de CPGs que controlan y coordinan distintas actividades

motoras. El esquema de funcionamiento de todos los CPGs, independientemente del animal al que pertenecen, es el mismo. Son redes neuronales pertenecientes al sistema motor central, pequeñas y relativamente simples. Su principal misión es generar un patrón de actividad que controla un comportamiento motor rítmico que se repite en el tiempo en acciones como masticar, andar o nadar [Selverston, 1999]. Para generar este ritmo, las neuronas que los forman se comportan como osciladores dinámicos. Se trata de interneuronas y motoneuronas heterogéneas que trabajan conjuntamente para generar una señal regular. Las motoneuronas son las encargadas de producir la secuencia rítmica. Que sean heterogéneas significa que cuando están aisladas del resto presentan un comportamiento muy diferente unas de otras y muy diferente al que muestran cuando están conectadas. En este último caso, presentan una actividad rítmica y regular. Sin embargo, cuando están aisladas sinápticamente del resto, en la mayoría de los casos dejan de ser regulares, presentando algunas incluso un comportamiento caótico [Aihara and Matsumoto, 1986, Hayashi and Ishizuka, 1992, Elson et al., 1998, Varona et al., 2001]. Este cambio de comportamiento puede deberse a dos factores fundamentales, que en la mayoría de los casos se dan simultáneamente. Por un lado, suelen existir ciertas neuronas con un comportamiento regular, que actúan como *marcapasos* del sistema, a las que siguen el resto. Por otro, los CPGs suelen presentar propiedades redundantes, principalmente la conectividad de la red, que hacen que el comportamiento individual se regularice.

Los CPGs presentan dos características fundamentales que los hacen interesantes: son *autónomos* y *multifuncionales*. Que sean *autónomos* quiere decir que pueden comportarse correctamente sin estímulos sensoriales [Thoby-Brisson and Simmers, 1998, Golowasch et al., 1999]. Esto no significa que no necesiten ninguna influencia moduladora. La mayoría requiere la presencia de algún neuromodulador para comportarse correctamente. Que sean sistemas autónomos es un factor muy importante para explicar el origen y naturaleza de los ritmos que generan. Por su parte, que sean multifuncionales quiere decir que son sistemas dinámicos flexibles que pueden generar diferentes patrones de actividad estables. Los ritmos que generan las neuronas que los forman son capaces de controlar la actividad muscular de una forma coordinada y robusta bajo muy diversas circunstancias. El patrón de actividad que genera un CPG en un instante concreto depende de su entrada moduladora, o lo que es lo mismo, de la actividad sensorial en ese instante.

# Capítulo 3

## El ganglio estomatogástrico

En el capítulo 2 se ha explicado qué es un CPG (Generador Central de Patrones), indicando cuál es su misión, su estructura y su importancia para el control motor. En este capítulo se van a explicar en detalle dos de los existentes en el *sistema estomatogástrico de los crustáceos*. Además de las características de las neuronas que los forman y las conexiones que se establecen entre ellas, también se explicarán las de los ritmos que generan y la misión de cada uno de ellos. El *CPG pilórico* va a ser el que se va a modelar en el estudio presentado en el capítulo 4. El *gástrico* se describe detalladamente porque las conexiones que se establecen entre él y el pilórico van a ser significativa para las conclusiones de nuestro análisis. Antes de centrarse en los CPGs, se va a explicar cuál es la misión del sistema estomatogástrico de los crustáceos y de los órganos que controla.

### 3.1. Introducción

La estructura y el comportamiento de los CPGs se han estudiado en muchos animales: el cllone [Arshavsky et al., 1985a, Arshavsky et al., 1985b, Arshavsky et al., 1985c], la sanguijuela [Brodfuehrer et al., 1995], el tritonia [Katz et al., 1994], etc. Pero los mejor conocidos son los del *ganglio estomatogástrico* (STG, del inglés STomatogastric Ganglion) de los crustáceos decápodos [Hartline and Maynard, 1975, Hartline and Gassier, 1979, Selverston and Moulins, 1987, Harris-Warrick et al., 1992]. Éstos CPGs comenzaron a estudiarse hace más de 40 años. Entre los crustáceos decápodos se encuentran las langostas, algunos cangrejos y las gambas y langostinos. Los más usados en estudios neuronales son la langosta californiana (*Panulirus interruptus*) y el cangrejo de mar (*Cancer borealis*).

El sistema estomatogástrico de los crustáceos está formado por distintos tipos de órganos. Entre ellos se encuentran unos sistemas neuronales que se encargan de controlar los músculos que intervienen en los movimientos asociados a la ingestión y procesamiento de la comida durante parte del proceso alimenticio del animal (esófago y estómago). Dentro de estos elementos neuronales está el STG. Algunos de los músculos del sistema estomatogástrico realizan movimientos que se deben coordinar y repetir de forma periódica, lo que implica la generación de distintos patrones rítmicos de actividad. Estos ritmos están íntimamente relacionados entre sí. Dos de ellos los generan dos CPGs cuyas neuronas pertenecen al STG: el *CPG gástrico* y el *CPG pilórico*.

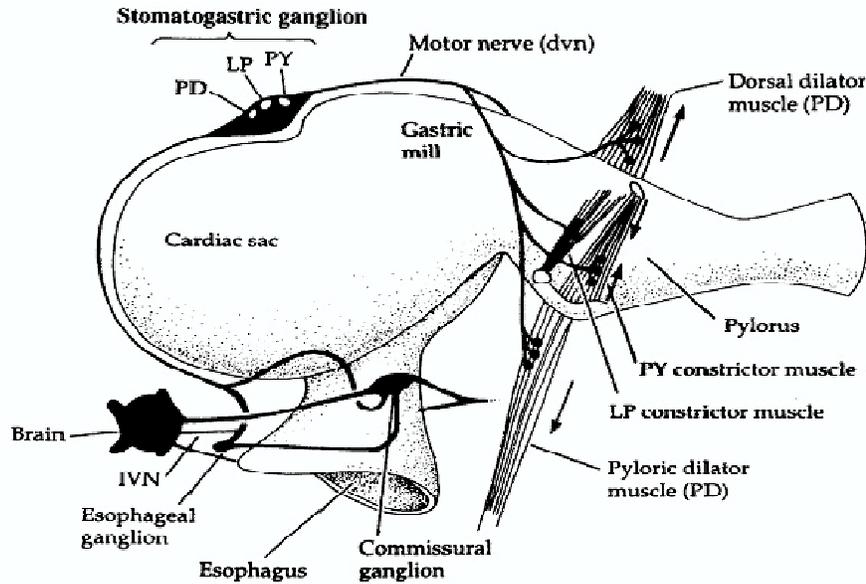


Figura 3.1: Esquema del *sistema estomatogástrico* de una langosta. El estómago se divide en tres partes: el saco cardíaco (*cardiac sac*), la muela gástrica (*gastric mill*) y el píloro (*pylorus*). Además la figura muestra los músculos que realizan los movimientos del píloro (derecha) y las neuronas (LP, PD y PY), pertenecientes al *STG*, que los coordinan y controlan. Estas neuronas están conectadas al cerebro a través de los ganglios comisurales y el ganglio esofágico.

Una de las principales razones por las que este sistema se conoce de una forma tan detallada es que es relativamente sencillo aislarlo y alterarlo, tanto *in vivo* como *in vitro* [Mulloney and Selverston, 1974, Bidaut, 1974, Marder and Eisen, 1984]. Estas preparaciones contienen las neuronas y los músculos que se quieren estudiar en cada caso. Además, toda su entrada moduladora llega a través de un único nervio que, a lo sumo, contiene 130 axones, lo que es un número muy pequeño si se compara con los existentes en otras redes neuronales.

## 3.2. El sistema estomatogástrico

El tubo digestivo de los crustáceos se divide en tres partes: la anterior (*foregut*), la media (*midgut*) y la posterior (*hindgut*). El sistema estomatogástrico contiene los huesos, los músculos y las partes del sistema nervioso que intervienen en la ingestión y procesamiento de comida en la parte anterior del tubo digestivo, formada por el *esófago* y el *estómago*. El proceso controlado por este sistema comienza cuando la comida pasa de la boca al esófago. Éste es un conducto que la lleva desde el exterior del animal a su estómago. La comida llega al estómago tal cual es ingerida, ya que la masticación en los crustáceos es interna. La comida no se mastica en la boca antes de ser tragada, se mastica en el estómago después de la ingestión.

El estómago de los crustáceos está dividido en tres partes (Figura 3.1): el *saco cardíaco* (*cardiac sac*), la *muela gástrica* (*gastric mill*) y el *píloro* (*pylorus*). El saco cardíaco es la región a la que llega la comida desde la boca. Aquí se mezcla con los jugos gástricos mientras espera a ser macerada. Del saco cardíaco, el bolo alimenticio pasa a la muela gástrica, que es

la región en la que se produce la masticación gástrica. La muela gástrica está formado por dos dientes laterales y un diente medio que, junto con las secreciones hepatopancreáticas, reducen la comida a pequeñas partículas que pasan a través de la válvula cardiopilórica a la cámara pilórica. Aquí, las partículas son separadas mediante el filtro pilórico saliendo definitivamente del estómago. Los músculos que intervienen en todos estos procesos están inervados por neuronas del sistema nervioso estomatogástrico.

Para que el sistema se comporte correctamente se deben producir diferentes patrones rítmicos de actividad. Estos ritmos dirigen y coordinan la contracción de grupos de músculos que en ocasiones deben contraerse simultáneamente y otras en oposición. Existe un ritmo esofágico que permite al animal ingerir la comida, llevándola, mediante movimientos peristálticos, desde la boca al estómago. Hay un ritmo, lento e irregular, en el saco cardiaco que lleva la comida a la muela gástrica. Pero los ritmos más interesantes son el *gástrico* y el *pilórico* que se explican en detalle más adelante. Cada uno de estos cuatro ritmos están controlados y generados por diferentes neuronas.

Todas las neuronas del sistema nervioso estomatogástrico se localizan en cuatro ganglios (Figura 3.1): dos *ganglios comisurales* (*COGs*, del inglés COmmissural Ganglion), el *ganglio esofágico* (*OG*, del inglés Oesophageal Ganglion) y el *ganglio estomatogástrico* (*STG*, del inglés STomatogastric Ganglion). Aquí nos vamos a centrar en este último, estudiando algunas de las propiedades de los ritmos que genera. Toda la información de control enviada por el cerebro llega al sistema estomatogástrico a través del OG, ya que es la única parte del sistema conectada directamente al cerebro. En el OG existen motoneuronas e interneuronas. Por su parte, los COGs sólo contienen interneuronas que envían la información proveniente del OG al STG. Estos ganglios están conectados a las interneuronas de los CPGs del STG mediante el nervio estomatogástrico.

### 3.3. Esquema neuronal del STG

#### 3.3.1. Neuronas del STG

Todos los crustáceos presentan una arquitectura neuronal muy parecida en el STG. Éste controla aproximadamente 40 pares de músculos y consta de 31 neuronas (ambos varían entre especies). Es probablemente el único sistema neuronal en el que se han identificado todas las neuronas que lo componen y se conocen todas sus conexiones (en la *langosta Panulirus interruptus*). La mayoría de estas neuronas son motoneuronas (25) y sólo una pequeña parte de ellas son interneuronas (2). Algunas de las neuronas del STG forman dos grupos neuronales que trabajan de forma aislada pero que se comunican entre sí para coordinarse en la generación de dos patrones de actividad responsables de controlar distintos movimientos rítmicos. Cada una de estas subredes es un CPG: el *CPG gástrico* y el *CPG pilórico*.

Las motoneuronas del STG inervan músculos del saco cardiaco, de los dientes gástricos, de la válvula cardiopilórica y del píloro. Para controlar correctamente estos músculos, el STG debe recibir información de otras componentes del sistema nervioso central. Toda esta información le llega a través de un único nervio, denominado *nervio estomatogástrico* (*stn*), que le une con el resto del sistema nervioso central del animal. Todas las interneuronas del

STG están conectadas al *stn* para recibir la entrada central, ya que ésta es la entrada primaria del sistema. Si éste se bloquea cesa toda la actividad del ganglio. Sin embargo, además de la entrada primaria a través del *stn*, el STG también recibe información a través de una serie de nervios periféricos que le devuelven feedback de la actividad generada en ciclos rítmicos anteriores.

### 3.3.2. Sinapsis graduales

Entre las neuronas de los CPGs pilórico y gástrico del STG se pueden producir sinapsis químicas, tanto excitatorias como inhibitorias, y sinapsis eléctricas. En las químicas se da una característica especial que se debe tener en cuenta a la hora de modelarlas. Las conexiones químicas son *conexiones graduales*. Este tipo de conexión es más común en sistemas con neuronas en las que no se producen potenciales de acción [Roberts and Bush, 1981, Pearson and Fourtner, 1975]. Lo que diferencia estas conexiones de las no graduales es que en ellas no sólo se liberan neurotransmisores en el momento en el que se produce un potencial de acción. También existe transmisión nerviosa (aunque de una menor intensidad) durante la oscilación lenta.

## 3.4. El CPG gástrico

La masticación en los crustáceos es interna. Los encargados de realizarla son los dientes laterales y el diente medio de la muela gástrica. Para ello realizan una serie de movimientos rítmicos. El ritmo gástrico, generado por el CPG gástrico, es el encargado de controlar los movimientos de los dientes estomacales. Este CPG es un sistema neuronal muy estudiado, lo que hace que su estructura y funcionalidad se conozcan muy detalladamente [Mulloney and Selverston, 1974, Selverston and Mulloney, 1974, Hartline and Maynard, 1975, Hartline and Gassier, 1979, Selverston and Moulins, 1987, Harris-Warrick et al., 1992].

El CPG gástrico consta de una interneurona (INT1) y 10 motoneuronas (LG, MG, DG, AM, dos LPGs y cuatro neuronas GMs). Las dos LPGs están acopladas eléctricamente, por lo que su actividad está sincronizada. Lo mismo ocurre con las cuatro neuronas GMs y los pares LG-MG y DG-AM. No se va a describir la arquitectura de este circuito, ya que, inicialmente, ésta no va a ser relevante para nuestro estudio.

En ausencia de entrada moduladora en el CPG, las neuronas LG, MG, DG y AM están en silencio. Sin embargo, bajo ciertas condiciones moduladoras se genera el ritmo gástrico. En la parte izquierda de la Figura 3.2 se muestra un esquema de este ritmo. Consiste en la alternancia entre los *bursts* de actividad, por este orden, de las neuronas GMs, el par LG-MG, el par DG-AM y las LPGs, estando en silencio cuando hay otro grupo activo. El resultado de este patrón es el movimiento rítmico de los dientes gástricos. La comida es triturada, en cada ciclo, mediante el acercamiento y separación de los dientes laterales, controlados por las neuronas LG, MG y LPGs, y el movimiento hacia arriba y hacia abajo entre los dientes laterales del diente medio, controlado por las neuronas DG y GMs.

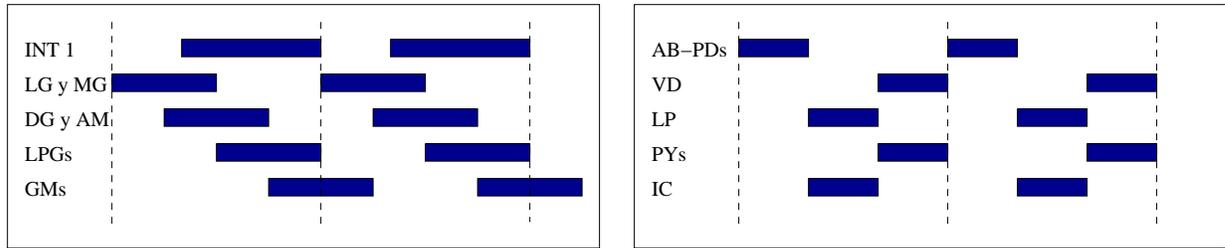


Figura 3.2: Patrón rítmico de impulsos generados por el CPG gástrico (izquierda) y el CPG pilórico (derecha). La duración de la actividad de cada neurona está representada por la duración de cada bloque. Esta duración no coincide con la registrada en los CPGs biológicos. El ritmo gástrico es el que controla el movimiento de los dientes de la muela gástrica durante el proceso de masticación. Consiste en la alternancia de disparo de cuatro grupos de neuronas (LG-MG, DG-AM, LPGs y GMs, la neurona INT1 es una interneurona de control). El ritmo pilórico es el que controla los movimientos de los músculos del píloro. Consiste en la alternancia de disparo de tres grupos de neuronas (AB-PDs, LP-IC y PYs-VD). Las líneas discontinuas marcan el comienzo de un ciclo y el final del anterior.

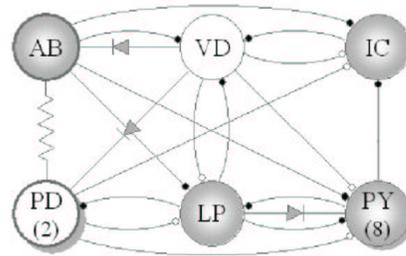


Figura 3.3: Conectividad entre las neuronas del CPG pilórico de la langosta. Las dos neuronas PD y las ocho PY se representan por simplicidad como una única neurona.

### 3.5. El CPG pilórico

El píloro actúa como un filtro que regula la salida de la comida del estómago. Para ello se abre y se cierra periódicamente, lo que requiere que los músculos pilóricos se activen rítmicamente. Estos movimientos los coordina el CPG pilórico mediante el ritmo pilórico.

El CPG pilórico consta de 14 neuronas (Figura 3.3), trece motoneuronas (dos PDs, LP, ocho PYs, VD e IC) y una sola interneurona (AB). Entre ellas se establecen dos tipos de sinapsis: eléctricas y químicas. Las eléctricas acoplan las neuronas que conectan. Por su parte, todas las sinapsis químicas son inhibitorias graduales, algunas de ellas lentas y otras rápidas.

El ritmo pilórico se divide en tres fases de actividad por lo que es conocido como *ritmo trifásico* (Figura 3.2, derecha). Cada ciclo del ritmo pilórico comienza con el disparo de las neuronas AB y PDs. Estas tres neuronas inhiben directamente al resto, lo que hace que actúen como un marcapasos. Por esta razón se denominan *grupo marcapasos* (*pacemaker group*). Cuando el grupo marcapasos deja de disparar se pasa a la segunda fase, en la que se excitan las neuronas LP e IC. Durante las ráfagas de éstas, el grupo PYs-VD está inhibido. Por último, en la tercera fase, disparan las neuronas PYs y la neurona VD, silenciándose las neuronas LP e IC. En la primera fase de cada ciclo se contraen simultáneamente los músculos dilatadores dorsales (Figura 3.1). Esto hace que la cámara pilórica se dilate y se abra la válvula cardiopilórica. En la segunda fase, se contraen los músculos constrictores anteriores

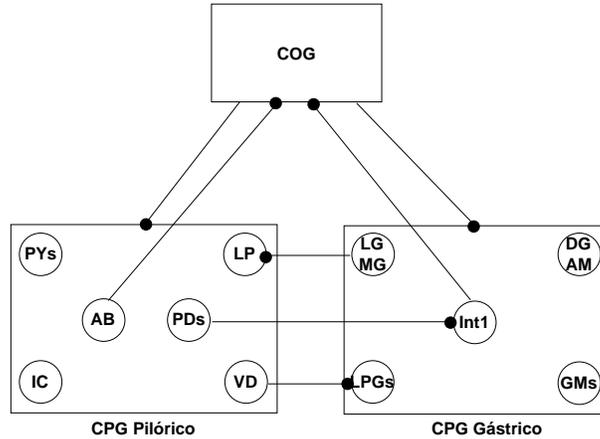


Figura 3.4: Mecanismos de comunicación, tanto directos como indirectos, a través de los ganglios comisurales (COGs), entre las neuronas de los CPGs pilórico y gástrico. Las conexiones que se establecen entre las neuronas de los COGs y de los CPGs, en ambos sentidos, dependen de la especie. Por ello, en la figura se muestran de forma genérica entre los sistemas neuronales entre los que se producen. En la figura no se muestran las conexiones entre las neuronas de un mismo CPG.

que hacen que la región anterior de la cámara se contraiga y la válvula cardiopilórica se cierre. Finalmente, en la tercera fase se produce la contracción de los músculos constrictores posteriores que hacen que se contraiga la región posterior de la cámara.

### 3.6. Interacción entre el CPG gástrico y el pilórico

Los CPGs gástrico y pilórico están conectados entre sí debido a que los ritmos que generan controlan músculos que deben actuar de forma coordinada. De ahí que los ritmos que los dirigen también deban coordinarse. Las conexiones que se establecen entre sus neuronas hacen que cada CPG reciba información del comportamiento del otro y adapte el suyo a éste. Estas conexiones dependen de la especie, pero las principales son [Selverston and Moulins, 1987]:

- Conexión eléctrica entre la neurona pilórica VD y las gástricas LPGs.
- Conexión química inhibitoria entre la neurona gástrica LG y la pilórica LP.
- Conexión química inhibitoria entre las neuronas pilóricas PDs y la gástrica Int1.

Además de estas conexiones directas entre neuronas de los dos CPGs existe un mecanismo externo para que los dos ritmos se coordinen (Figura 3.4). Toda la entrada central de los CPGs del STG llega a ellos a través del nervio estomatogástrico. Este nervio permite que un conjunto de neuronas de los COGs (dependen del crustáceo) envíen una entrada excitatoria a las motoneuronas del STG. Pero también sirve para que los COGs reciban feedback inhibitorio de los CPGs a través de las neuronas Int1 y AB. Esto supone un mecanismo adicional de comunicación e integración de ambos CPGs.

# Capítulo 4

## Firmas neuronales individuales en el CPG pilórico

### 4.1. Introducción

Existe una gran cantidad de ejemplos de redes neuronales oscilatorias cuyo comportamiento se caracteriza por la generación de ráfagas de potenciales de acción o *bursts*. Muchas de ellas se han estudiado en detalle, pero los CPGs son los que han recibido una mayor atención. Las neuronas que los forman son neuronas oscilatorias, generalmente con comportamiento *spiking-bursting* regular (Figura 2.3), al menos cuando están interconectadas. De todos ellos, el CPG pilórico del sistema estomatogástrico de los crustáceos es uno de los más estudiados y mejor conocido (capítulo 3).

Hasta hace poco tiempo, se pensaba que la estructura temporal de los potenciales de acción dentro de los *bursts* no era importante para caracterizar el comportamiento de este CPG. Esto se debía principalmente a dos factores. Por un lado, sus neuronas son capaces de generar un patrón rítmico formado sólo por una onda lenta sin potenciales de acción [Graubard, 1978, Raper, 1979, Elson et al., 2001]. Por otro, los músculos que coordina son músculos lentos. Estos dos hechos han hecho pensar que en su control sólo intervenía la actividad *bursting*, también conocida como *dinámica* u *onda lenta*. Por similitud entre ellos, esta conclusión se ha extendido a otros sistemas con el mismo tipo de comportamiento.

La mayoría de los estudios realizados con CPGs se centran en la onda lenta. La estructura interna de los potenciales de acción dentro de las ráfagas ha recibido una menor atención. Por ejemplo, en el CPG pilórico, se conoce de manera muy detallada los tipos de conexión que se establecen entre sus neuronas [Selverston and Moulins, 1987], los factores biofísicos y neuromodulatorios que determinan el comportamiento de la red [Ayali and Harris-Warrick, 1999, Nadim et al., 1999, Nusbaum et al., 2001, Swensen and Marder, 2001] y las relaciones de fase entre las neuronas que la forman [Hooper, 1997]. Sin embargo, experimentos recientes han revelado la existencia de unas estructuras temporales características en la actividad *spiking*, también conocida como *dinámica* u *onda rápida*, de las neuronas del CPG pilórico de la langosta [Szücs et al., 2003]. Estas estructuras se conocen como *firmas neuronales individuales*, ya que son específicas de cada célula y permiten identificarlas de forma única cada vez que dis-

paran. También se ha demostrado que la dinámica rápida (estructura interna de las ráfagas de potenciales de acción) puede determinar la respuesta motora de los músculos en determinadas circunstancias [Hooper and Weaver, 2000, Brezina et al., 2000, Morris et al., 2000]. Estos últimos descubrimientos sugieren que la estructura temporal de los potenciales de acción en cada ráfaga podría ser más importante de lo que se ha pensado hasta el momento.

Las corrientes iónicas de las neuronas del CPG pilórico son específicas de cada neurona (D.K. Hartline y K. Graubard: *Cellular and synaptic properties in the crustacean stomatogastric nervous system* [Harris-Warrick et al., 1992]). Estudiándolas en detalle, se pueden identificar de forma unívoca. Esto sugiere que en el comportamiento neuronal existe cierta propiedad, característica de cada neurona, que indica cuál es su modo de funcionamiento en un instante dado. Esta propiedad podría ser la firma individual. Biológicamente hablando, existen muchas preguntas relativas a ellas que aún no tienen respuesta. Se sabe que existen, pero no si tienen algún significado funcional para el sistema. Se desconoce cuál es su origen. Tampoco se sabe cuáles son los mecanismos que hacen que aparezcan diferencias en la firma de una misma neurona en distintos instantes de tiempo. Como se ha dicho anteriormente, algunos músculos pueden adaptar su nivel de contracción a la estructura temporal de las ráfagas de potenciales de acción que reciben de las motoneuronas que los controlan [Hooper and Weaver, 2000, Brezina et al., 2000, Morris et al., 2000]. Sin embargo, no está claro si las firmas neuronales pueden formar parte de los mensajes de control que reciben los músculos. También se desconoce si las neuronas con comportamiento *spiking-bursting* presentan mecanismos que les permitan codificar información en la estructura temporal de los *spikes* enviados a otras neuronas, tal y como ocurre en otros sistemas con actividad *spiking* [Chacron et al., 2001].

Si las firmas neuronales son un mecanismo de codificación temporal de información, pueden tener importantes implicaciones en el origen de los ritmos, en su rápida respuesta a la actividad moduladora y en las diferentes respuestas de los músculos ante ritmos aparentemente similares. Pero además, de ser factible esta codificación, también puede plantearse su uso en el diseño de nuevos algoritmos de redes neuronales artificiales y algoritmos de aprendizaje. Sin embargo, antes de usarlas en este tipo de sistemas, hay que comprender su significado en los circuitos biológicos. Éste es el objetivo de nuestro estudio. Utilizando distintos modelos de CPG y de neurona individual, vamos a intentar dar respuesta (respuestas que deberán validarse posteriormente en el laboratorio) a algunas de las preguntas referentes a las firmas neuronales. Aquí nos vamos a centrar en las siguientes preguntas:

- ¿Cuál es el origen de las firmas neuronales individuales?
- ¿Qué influencia tienen, tanto intrínseca como extrínsecamente, en el comportamiento de los sistemas en los que aparecen?

## 4.2. Firmas neuronales individuales

Un *intervalo entre spikes*, conocido como *ISI* (del inglés *InterSpike Interval*), es el intervalo de tiempo que transcurre desde que una neurona genera un potencial de acción hasta que produce el siguiente. Utilizando preparaciones *in vitro*, se ha descubierto que,

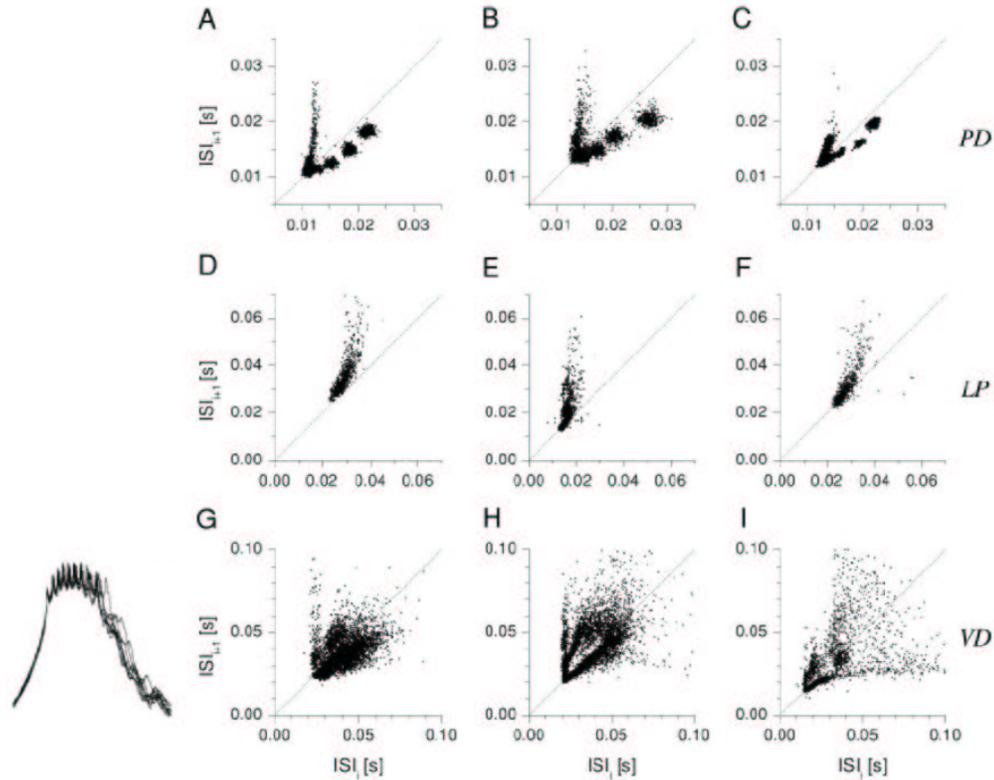


Figura 4.1: Panel izquierdo: Superposición de diez ráfagas consecutivas de la neurona LP en una preparación *in vitro*. Se ha hecho coincidir el primer potencial de acción de cada una de ellas para comprobar la precisión de su distribución temporal en diferentes *bursts*. La estructura temporal de los *spikes* es la misma (o muy similar) en *bursts* diferentes. Panel derecho: Distribuciones temporales de los potenciales de acción (firmas) de tres neuronas del CPG pilórico representadas como mapas de retorno de ISIs. Los superiores pertenecen a la neurona PD, los centrales a la LP y los inferiores a la VD. Visualmente se puede distinguir las similitudes de las firmas de una misma neurona y las diferencias en las de neuronas distintas. Datos registrados por Attila Szücs, INLS, San Diego [Szücs et al., 2003].

simultáneamente a la generación del ritmo trifásico, los ISIs de las neuronas del CPG pilórico de la langosta presentan una distribución temporal característica [Szücs et al., 2003]. De ahí que estas distribuciones temporales reciban el nombre de *firmas neuronales*. Cada neurona tiene su propia firma, fácilmente reproducible y reconocible en diferentes preparaciones, tal y como muestra la Figura 4.1.

Existen muchas formas de representar gráficamente la firma de una neurona. Dependiendo de cada caso, aquí vamos a usar dos de las más utilizadas, los *histogramas* [Parzen, 1962, Sanderson and Kobler, 1976] y los *mapas de retorno de ISIs* [Dekhuijzen and Bagust, 1996, Segundo et al., 1998, Kepecs and Lisman, 2003, Izhikevich et al., 2003, Szücs et al., 2003]. Los histogramas dividen el eje X en intervalos de tiempo discretos, representando en el eje Y el porcentaje de ISIs cuya duración está dentro de cada uno de ellos. Este tipo de representación muestra la distribución de probabilidad de los ISIs. Esto permite medir la regularidad o dispersión de los potenciales de acción en función de la concentración en cada región. Por su parte, en los mapas de retorno de ISIs se muestra el  $ISI_n$  frente al  $ISI_{n+1}$  (las firmas de la Figura 4.1 están representadas con mapas de retorno de ISIs). Esto permite visualizar la forma en que se generan los potenciales de acción en cada ráfaga.

### 4.3. Origen de las firmas neuronales

La primera pregunta que nos planteamos con respecto a las firmas neuronales es saber cuál es su origen. Se ha descubierto su existencia, pero se desconocen los mecanismos que hacen que aparezcan. Dos de los factores que más influyen en el comportamiento de una red neuronal son la arquitectura de sus conexiones y la dinámica individual de las neuronas que la forman. Por este motivo, vamos a estudiar la dependencia de las firmas neuronales con ambos. Se van a construir dos modelos de CPG pilórico inspirados en el circuito real, en los que el comportamiento de las células que los forman se va a definir usando distintos modelos. Todos los modelos neuronales utilizados tienen en común un comportamiento dinámico muy rico y variado. Parte de este estudio se ha publicado en [Latorre et al., 2002].

#### 4.3.1. Modelos de neurona y de red

##### Modelos neuronales individuales

Para modelar el comportamiento de las neuronas del CPG pilórico de forma realista, se debe utilizar modelos neuronales que presenten un comportamiento *spiking-bursting* parecido al de las neuronas del circuito real. Para comprobar la generalidad de los resultados obtenidos y para determinar la dependencia de las firmas de la dinámica individual de cada neurona, hemos utilizado tres modelos diferentes: el de Komendantov-Kononenko (KK) [Komendantov and Kononenko, 1996], una modificación del de Hindmarsh-Rose (HR) [Hindmarsh and Rose, 1984, Selverston et al., 2000, Pinto et al., 2000, Szücs et al., 2000] y el de Huerta et al. [Huerta et al., 2000]. Las ecuaciones que describen la dinámica de cada uno de ellos se muestran en el Apéndice A.

Los modelos de Komendantov-Kononenko y de Hindmarsh-Rose tienen una dinámica individual muy rica, lo que les permite mostrar una gran variedad de comportamientos. Ambos pueden generar una actividad muy similar a la de las neuronas del CPG pilórico cuando están aisladas [Elson et al., 1998, Varona et al., 2001]. Aunque el modelo de Huerta et al. también puede generar este tipo de actividad, ésta no ha sido la razón por la que hemos decidido utilizarlo. Este modelo presenta dos características interesantes para nuestro estudio (al menos en el tipo de comportamiento usado en las simulaciones): la *precisión* y la *regularidad*. Las ráfagas que genera son muy precisas y la dispersión de los potenciales de acción dentro de ellas es muy pequeña. Esto significa que el instante en el que se van a producir ambos es muy predecible. El uso de este modelo va a permitir estudiar si neuronas que de forma individual tienen un comportamiento muy similar y preciso, son capaces de generar una firma identificativa diferente cuando se unen para formar un CPG.

Los tres modelos pueden presentar diversos tipos de comportamiento en función de los valores elegidos para sus constantes (ver Apéndice A). Aquí sólo se va a utilizar algunos de ellos. Con las neuronas KK, los comportamientos *spiking-bursting* regular, *spiking-bursting* caótico y *spiking* caótico. Con HR, el *spiking-bursting* regular y el *spiking-bursting* caótico. Y con Huerta et al. sólo se usará el comportamiento *spiking-bursting* regular por las razones expuestas en el párrafo anterior. En la Figura 4.2 se muestra un serie temporal y la firma neuronal de una neurona aislada con cada uno de los comportamientos indicados.

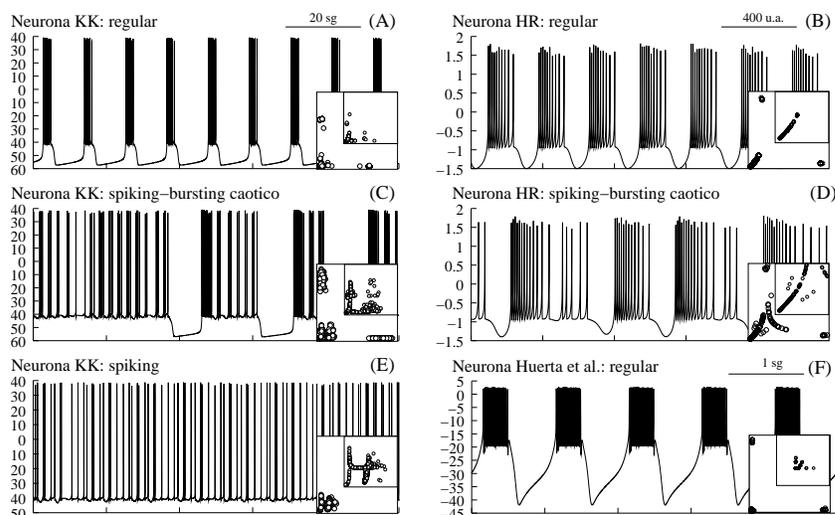


Figura 4.2: Fragmento de simulaciones, con neuronas KK, HR y Huerta et al., con los distintos tipos de comportamiento que se van a utilizar para modelar las neuronas del CPG pilórico. Las unidades son sg y mV para KK y Huerta et al., y están dimensionadas para HR. Las firmas de neuronas aisladas con estos comportamientos se muestran como mapas de retorno de ISIs junto con la serie temporal. El tamaño de los ejes de estos mapas es 14 sg para KK, 160 unidades arbitrarias (u.a.) para HR y 700 msg para Huerta et al. El cuadro que se muestra dentro de cada firma muestra en detalle la región más cercana al origen de los ejes en el mapa de retorno. Ésta es la zona que, más adelante, se comparará con la equivalente en las firmas de las neuronas de los modelos de CPG. En este caso, el tamaño de los ejes es de 4 sg, 50 u.a. y 40 msg para las neuronas KK, HR y Huerta et al. respectivamente. Los parámetros utilizados para obtener estos datos son los que se muestran en la tabla 4.3 del Apéndice A.

### Modelos de red del CPG pilórico

El CPG pilórico está formado por 14 neuronas: una AB (*anterior buster*), dos PDs (*pyloric dilator*), una LP (*lateral pyloric*), una IC (*inferior cardiac*), una VD (*ventricular dilator*) y ocho PYs (*pylorics*). Para hacer el análisis más sencillo, en nuestros modelos de red el circuito se va a simplificar (Figura 4.3). En ellos sólo se van a incluir las neuronas significativas para el estudio de las firmas. Para representar las ocho neuronas PYs se va a utilizar una única célula, ya que todas ellas están acopladas eléctricamente. Además, se ha omitido la acción de las neuronas IC y VD, ya que no inervan los músculos del píloro y no forman parte del ritmo trifásico característico del CPG pilórico. De esta forma, nuestros circuitos están formados por cinco células: una AB, dos PDs, una LP y una PY.

Los dos circuitos de la Figura 4.3 están formados por dos subcircuitos. El primero es el *grupo marcapasos*, formado por la neurona AB y las dos neuronas PD. El resto de células del CPG van a seguir a las de este grupo para generar el ritmo. El segundo subcircuito es el encargado de producir el ritmo trifásico característico del CPG pilórico (ver capítulo 3). El grupo marcapasos forma parte de esta red como una única neurona, ya que las tres neuronas que lo forman están acopladas eléctricamente (ver más abajo). A la neurona única que representa al grupo marcapasos en este subcircuito la llamaremos neurona AB/PD. En la subred AB-PD1-PD2 todas las neuronas están interconectadas mediante conexiones eléctricas simétricas [Elson et al., 1998, Varona et al., 2001]. Como consecuencia de estas conexiones, todas ellas están acopladas eléctricamente y su actividad está sincronizada. Por su parte, en la red AB/PD-LP-PY sólo hay conectividad química.

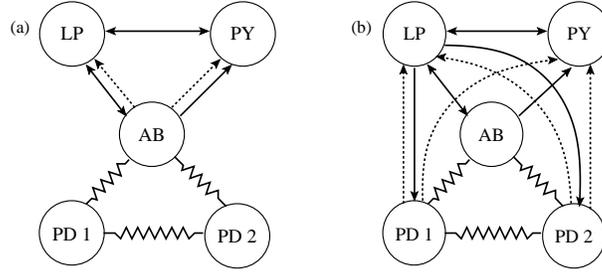


Figura 4.3: Circuitos utilizados para modelar el CPG pilórico. Las resistencias representan conexiones eléctricas, las líneas de puntos conexiones químicas lentas y las sólidas conexiones químicas graduales rápidas. Los dos circuitos están formados por dos subcircuitos: el grupo marcapasos (AB-PD1-PD2) y el formado por el grupo marcapasos como una neurona única y las neuronas LP y PY. En el texto, el circuito (a) se va a denominar *circuito reducido* y el (b) *circuito completo*.

Para validar que los circuitos se comportan correctamente en las simulaciones, hay que comprobar que todas las neuronas de la red AB-PD1-PD2 están sincronizadas y que las de la red AB/PD-LP-PY generan un ritmo trifásico válido: primero dispara la neurona AB (que utilizaremos como representante del grupo marcapasos), después la neurona LP y por último la neurona PY, volviéndose a repetir el ciclo.

La diferencia entre las dos topologías de red de la Figura 4.3 es la forma en la que se conectan las dos subredes que las forman. En el caso del circuito de la Figura 4.3a existe un único punto de unión, la neurona AB. Ésta envía y recibe señales de las dos subredes. Aunque en el CPG biológico no se da alguna de estas conexiones, esta simplificación se suele utilizar frecuentemente como consecuencia de la sincronización de las neuronas AB y PDs. Por su parte, el circuito de la Figura 4.3b es un circuito más realista. En este caso, (i) las neuronas PD son la componente presináptica de las conexiones químicas lentas entre el grupo marcapasos y las neuronas de la red AB/PD-LP-PY [Selverston and Moulines, 1987, Golowasch et al., 1999] y (ii) la neurona LP está conectada a las dos neuronas PD mediante conexiones químicas rápidas. Al primer circuito le denominaremos *circuito reducido* y al segundo *circuito completo*.

Para realizar nuestro estudio simularemos los dos modelos de red de la Figura 4.3 con los tres modelos neuronales presentados en la sección anterior. Además, también utilizaremos versiones *dañadas* de ambos circuitos en las que eliminaremos las conexiones químicas lentas. De esta forma, podremos analizar la influencia (i) del modelo de comportamiento de las neuronas individuales y (ii) de la arquitectura de la red en la firma de cada una de las neuronas del CPG.

## Modelos de sinapsis

Dado que en el CPG pilórico existen diferentes tipos de conexiones entre neuronas, hemos utilizado distintos modelos de sinapsis para determinar la corriente sináptica total que recibe una neurona en un instante dado ( $I_{syn}$ ). En los dos circuitos de la Figura 4.3, existen conexiones eléctricas y conexiones químicas. A su vez, estas últimas pueden ser conexiones rápidas o lentas. Por ello, en los modelos, la corriente sináptica tendrá una componente debida a cada uno de los tres posibles tipos de conexión, respectivamente,  $I_{elec}$ ,  $I_{fast}$  e  $I_{slow}$ . Las ecuaciones que describen estas conexiones se muestran en el Apéndice B.

### 4.3.2. Comportamiento de las neuronas individuales

Los fisiólogos han detectado que la neurona AB siempre muestra un comportamiento regular, incluso cuando está aislada del resto de neuronas. Por el contrario, las observaciones experimentales muestran que las demás neuronas del CPG pilórico aisladamente son irregulares. Su comportamiento lo regulariza la actividad conjunta de la red para producir el ritmo. Para que los modelos sean realistas, las neuronas que los forman aisladamente también deben cumplir estas propiedades. Teniendo esto en cuenta, en las simulaciones con neuronas KK y HR se van a ajustar los parámetros de los modelos de tal forma que todas las células aisladamente van a tener una actividad *no regular*, a excepción de la neurona AB que la va a tener *regular*. Con el modelo KK se va utilizar (i) un comportamiento *spiking* para la neurona PY y una de las neuronas PD y (ii) uno *spiking-bursting* caótico para la otra neurona PD y la neurona LP. Por su parte, con el modelo HR en todas las células, menos en la neurona AB, hemos usado un comportamiento *spiking-bursting* caótico. Además, en ambos casos, en la neurona AB se utilizan parámetros que hacen que tenga una actividad regular. Estas restricciones no se tienen en cuenta con el modelo de Huerta et al. porque, como se ha comentado anteriormente, el objetivo de utilizar este modelo es determinar cómo afecta la conectividad de la red a la firma de neuronas que aisladamente presentan el mismo comportamiento individual. En este caso todas las neuronas van a tener un comportamiento regular. La Figura 4.2 muestra fragmentos de series temporales con los comportamientos indicados para cada modelo. Los parámetros para conseguir este tipo de actividad se muestran en el Apéndice A.

### 4.3.3. Resultados

En todas las simulaciones presentadas, los circuitos de la Figura 4.3 se comportan de forma regular aunque sus neuronas no tengan este comportamiento cuando están aisladas. En este contexto, esto quiere decir que el tamaño de las ráfagas generadas por las células que forman los circuitos es constante. Al establecer las conexiones entre ellas, los modelos de red producen un *ritmo trifásico* con la misma relación de fase entre la actividad de sus neuronas (Figura 4.4) que la dada en el ritmo generado por el CPG biológico. Al igual que en este último, las ráfagas y los potenciales de acción son muy precisos (Tabla 4.1). Esto ocurre con independencia de la topología de la red y del modelo de neurona utilizado.

La Figura 4.5 muestra las firmas de las neuronas de los circuitos de la Figura 4.3 en las simulaciones realizadas. Aquí estamos interesados en el estudio de la regularidad de la distribución de los potenciales de acción dentro de una misma ráfaga y no en ráfagas consecutivas. Por este motivo, en la figura se han omitido las regiones que representan estos eventos en los mapas de retorno de ISIs. En ellos sólo se muestra la zona más próxima al origen de los ejes. Si se comparan los mapas de retorno de la Figura 4.5 con los equivalentes de la Figura 4.2, se ve que al establecer las conexiones la firma de cada neurona individual cambia (notar la diferencia en el tamaño de los ejes). Esto indica que en los circuitos hay algún mecanismo que hace que varíe la distribución temporal de los potenciales de acción en la ráfagas. Además, las nuevas firmas son específicas de cada neurona. Si se compara la de las cinco células de cada simulación se puede ver que, en general, hay diferencias entre ellas que permiten distinguirlos de forma única. Se puede decir que al establecer las conexiones, las neuronas de los modelos presentan un firma identificativa característica.

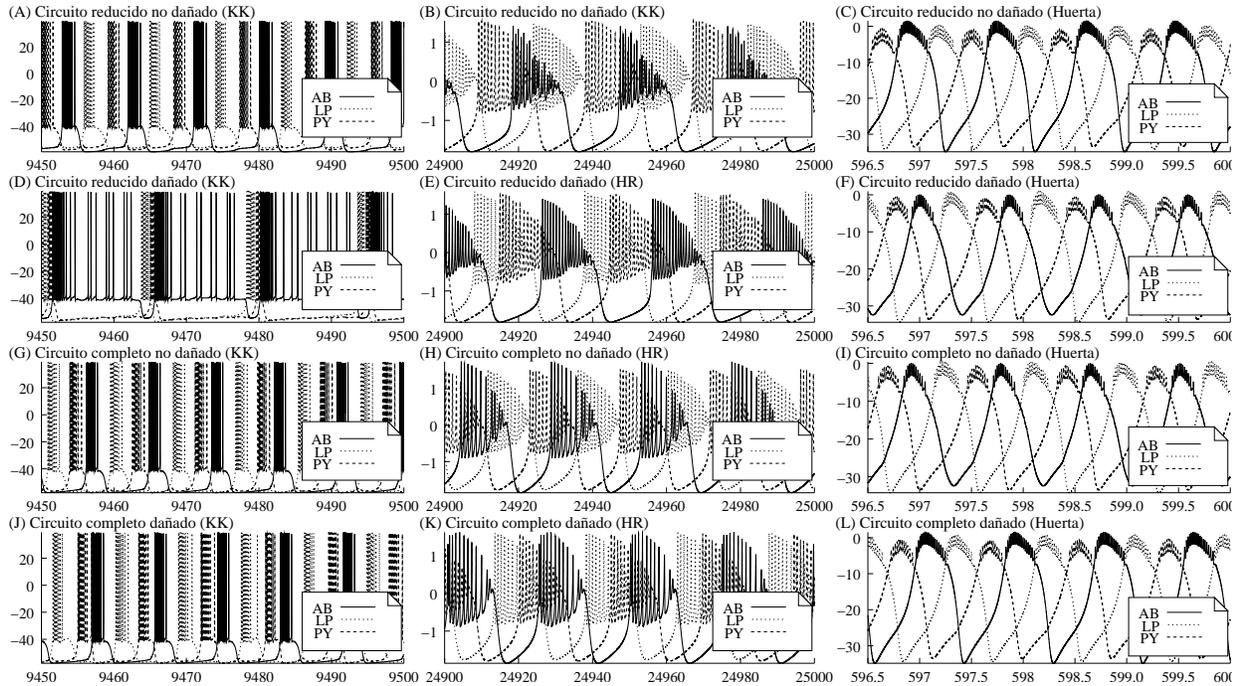


Figura 4.4: Series temporales con la evolución del potencial de membrana de las neuronas de las redes de la Figura 4.3 con los tres modelos neuronales usados en el estudio. En la figura se puede ver que, aunque hay diferencias entre los ritmos generados, todos ellos son ritmos trifásicos válidos que podrían controlar correctamente los movimientos del píloro. Las unidades son sg para KK, unidades arbitrarias para HR y msg para Huerta et al.

Los resultados que se presentan en las Figuras 4.4 y 4.5 y la Tabla 4.1, indican que los modelos se comportan de forma coherente con el CPG biológico. Por un lado, generan un ritmo (onda lenta) muy preciso que podría controlar correctamente los movimientos del píloro. Por otro, simultáneamente, las señales producidas por sus neuronas presentan una firma característica. De esta forma, analizando los resultados de las simulaciones podremos encontrar alguna hipótesis sobre el origen de las firmas neuronales.

Para estudiar cuáles pueden ser los mecanismos que hacen que aparezcan diferencias en la distribución temporal de los potenciales de acción de cada célula del CPG, vamos a comenzar analizando las simulaciones con el modelo de Huerta et al. En ellas, individualmente la distribución temporal de los *spikes* es exactamente la misma en todas las neuronas. Sin embargo, al establecer las conexiones entre ellas, a pesar de la regularidad y precisión del modelo, aparecen pequeñas variaciones. Estas variaciones hacen que, en una misma simulación, la firma de cada célula se diferencie ligeramente de las del resto (panel inferior de la Figura 4.5). Representadas como mapas de retorno de ISIs, las nuevas firmas tienen forma de cabeza de flecha en el interior del *burst*. Sin embargo, la forma de estas estructuras y los puntos que las definen son distintos. Con este modelo neuronal, es importante destacar la similitud de los mapas de retorno de una misma neurona en simulaciones diferentes. Por ejemplo, comparar los de la neurona LP en todos los casos. Parece que con el modelo de Huerta et al., la distribución temporal de los potenciales de acción no sólo es característica de cada neurona en una misma simulación, sino que, en simulaciones diferentes, también lo es de cada célula individual. Esto indica que, en este caso, las estructuras temporales que hasta el momento hemos denominado firmas, realmente se comportan como tal. Que

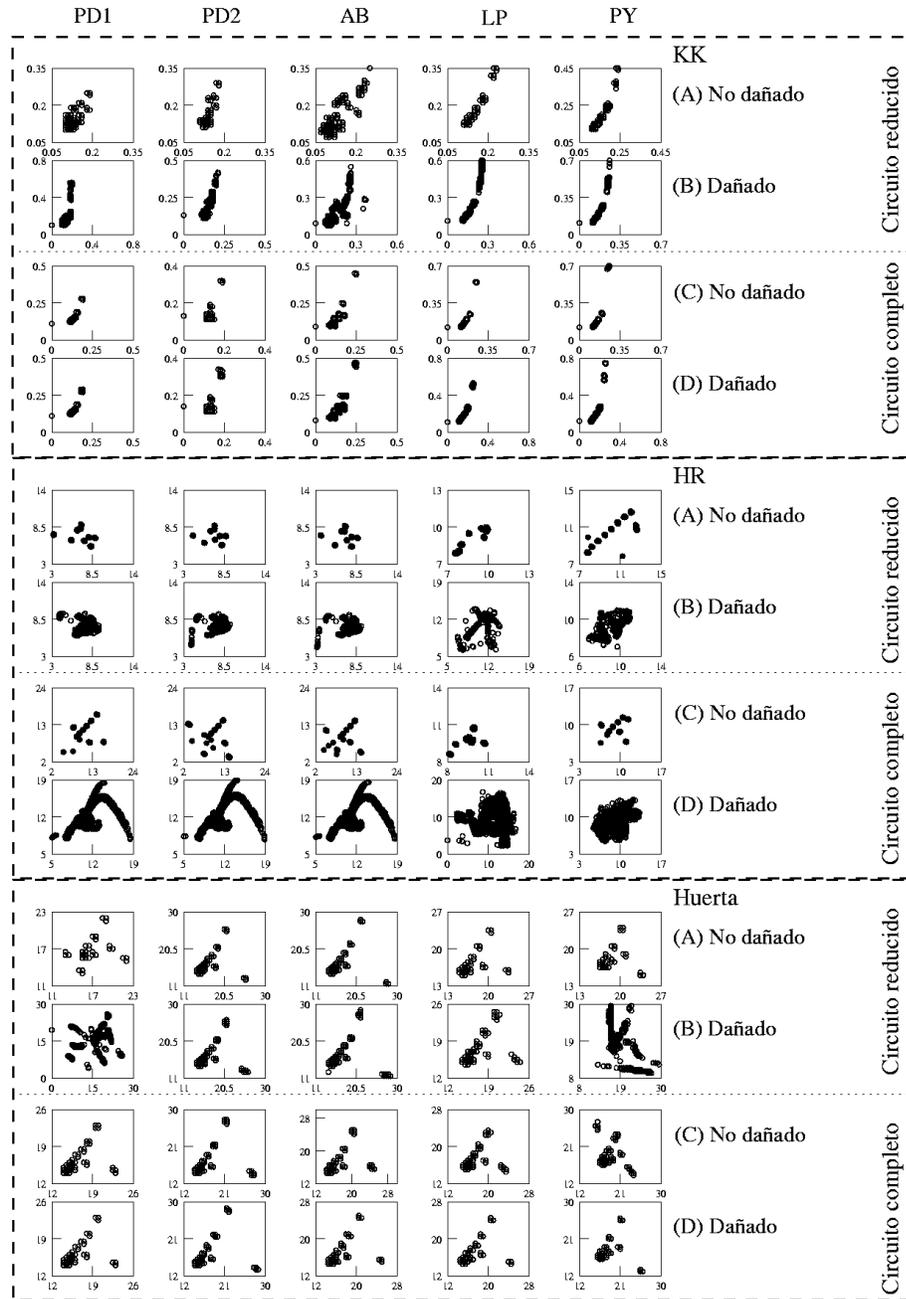


Figura 4.5: Firma de todas las neuronas en las topologías consideradas en este estudio. En los mapas de retorno de ISIs sólo se han representado los que pertenecen a *spikes* de una misma ráfaga. Las unidades son sg para KK, unidades arbitrarias para HR y msg para Huerta et al.

aparezcan firmas en las simulaciones con el modelo de Huerta et al. sugiere una dependencia de éstas con la topología de la red, ya que es el único factor que se ha cambiado de unas a otras. Las simulaciones con neuronas KK y HR también parecen soportar esta hipótesis. En ellas, la presencia de conexiones químicas lentas hace que los potenciales de acción dentro de cada ráfaga sean más precisos que los de los circuitos dañados (paneles superior y medio de la Figura 4.5). Por ejemplo, el circuito dañado de la topología reducida con neuronas KK es un caso extremo, en el que las neuronas del grupo marcapasos pierden la regularidad de sus ISIs. Esto indica que, en nuestros modelos, las conexiones redundantes

		<i>AB</i>	<i>PD1</i>	<i>PD2</i>	<i>LP</i>	<i>PY</i>
KK	Reducido intacto	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12
	Reducido dañado	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12
	Completo intacto	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12
	Completo dañado	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12
HR	Reducido intacto	$39 \cdot 10^{-4}$				
	Reducido dañado	$38 \cdot 10^{-4}$				
	Completo intacto	$40 \cdot 10^{-4}$				
	Completo dañado	$40 \cdot 10^{-4}$				
Huerta et al.	Reducido intacto	1.15	1.15	1.15	1.15	1.15
	Reducido dañado	1.15	1.15	1.15	1.15	1.15
	Completo intacto	1.15	1.15	1.15	1.15	1.15
	Completo dañado	1.15	1.15	1.15	1.15	1.15

Tabla 4.1: Frecuencia media de la onda lenta generada por las neuronas de los circuitos de la Figura 4.3 en los casos presentados. Las unidades son Hz para KK y Huerta et al. y unidades arbitrarias para HR. Con el mismo modelo neuronal la frecuencia del ritmo es la misma o la diferencia es tan pequeña que puede considerarse la misma. El error de esta media en KK, HR y Huerta et al. es del orden de  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  y  $10^{-8}$  respectivamente. Esto indica la *precisión* de la onda lenta en los ritmos.

del circuito influyen en las firmas de sus células. Otro hecho interesante que parece reflejar esta dependencia, se da en las neuronas LP y PY. En general, estas dos células presentan firmas muy similares y precisas. Se debe tener en cuenta que, en los modelos, éstas son las únicas neuronas que al menos reciben una doble inhibición en todos los circuitos (más de cuatro en los circuitos más realistas).

Sin embargo, en las simulaciones, no sólo la arquitectura de las conexiones influye en la distribución temporal de los ISIs. Si esto fuera así, la firma de una misma neurona en simulaciones equivalentes con modelos distintos debería ser igual o muy similar. Pero esto no es cierto. Fijándonos en la precisión de los mapas de retorno de ISIs, las firmas de las neuronas KK y Huerta et al. son más precisas que las de las HR. Atendiendo a su forma, también hay diferencias en las firmas de las neuronas de cada modelo. En general, con KK tienen forma de cola de cometa, con HR son globulares y con Huerta et al. en forma de cabeza de flecha. Además, de depender únicamente de la conectividad, con el modelo de Huerta et al. la firma de una misma neurona debería ser distinta en circuitos diferentes, cosa que ya hemos visto que no ocurre. Por último, en las simulaciones con los circuitos dañados, donde hay una menor influencia de la conectividad, con el modelo KK las dos neuronas PD tienen firmas diferentes. Sin embargo, con los otros dos modelos estas firmas son muy similares. Esto se puede deber a que con KK las dos neuronas tienen comportamientos individuales distintos, cosa que no se da con HR y Huerta et al. Todos estos datos parecen indicar que en los modelos existe una influencia de la dinámica individual de las neuronas en su firma. Esta dependencia se manifiesta más claramente cuando la influencia de la conectividad es menor.

Los resultados presentados sugieren que la aparición de diferentes patrones temporales en los ISIs de las neuronas del CPG, puede deberse a la estructura de las conexiones entre ellas y a la dinámica individual que muestran en un instante dado (ver discusión).

## 4.4. Efecto de la firma en el comportamiento del CPG

Hasta el momento, hemos estudiado cuál puede ser el origen de las firmas neuronales sin prestar atención a si pueden o no tener algún significado para el CPG y los sistemas con los que interactúa. Nos hemos limitado a modificar alguno de los factores que determinan el comportamiento del CPG para comprobar si la firma de sus neuronas varía. Sin embargo, observando las simulaciones utilizadas para hacer esto (ver Figura 4.4), podemos encontrar modificaciones en la fase de los ritmos generados. Teniendo en cuenta que la frecuencia de la onda lenta es la misma (Tabla 4.1), esto nos hace pensar que, además de la información codificada en ésta, puede haber otro tipo de información adicional que las neuronas del CPG se mandan unas a otras para coordinarse en la generación del ritmo. Esta última puede codificarse utilizando las firmas neuronales, lo que nos plantea hacer un estudio más detallado de cuál puede ser su influencia en el comportamiento del sistema.

En este estudio se va a intentar comprobar si la dinámica rápida no sólo influye en la respuesta motora de los músculos [Hooper and Weaver, 2000, Brezina et al., 2000, Morris et al., 2000], sino que también puede hacerlo en las características de los ritmos generados. Para ello se ha modelado el CPG con diversas topologías y modelos neuronales individuales, lo que va a permitir generar distintas distribuciones temporales de *spikes*. De esta forma podemos estudiar las características de los ritmos generados en cada una de las simulaciones realizadas y analizar cómo afectan los cambios en la estructura interna de las ráfagas al comportamiento general del sistema. Si como se pensaba hasta el momento la dinámica rápida no influye en la actividad global, el CPG debería generar siempre el mismo ritmo (o muy similar) independientemente de la firma que presenten sus neuronas.

Para intentar dar respuesta a la pregunta que nos planteamos, vamos a realizar dos tipos de análisis. Por un lado, sabiendo que el modelo de CPG siempre debe producir un ritmo trifásico coherente (ver capítulo 3), vamos a comprobar si la existencia de diferentes firmas puede producir cambios en éste que, sin destruir la relación trifásica, puedan ser significativos para la actividad del sistema [Rodríguez et al., 2002]. Por otro lado, vamos a estudiar el efecto que tiene la actividad *spiking* de las neuronas de la red, o lo que es lo mismo, su firma, en la correcta generación del ritmo [Latorre et al., 2004a].

### 4.4.1. Efecto de las firmas en el ritmo generado por el CPG

Los CPGs generan ritmos diferentes en función de los estímulos que reciben. Por ejemplo, el ritmo trifásico del CPG pilórico puede sufrir variaciones más o menos significativas en función de la temperatura o la textura de la comida. Después de construir modelos para el estudio del origen de las firmas neuronales, nos preguntamos si el sistema nervioso de la langosta podría inducir estos cambios en el ritmo mediante mensajes de control codificados en la firma de alguna de las neuronas del circuito. El objetivo es comprobar si las características del ritmo cambian cuando varía la firma de las neuronas y, en caso de ser así, si los cambios pueden ser significativos para el propio CPG y/o para los sistemas con los que interactúa. Para medir cuantitativamente las características de los ritmos generados, se va a definir una *medida de información mútua* entre la actividad de las neuronas del modelo.

## Modelos de neurona y de red

Para esta parte del análisis se han utilizado: (i) los modelos de Komendantov-Kononenko (KK) [Komendantov and Kononenko, 1996] y de Hindmarsh-Rose (HR) [Hindmarsh and Rose, 1984, Selverston et al., 2000, Pinto et al., 2000, Szücs et al., 2000] (descritos anteriormente y de los que se pueden encontrar más detalles en el Apéndice A) y (ii) las topologías de red de la Figura 4.3 (tanto *intactas* como *dañadas*). El uso de dos modelos de neurona diferentes va a permitir validar la generalidad de nuestros resultados.

## Medida de información neuronal

Las características del ritmo generados por un CPG vienen dadas por la fase entre la actividad de las neuronas que intervienen en él. Para caracterizar los ritmos generados por los modelos se va a medir la correlación entre la actividad de las neuronas que los producen. Para ello se va a calcular el *intercambio de información* entre pares de neuronas con el concepto de *información mútua* de Shannon [Shannon, 1948]. Con esta medida queremos caracterizar la cantidad de información que llega a una neurona receptora (R) en los estímulos que recibe de una neurona emisora (S). En su cálculo se utiliza el concepto de *entropía* (H). La *entropía de la actividad* de una neurona mide la variabilidad de su actividad. Si la de las neuronas R y S viene dada por los conjuntos de valores  $R = r_i$  y  $S = s_i$ , la información mútua [Cover and Thomas, 1991, Rieke et al., 1997] entre estas actividades se calcula con:

$$MI_{RS} = H(R) - H(R|S) = \sum_{r_i, s_i} P(r_i, s_i) \log_2 \frac{P(r_i, s_i)}{P(r_i)P(s_i)} \geq 0 \quad (4.1)$$

donde  $P(r_i, s_i)$ ,  $P(r_i)$  y  $P(s_i)$  son, respectivamente, la probabilidad de que se de  $r_i$  y  $s_i$  simultáneamente, la probabilidad de  $r_i$  y la probabilidad de  $s_i$ .  $H(R)$  es la entropía de la actividad de la neurona receptora y  $H(R|S)$  es la entropía condicionada de la actividad de la neurona receptora dada la actividad de la neurona emisora. Matemáticamente, ambas se definen como:

$$H(R) = - \sum_{r_i} P(r_i) \log_2 P(r_i) \quad (4.2)$$

$$H(R|S) = - \sum_{s_i} P(s_i) \sum_{r_i} P(r_i|s_i) \log_2 P(r_i|s_i) \quad (4.3)$$

El valor máximo de información mútua se obtiene cuando  $H(R)$  es máxima y  $H(R|S)$  es cero. Cuando ésta última es nula, la actividad de la neurona receptora está completamente correlacionada con la de la neurona emisora. Si, por el contrario, la neurona receptora y la emisora son completamente independientes, entonces el intercambio de información entre ellas es cero.

A la hora de calcular la medida de información, se va a asumir que toda la información transmitida en la red está contenida completamente en la evolución temporal del potencial de membrana de las neuronas. Existen evidencias experimentales que muestran que en las redes neuronales reales, el procesamiento de la información está dirigido por la ocurrencia de ciertos eventos discretos,

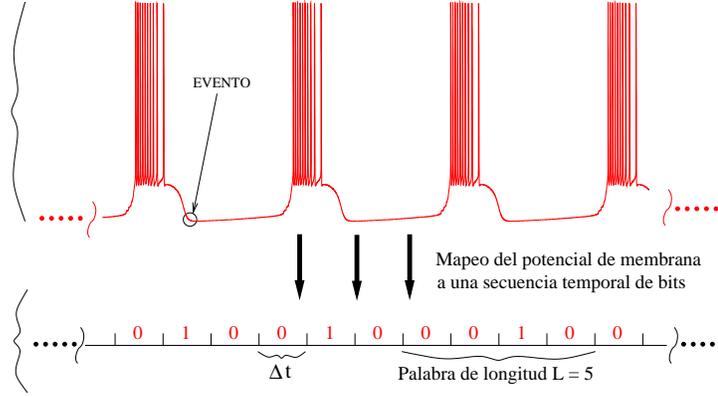


Figura 4.6: Mecanismo utilizado para mapear las series temporales con los potenciales de membrana a una secuencia temporal binaria. Este mapeo va a permitir el tratamiento discreto de la señal neuronal. Para calcular la información mútua, dividiremos las series temporales en  $N$  ventanas de tamaño  $\Delta t$  que agruparemos en  $N - L + 1$  palabras de tamaño  $L$ .

tales como la generación de un potencial de acción [Rieke et al., 1997] o una ráfaga [Selverston and Moulins, 1987, Harris-Warrick et al., 1992]. Por ello, al igual que en muchos otros estudios [Strong et al., 1998, Eguia et al., 2000, Rodríguez et al., 2001], para calcular la medida de información mútua se va a discretizar la evolución temporal del potencial de membrana de las neuronas en  $N$  ventanas de tiempo de tamaño  $\Delta t$ . En el sistema estomatogástrico de la langosta la frecuencia de movimiento de los músculos del estómago y del píloro está asociada a la frecuencia de las ráfagas de las motoneuronas que los controlan [Selverston and Moulins, 1987, Harris-Warrick et al., 1992]. Por ello, la generación de una ráfaga va a ser el principal evento de información. Para indicar la ocurrencia o no de un evento en una ventana de tiempo se van a utilizar valores binarios. Un 1 indicará que se ha producido un *burst* y un 0 que no se ha producido. Para determinar esta ocurrencia, se busca en las series temporales las regiones en las que se produce una hiperpolarización. De esta forma, el potencial de membrana se mapea (Figura 4.6) a una secuencia discreta de bits,  $\{e_t, t = 1 \dots N\}$  donde  $e_t$  puede ser 0 ó 1. Por último, antes de calcular la medida de información mútua, se van a definir "palabras de actividad" de tamaño  $L$  y tiempo  $t$  ( $w_t^L$ ) como fragmentos de la secuencia de bits dados por  $w_t^L = \{e_t, e_{t+1}, \dots, e_{t+L}\}$ .

Para calcular la información mútua entre dos neuronas, se va a considerar que en cualquier conexión una neurona es la neurona de salida (emisora) y la otra la de entrada (receptora). Fijando los valores de  $\Delta t$  y  $L$ , se pueden calcular las probabilidades necesarias para medir la información mútua media ( $MI_{RS}$ ) en función de las palabras de actividad  $w_{r_i}$  y  $w_{s_i}$  ( $P(w_{r_i}, w_{s_i})$ ,  $P(w_{r_i})$  y  $P(w_{s_i})$ ). Éstas palabras vienen dadas por los conjuntos  $WR_{\Delta t}^L = \{w_{r_i}\}$  y  $WS_{\Delta t}^L = \{w_{s_i}\}$  con todas las palabras de la neurona de entrada y de salida respectivamente. El valor obtenido se normaliza mediante la expresión:

$$E_{RS} = \frac{MI_{RS}}{H(S)} \quad (4.4)$$

La cantidad  $E_{RS}$  medirá la eficiencia de la transmisión de información desde la neurona emisora a la receptora. Su valor estará dimensionado y siempre estará en el rango  $0 \leq E_{RS} \leq 1$ . Dado que  $H(S)$  es la máxima cantidad de información que se puede transmitir, cuando  $E_{RS}$  valga 0 significará que toda la información enviada se pierde en el canal, mientras que si vale 1 habrá una sincronización perfecta entre las dos neuronas.

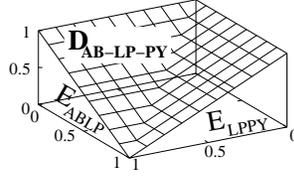


Figura 4.7: Representación gráfica de la evolución de  $D_{AB-LP-PY}$  en función de los valores de  $E_{ABLP}$  y  $E_{LPPY}$ . Cuando la actividad de los dos pares de neuronas está completamente sincronizada, consecuentemente lo está el de las tres neuronas. En este caso el valor de la distancia es 0. Si por el contrario no hay ninguna relación entre ellas vale 1.

En el caso de un ritmo trifásico, se requiere comparar la actividad de tres pares de neuronas simultáneamente. Esto hace que las medidas de información definidas no sean suficientes. Para medir la información en este caso, se va a definir un valor de información normalizado, al que denominaremos *distancia*. Este valor mide la correlación entre la actividad de tres neuronas. Dos de ellas se consideran neuronas receptoras (R y R'). La tercera será la emisora de información (S). El intercambio de información entre R y R' viene dado por el de R y S y el de R' y S. Cuando haya una sincronización perfecta entre las tres neuronas,  $E_{RS} = E_{R'S} = 1$ . En este caso, la distancia debe valer 0. Si no hay ninguna correlación entre su actividad,  $E_{RS} = E_{R'S} = 0$ . En este segundo caso la distancia debe ser 1. Finalmente, se debe penalizar los casos en los que  $E_{RS}$  sea distinto de  $E_{R'S}$ , aunque el valor de alguno de ellos esté próximo a 1. La distancia  $D_{R-S-R'}$  definida como:

$$D_{R-S-R'} = \frac{1}{2} \sum_{\Delta t} (|E_{RS} - E_{R'S}| + (1 - E_{RS}) + (1 - E_{R'S})) \quad (4.5)$$

y normalizada al número de diferentes tamaños de ventana utilizados en el análisis, va a satisfacer estas restricciones. La Figura 4.7 muestra la distribución de esta distancia en función de los valores de transferencia de información entre las actividades de las neuronas que se están comparando.

En los modelos de CPG tenemos tres pares de neuronas cuyos valores de información mutua son  $E_{ABLP}$ ,  $E_{LPPY}$  y  $E_{PYAB}$ . También hay tres *distancias parciales* entre pares de conexiones  $D_{AB-LP-PY}$ ,  $D_{LP-PY-AB}$  y  $D_{PY-AB-LP}$ . Como medida global de la precisión del ritmo generado por el CPG, se puede definir la distancia  $D$ :

$$D = \frac{1}{3} (D_{AB-LP-PY} + D_{LP-PY-AB} + D_{PY-AB-LP}) \quad (4.6)$$

Si  $D = 1$  todas las neuronas del circuito serán independientes. Si, por el contrario,  $D = 0$  la actividad de todas ellas estarán perfectamente sincronizada. Esta distancia va a permitir medir la precisión de los ritmos trifásicos generados ya que correlaciona la actividad *bursting* de las tres neuronas (palabras de actividad discretas) desplazada en ventana de tiempo (información entre palabras).

## Resultados

Además de las simulaciones presentadas en la figura 4.4 hemos analizado un gran número de simulaciones en las que se generaba un ritmo trifásico correcto. En todas ellas hemos

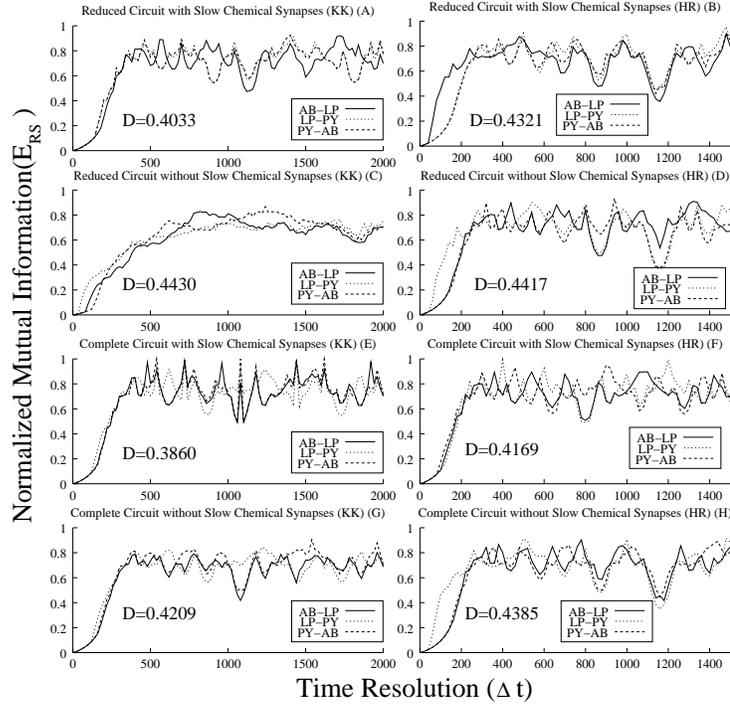


Figura 4.8: Transmisión de información entre las neuronas AB-LP, LP-PY y PY-AB en las simulaciones de la figura 4.4. La cantidad  $E_{RS}$  se muestra en función del tamaño de la ventana de tiempo  $\Delta t$ . En todos los casos el tamaño de palabra es  $L = 10$ . Cada serie temporal analizada tiene 625 *bursts* en el caso de neuronas KK y 750 en el de neuronas HR.

encontrado que el valor de la entropía normalizada y, consecuentemente, el de la distancia  $D$ , dependen en gran medida de los valores de las conductancias sinápticas. Fijándolas a los valores utilizados para determinar el origen de las firmas (tablas 4.5, 4.4, 4.6, y 4.7), se puede estudiar cuáles son las características de los ritmos generados con distintas firmas en las neuronas del CPG.

Una vez fijados los valores de las conductancias, se puede calcular el intercambio de información entre los tres posibles pares de neuronas de los circuitos de la Figura 4.3, AB-LP, LP-PY y PY-AB, en función de la ventana de tiempo  $\Delta t$ . Las dos neuronas PD se han omitido dada su sincronización con la neurona AB. En todos los casos estudiados se va a usar el tamaño de ventana óptimo  $L = 10$  [Rodríguez et al., 2001]. La Figura 4.8 muestra el intercambio de información normalizada para cada conexión y el valor de la precisión de cada ritmo. La precisión de los ritmos generados con los circuitos KK (paneles A, C, E y G) y con los HR (paneles B, D, F y H) son muy similares.

En todos los casos en los que se simulan los circuitos de la Figura 4.3 con el mismo modelo de neurona, se genera un patrón rítmico muy preciso y con la misma frecuencia (Tabla 4.1). Esto, junto con que la secuencia de disparo es la misma, puede hacer pensar que el ritmo trifásico generado en estos casos es el mismo. Sin embargo, si se calcula la distancia  $D$  de cada uno de ellos se ve que la precisión de los ritmos es distinta. Estas diferencias indican que, aunque se mantiene la relación trifásica, la fase entre las neuronas que lo generan cambia. Con el modelo KK la precisión del ritmo puede llegar a variar un 13%, mientras que con HR el cambio puede ser del 7%. Estos cambios de fase en la onda lenta son lo suficientemente significativos para considerar que el ritmo ha cambiado. Si en

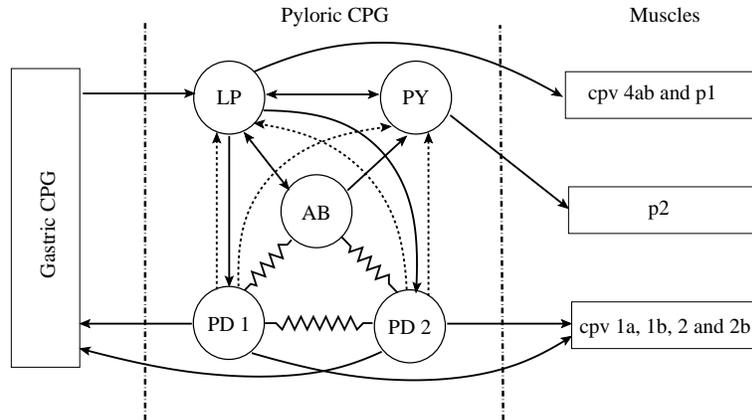


Figura 4.9: Arquitectura utilizada para modelar el CPG pilórico de la langosta. Este circuito es análogo al completo de la Figura 4.3. La figura muestra esquemáticamente parte de la conectividad entre las neuronas del CPG pilórico y los músculos y las neuronas del CPG gástrico [Selverston and Moulins, 1987].

el sistema biológico ocurre algo parecido a lo que pasa en los modelos, un cambio de fase de este orden de magnitud puede reflejarse, entre otras cosas, en la respuesta de los músculos que coordina el CPG. Curiosamente, al igual que ocurría con las firmas neuronales, los ritmos generados en las simulaciones con los circuitos más redundantes, los *completos* e *intactos*, son los más precisos. Esto nos sugiere que, en los modelos, puede haber una relación entre las firmas neuronales y el ritmo que genera el circuito.

Un caso interesante es el del circuito reducido sin conexiones lentas (el de menor redundancia en la conectividad) con neuronas KK. Dependiendo de los parámetros utilizados, en algunas de sus simulaciones (no mostradas aquí), el CPG genera correctamente el ritmo trifásico durante cierto intervalo de tiempo. Transcurrido este intervalo (no siempre el mismo) el ritmo trifásico se invierte, disparando, por este orden, el grupo marcapasos, la neurona PY y la neurona LP. Dado que la onda lenta no cambia (Tabla 4.1), estas simulaciones sugieren que las firmas pueden ser mensajes de control que se envían unas neuronas a otras o que se reciben del exterior para modificar el comportamiento global ante cierto evento (ver discusión).

#### 4.4.2. Importancia de la firma en la correcta generación de ritmos

En esta sección se va a estudiar cuál es el efecto de que las neuronas de un modelo de CPG pilórico presenten distintas distribuciones de potenciales de acción en las ráfagas que generan. El objetivo es determinar la importancia de los *spikes* para el correcto funcionamiento del sistema. Para caracterizar la dinámica rápida de cada neurona se va a utilizar su firma neuronal. Ésta se va a modificar de una simulación a otra. De esta forma, podremos discutir la habilidad del CPG de generar ritmos trifásicos con diferentes firmas. Los resultados de este estudio se han publicado en [Latorre et al., 2004a].

### Modelos de redes y de neuronas

Para modelar el CPG pilórico se va a utilizar el *circuito completo* de la Figura 4.3 (también mostrado en la Figura 4.9 añadiendo algunos de los componentes externos

con los que interactúa el CPG biológico). Se van a hacer simulaciones tanto con el circuito *intacto* con todas las conexiones, como con el *dañado* sin las conexiones químicas lentas. Las ecuaciones que describen las sinapsis y los parámetros de las mismas, son los utilizados en el estudio del origen de las firmas neuronales (ecuaciones 4.32, 4.34, 4.33 y 4.35 y tablas 4.5, 4.6 y 4.7). Por su parte, para describir el comportamiento individual de las neuronas de estos circuitos, vamos a utilizar de nuevo los modelos de Komendantov-Kononenko (KK) [Komendantov and Kononenko, 1996] y de Hindmarsh-Rose (HR) [Hindmarsh and Rose, 1984, Selverston et al., 2000, Pinto et al., 2000, Szücs et al., 2000]. Las descripciones de los modelos y los parámetros usados en las simulaciones se encuentran en el Apéndice A.

### Dinámicas libres y forzadas

En algunas simulaciones (*simulaciones forzadas*) se va a variar la firma de alguna de las neuronas del modelo para estudiar como afecta este cambio al comportamiento colectivo del circuito. Esta variación se va a hacer modificando la distribución temporal de los potenciales de acción dentro de las ráfagas. La neurona LP es la mejor candidata para modificar su firma y realizar el estudio, ya que tiene completa conectividad con el resto del sistema. Además, es la única neurona, de las incluidas en nuestros modelos, que no pertenece al grupo marcapasos (neuronas AB y PDs) y que en el CPG real está conectada simultáneamente a los músculos y al CPG gástrico (ver Figura 4.9).

Las *simulaciones libres* son simulaciones en las que el comportamiento de todas las neuronas del circuito viene dado en todo momento por las ecuaciones diferenciales del modelo. Hasta el momento, todas las simulaciones presentadas han sido simulaciones libres. Por su parte, llamaremos *simulaciones forzadas* de la neurona LP, a aquellas en las que en esta neurona se modifica la dinámica rápida definida por el modelo diferencial. En ellas se usan los mismos parámetros que en las simulaciones libres para definir el comportamiento individual de cada neurona y las conexiones que se establecen entre ellas. La onda lenta sigue la dinámica libre dada por las ecuaciones del modelo. Sin embargo, en el momento en el que se detecta el primer potencial de acción de una ráfaga, dejan de utilizarse las ecuaciones diferenciales para determinar la evolución temporal del modelo y en su lugar se genera una *ráfaga modificada* con el mecanismo que se describe a continuación. En todos los casos se mantiene el número de potenciales de acción y el tamaño de la ráfaga con respecto a la que se generaría con la dinámica libre. De esta forma, se modifica la firma de la neurona LP pero se mantiene el resto de características de la señal. Esto nos permitirá determinar el papel de la firma en la generación del ritmo en los modelos, ya es el único factor que ha cambiado con respecto a la simulación libre.

Las *ráfagas modificadas* se van a generar de forma que tengan una firma neuronal dada por una de las siguientes distribuciones de probabilidad de ISIs:

- Distribución de probabilidad de los potenciales de acción de la neurona LP en los circuitos intactos y dañados. Se representan con histogramas de ISIs, *ISIH* (primera fila de la Figura 4.10). Los datos se obtienen de las simulaciones libres.
- Distribución de probabilidad del intervalo al primer *spike* de la ráfaga de los potenciales de acción generados por la neurona LP en los circuitos intactos y dañados.

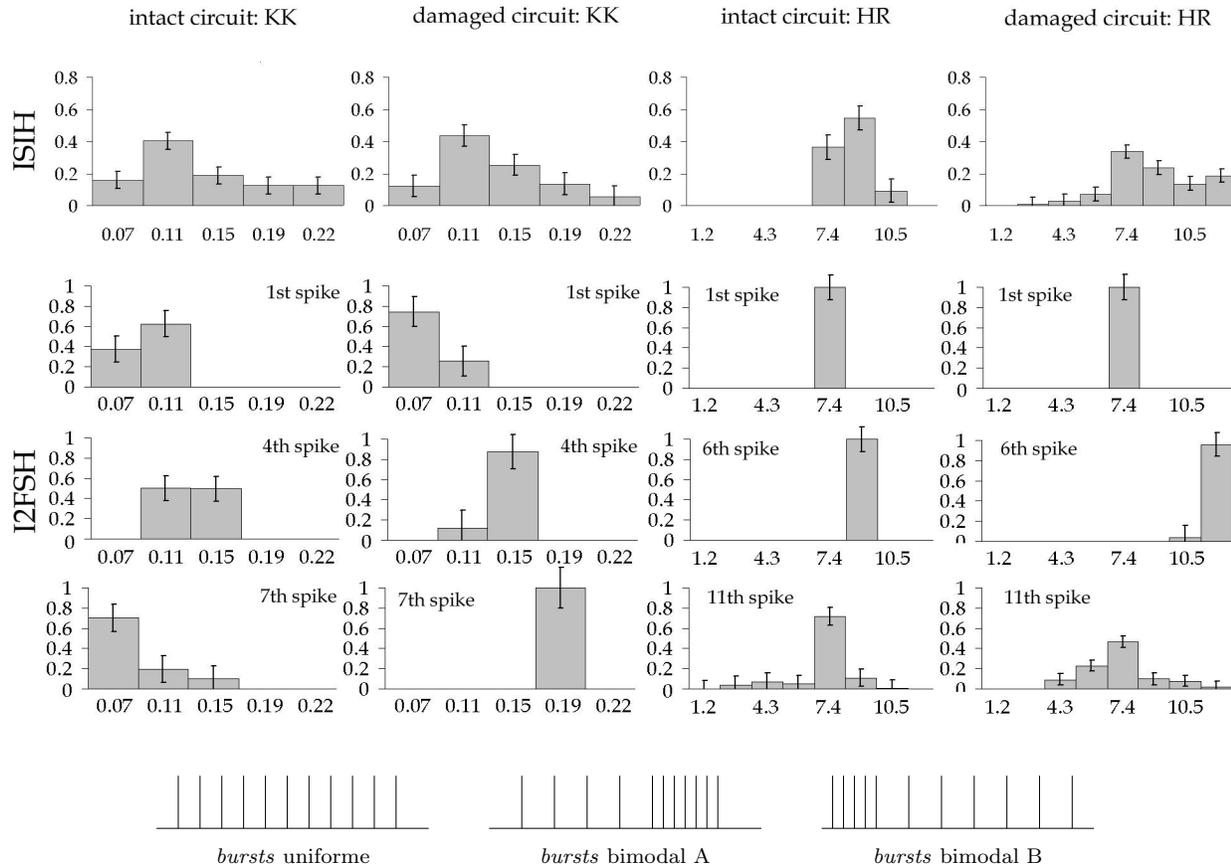


Figura 4.10: Distribuciones de probabilidad utilizadas en las simulaciones forzadas de la neurona LP. Están agrupadas por modelo de neurona (KK y HR) y circuito (intacto y dañado). Fila superior: Histograma de ISIs (ISIH) de la neurona LP obtenidos de las simulaciones libres. Paneles centrales: Histogramas con la distancia al primer *spike* (*I2FSH*) para tres *spikes* en las dinámicas libres. Panel inferior: Bursts uniformes y bimodales generados artificialmente. Las unidades son sg para KK y están dimensionadas para HR.

Habrà una distribución por cada *spike* de los *bursts*. Recogen la distribución de las distancias de un potencial de acción dado al primero de la ráfaga en la que aparecen. Se representan con histogramas de intervalos al primer *spike*, *I2FSH*. Como ejemplo, se muestra la distribución de un *spike* al comienzo, a la mitad y al final de la ráfaga (segunda, tercera y cuarta fila de la Figura 4.10). Una característica interesante de estas distribuciones es el aumento de la dispersión en las distribuciones al final de la ráfaga. Los datos se obtienen de las simulaciones libres.

- Distribuciones de probabilidad uniformes y bimodales de ISIs generadas de forma artificial (fila inferior de la Figura 4.10).

En los dos primeros casos, antes de realizar la simulación forzada se debe registrar la actividad de la neurona LP en una gran cantidad de simulaciones libres para calcular la distribución de probabilidad de ISIs correspondiente.

Para modificar fuera de la dinámica definida por las ecuaciones del modelo la firma de una neurona, el primer paso es generar todo el *bursts* que se va a cambiar. De esta manera se conoce el tamaño y el número de potenciales de acción que debe tener la ráfaga modificada.

	Uniforme	Bimodal A	Bimodal B	ISIH int.	ISIH dañ.	I2FSH int.	I2FSH dañ.
KK intacto	no	no	no	0.4112	0.4303	0.3902	0.4054
KK dañado	no	no	no	no	no	0.4183	0.4201
HR intacto	no	no	no	0.4527	no	0.4192	0.4258
HR dañado	no	no	no	0.4533	0.4782	0.4284	0.4421

Tabla 4.2: Capacidad de los distintos circuitos utilizados en este estudio de generar el ritmo trifásico característico del CPG pilórico. Las filas indican el tipo de circuito y el modelo con el que se ha realizado las simulaciones. Las columnas, el circuito y el modelo utilizado para modificar la firma de la neurona LP usando el mecanismo para forzar la dinámica de la neurona descrito en el texto. En los casos en los que el ritmo se genera correctamente, se indica la precisión del ritmo calculada utilizando la medida de información de la ecuación 4.5.

Con estos datos se calcula, siguiendo la distribución elegida, la posición (tiempo) que va a ocupar cada potencial de acción modificado. Una vez que la distribución de los ISIs se ajusta, dentro de un pequeño margen de error, a las características de la ráfaga registrada, se obtiene aleatoriamente la forma de cada potencial de acción de un "pool" de *spikes*. Estos *spikes* se han obtenido previamente de las simulaciones libres. Este proceso se realiza para todos los potenciales de acción de la ráfaga menos para el primero. El instante en el que se produce y su forma son los mismos que tendría en la simulación libre. Por último, se unen los potenciales de acción para formar la ráfaga modificada. Las ráfagas obtenidas de esta forma interactúan con el resto de neuronas del modelo incluyéndose en el sistema diferencial. El potencial de membrana de la neurona LP viene dado por la ráfaga modificada. El del resto de neuronas se calcula con las ecuaciones diferenciales, tomando esta ráfaga para calcular la corriente sináptica procedente de la neurona LP. Para validar este mecanismo, en todos los casos hemos realizado simulaciones con dinámicas forzadas de la neurona LP con exactamente los mismos ISIs que en las simulaciones libres. En todas ellas el ritmo trifásico se genera correctamente.

### 4.4.3. Resultados

Hemos efectuado una gran cantidad de simulaciones forzando la generación de potenciales de acción de la neurona LP, tanto en circuitos intactos como dañados. No en todas ellas se consigue generar el ritmo trifásico característico del CPG pilórico, cosa que sí ocurre en todas las simulaciones libres. Estas últimas se pueden ver en el estudio del origen de las firmas (Figura 4.4), ya que los parámetros de las simulaciones son los mismos en los dos casos. La tabla 4.2 muestra la capacidad de los circuitos utilizados de generar un ritmo trifásico correcto. Cuando el ritmo no se genera, casos marcados como "no" en la tabla, en algunas ocasiones la relación de fase entre los *bursts* de las neuronas se invierte, en otras éstas disparan independientemente sin ningún tipo de relación entre ellas.

El cambio en la firma de la neurona afecta al comportamiento del CPG de diferente forma en función del tipo de distribución de probabilidad de ISIs utilizada y de la topología de la red. De todas las posibles distribuciones de probabilidad, los histogramas al primer *spike* son las que generan una firma más parecida a la de las simulaciones libres. Con estas distribuciones cada potencial de acción de la ráfaga, estadísticamente, ocurre en el instante en el que debería ocurrir de forma independiente al instante en que se generan los anteriores. Esto no ocurre ni con los histogramas de ISIs ni con las distribuciones

artificiales. En el primer caso el error en el instante en que se produce cada potencial de acción se acumula en el del resto de *spikes* de la ráfaga. En las distribuciones uniformes y bimodales no existe ningún tipo de relación con la distribución de las ráfagas de la dinámica libre. Las similitudes y diferencias entre las distribuciones forzadas y libres se reflejan en la generación o no del ritmo trifásico en el circuito de la Figura 4.9. Cuando usamos una distribución artificial el ritmo no se produce en ninguna ocasión. Cuando simulamos con ráfagas generadas utilizando los histogramas de ISIs de las simulaciones libres, el ritmo sólo se produce en ocasiones, principalmente en el circuito intacto. Sin embargo, cuando se usan histogramas de intervalos al primer *spike*, el ritmo siempre se genera correctamente y siempre con una mayor precisión que en cualquiera de los otros casos en los que se produce en el circuito utilizado (Tabla 4.2). Por otro lado, en los casos en los que el ritmo trifásico se genera, los cambios en la firma provocan variaciones en la fase de las neuronas (Tabla 4.2) y en su frecuencia de disparo. El cambio de esta última depende que la topología de la red y de la distribución de probabilidad utilizada en la simulación forzada, pero pueden ser lo suficientemente significativos (con las KK puede llegar a ser del 14 %,  $\sim 130$  Hz, y con HR del 34 %,  $\sim 25$  u.a.) para que, de darse en el CPG real, afectaran a los sistemas con los que interactúa el sistema.

Teniendo en cuenta que las características de la onda lenta en las simulaciones libres y forzadas son las mismas, de no influir la firma neuronal en el comportamiento global de los modelos, éste debería ser el mismo en ambos tipos de simulación. Concretamente, por una lado, en todas las simulaciones forzadas se debería generar un ritmo trifásico correcto, tal y como ocurre en las libres. Por otro, con el mismo circuito este ritmo siempre debería ser idéntico (fase y frecuencia de disparo de las neuronas), independientemente del tipo de simulación y, en el caso de las forzadas, de la distribución con la que se genera el *burst*. Sin embargo, hemos visto que ninguna de estas dos cosas se cumple. Estos resultados sugieren que en los modelos utilizados la firma puede tener un significado funcional para el CPG.

Además de los resultados de las simulaciones descritas anteriormente, también hemos realizado simulaciones (no mostradas aquí) con el *circuito reducido* de la Figura 4.3. Los resultados de estas simulaciones ponen de manifiesto la importancia de las conexiones redundantes para la generación del ritmo en el CPG, ya que en estos casos el ritmo se genera en menos ocasiones que en el circuito de la Figura 4.9. Pero además, con este circuito se da la misma dependencia para la correcta generación del ritmo trifásico del tipo de distribución utilizada para forzar la dinámica de la neurona LP.

## 4.5. Discusión

El papel de las ráfagas de potenciales de acción en el comportamiento neuronal se ha discutido en múltiples sistemas. Dependiendo del caso particular que se esté estudiando, se han interpretado, por ejemplo, como estados patológicos [McCormick and Contreras, 2001], como un mecanismo fiable de transmisión de información [Lisman, 1997] o como medios eficaces para inducir plasticidad [Pike et al., 1999]. Tradicionalmente se han considerado eventos unitarios. Sin embargo, de un tiempo a esta parte, se está prestando una mayor atención al papel que puede desempeñar dentro del sistema la actividad *spiking* generada dentro de ellas. Entre otras cosas, por ejemplo se está estudiando la cantidad de infor-

mación que se puede transmitir en la estructura temporal ("*timing*") de los *spikes* de un *bursts* [Kepecs and Lisman, 2003] o la respuesta selectiva de ciertas neuronas a frecuencias de interspikes específicas (*resonancia*) [Izhikevich et al., 2003, Krahe and Gabbiani, 2004]. En particular, hasta ahora, no se había estudiado con demasiado detalle la distribución temporal de los potenciales de acción dentro de las ráfagas generadas por las neuronas de un CPG. Descubrimientos recientes han puesto de manifiesto que esta estructura temporal puede ser significativa para estos sistemas. En particular, los primeros *spikes* en la actividad *bursting* de sus neuronas son muy precisos [Elson et al., 1999, Varona et al., 2001], presentando cada una de ellas una *firma* identificativa en función de la distribución de sus ISIs [Szücs et al., 2003].

El punto de partida de este estudio es el descubrimiento de las firmas neuronales. Nuestros modelos de CPG, al igual que los CPGs biológicos, a pesar de estar formados por elementos que intrínsecamente son irregulares, son capaces de generar ritmos trifásicos regulares, robustos y precisos. Este resultado se produce en multitud de configuraciones con los tres modelos neuronales presentados. Sin embargo, aunque el ritmo trifásico es estable y regular en todos los casos, en las simulaciones también aparece una estructura temporal en los ISIs, específica de cada neurona. Los datos obtenidos en las simulaciones sugieren que esta estructura puede aparecer gracias (i) al patrón de conectividad entre las neuronas del circuito y (ii) a la dinámica individual de cada una de ellas. Por una parte, la topología de la red aporta diferencias en las firmas (ver por ejemplo los resultados con el modelo de Huerta et al. en el que la dinámica individual de las neuronas es la misma). Por otra, incrementa la precisión del ritmo y de las propias firmas en función de la redundancia del circuito (*circuitos completos y circuitos intactos vs. circuitos reducidos y circuitos dañados*). En los modelos presentados, la topología de las conexiones es el principal factor que determina las características de las firmas neuronales. La dependencia con la dinámica individual se manifiesta más claramente cuando la influencia de la conectividad es menor. Ésta determina la forma en que disparan las neuronas, definiendo la forma de la firma (globular, triangular...) y produciendo pequeñas variaciones en la distribución temporal de los potenciales de acción. Por ejemplo, ver las neuronas PD con el modelo KK.

Hemos analizado la capacidad de diferentes modelos de CPG pilórico para generar ritmos trifásicos. Para caracterizar la *precisión* de estos ritmos se ha definido una medida de información mútua que permite analizar las diferencias entre ellos. La presencia de conexiones lentas en los modelos de circuitos intactos hace que se produzca un ritmo trifásico estable y preciso. Sin embargo, en el caso de redes menos redundantes (circuitos reducidos y dañados), aunque son capaces de generar el ritmo, éste siempre es menos preciso. Pero los datos obtenidos de nuestros modelos sugieren que la topología de la red no es el único factor que determina el comportamiento del sistema. En ellos, la generación de un ritmo particular también depende de la dinámica rápida de las neuronas individuales. Si no existiera esta dependencia los circuitos de la Figura 4.3 generarían ritmos muy similares en el caso de redes equivalentes con modelos distintos y en las simulaciones forzadas de la neurona LP siempre se generaría un ritmo trifásico. Sin embargo, hemos encontrado un número significativo de casos en los que esto no ocurre. En las simulaciones libres, la presencia de firmas distintas en las neuronas del CPG hace que las características del ritmo generado cambien (Figura 4.8). Mientras que en las simulaciones forzadas, el CPG sólo genera el ritmo trifásico cuando la firma de la neurona LP se encuentra dentro de un *rango de coherencia* con su firma en las simulaciones libres. En ambos casos, el ritmo trifásico incluso puede evolucionar a

otro tipo de ritmo cuando se modifica la firma de una neurona del sistema. Observando estos resultados parece que existe una correlación entre las características de las firmas neuronales y de los ritmos generados por el CPG. Este hecho también parece producirse de forma general en otros sistemas. Estudios recientes sugieren la existencia de una relación directa entre el número y la precisión de los *spikes* dentro de un *bursts* y las características de éste, por ejemplo su duración [Kepecs and Lisman, 2003].

Los CPGs son sistemas multifuncionales que pueden generar diferentes ritmos con la misma estructura básica (relación de fase entre los trenes de actividad de las neuronas que intervienen en él). Un hecho bien conocido de la topología de los CPGs es la existencia de conexiones redundantes que hacen que el sistema se comporte correctamente y de forma estable en caso de error. Esto hace que sean capaces de controlar la actividad muscular de una forma coordinada y robusta bajo muy diversas circunstancias. En instantes de tiempo diferentes, aunque se conserve la fase entre sus neuronas, la frecuencia de las actividades eléctricas de éstas puede ser distinta [Marder and Calabrese, 1996]. Hasta ahora los cambios de frecuencia sólo se habían estudiado en la dinámica lenta. En el CPG pilórico estos cambios inducen la generación de diferentes ritmos [Selverston and Moulins, 1987]. Los resultados presentados aquí sugieren que la generación de diferentes firmas depende de la dinámica individual de las neuronas y de la conectividad de la red. Recientemente se ha demostrado que la entrada moduladora puede modificar la dinámica de las neuronas de un CPG [Szücs et al., 2003], así como las conexiones que se establecen entre ellas. Además, se han descubierto neuronas que controlan la estructura temporal de los potenciales de acción generados por otras [Hunter and Milton, 2003]. Teniendo esto en cuenta, se puede pensar que no sólo se pueden producir cambios de frecuencia en la onda lenta, sino que también pueden darse en la dinámica rápida. Si nuestra hipótesis es cierta, el sistema nervioso podría utilizar los mecanismos descritos para generar mensajes de control codificados en las firmas ante la llegada de ciertos estímulos. Aquí hemos visto que en los modelos un cambio en la firma puede inducir la generación de un ritmo con la misma secuencia de activación, pero en el que cambia la frecuencia de disparo (en las simulaciones forzadas) o la relación de fase entre las ráfagas de potenciales de acción de cada neurona (tanto en las simulaciones libres como en las forzadas). Esto sugiere que la firma de una neurona puede tener un significado funcional para el CPG. Ésta es una propiedad deseable para un circuito que actúa como controlador dinámico. Además, hay que tener en cuenta que la firma individual de alguna de las neuronas del CPG pilórico también se ve desde fuera del CPG (Figura 4.9). Los músculos y las neuronas externas que las reciben pueden leerlas para realizar diferentes tareas como respuesta a las señales multifuncionales generadas por el circuito.

## 4.6. Trabajo futuro

Hasta el momento hemos tratado de responder a dos de las preguntas que nos planteábamos inicialmente sobre las firmas neuronales, formulando hipótesis sobre su posible origen y su significado para el correcto funcionamiento de los sistemas en los que aparecen. Sin embargo, aún existen muchas preguntas sin respuesta sobre ellas.

La cantidad de información transmitida en una secuencia de potenciales de acción dentro de una ráfaga es mayor que la transmitida por *spikes* individuales. En estudios re-

cientes se ha comprobado que el número de *spikes* en un *bursts* es muy robusto al ruido y que cuanto mayor es este número mayor es la precisión [Kepecs and Lisman, 2003]. Esto pone de manifiesto la potencia de la codificación temporal de la información. Uno de los posibles papeles que consideramos que pueden desempeñar las firmas neuronales en los sistemas biológicos es el de mecanismo de comunicación adicional entre neuronas. Además de lo anterior, también apoya esta hipótesis el hecho de que la precisión de los *spikes* dentro de un *bursts* ante un mismo estímulo es muy grande, no sólo entre una misma neurona, sino también entre neuronas distintas e incluso individuos diferentes [Reinagel and Reid, 2000, Chi and Margoliash, 2001, Reinagel and Reid, 2002]. Para que las firmas sirvan de mecanismo de comunicación, las neuronas (o los sistemas neuronales en general) deben ser capaces de reconocer una firma específica y adaptar su comportamiento a ella. De ahí que el siguiente paso en nuestro estudio sea comprobar si esto se puede producir. Para ello, se va a construir un modelo, basado en los CPGs del ganglio estomatógástrico, en el que exista un CPG emisor y otro receptor de firmas. El CPG emisor debe ser capaz de emitir diferentes firmas. El receptor debe mostrar un comportamiento diferente cuando recibe cada una de estas firmas. De esta forma se tendría un modelo en el que dos CPGs se comunican mediante firmas [Latorre et al., 2004b].

Los *bursts* generados por las neuronas del STG tienen un número significativo de *spikes* por *bursts* (aproximadamente 10). A pesar del ruido intrínseco de los canales iónicos, los primeros tienen una dispersión muy pequeña, siendo muy precisos en todas las ráfagas [Elson et al., 1999, Varona et al., 2001, Szücs et al., 2003]. Por otro lado, la estructura temporal de los últimos es muy variable de una ráfaga a otra. Estos hechos sugieren que la firma, como elemento identificador del origen de la señal, puede aparecer sólo en la primera parte de los *bursts*, donde la distribución de los potenciales de acción es muy precisa. El resto de la ráfaga podría también contener información adicional. Entonces, si un sistema neuronal fuera capaz de reconocer diferentes firmas y adaptar su comportamiento a ellas, la actividad *bursting* podría ser parte de un *código multifuncional* que haría uso de alguno de los siguientes mecanismos de codificación: (i) la frecuencia y fase particular de la onda lenta, (ii) la firma que identifica a la neurona emisora y (iii) la información contenida en los potenciales de acción finales de cada ráfaga. Los sistemas neuronales podrían leer esta información de forma selectiva o global. Por ejemplo, en el CPG pilórico, los músculos inervados por las motoneuronas podrían leer la información codificada en la onda lenta, las neuronas del CPG (que requieren una respuesta rápida) la codificada en la estructura temporal de los potenciales de acción y, por último, otros elementos externos (por ejemplo el CPG gástrico) podrían leer ambas para conseguir la coordinación de los ritmos. Para comprobar si esto puede ser factible, queremos construir un nuevo modelo que simule el comportamiento del ganglio estomatógástrico. Este modelo contendrá los CPGs pilórico y gástrico y los músculos que coordinan. En este modelo, los músculos leerían la información codificada en la onda lenta (*bursts*), las neuronas de un mismo CPG (que necesitan una respuesta rápida ante diferentes estímulos) se comunicarían entre si mediante la dinámica rápida (*spikes*) y la comunicación entre CPGs se podría realizar con una combinación de ambas. Si esto último es posible, tendríamos un nuevo *paradigma de comunicación* basado en el *reconocimiento de firmas neuronales*. Las neuronas no sólo serían resonantes a frecuencias de ISIs específicas [Izhikevich et al., 2003, Krahe and Gabbiani, 2004], sino que también podrían reaccionar de forma selectiva a la entrada recibida de ciertas neuronas identificadas por su firma. Si el sistema nervioso dispone de mecanismos para realizar este

reconocimiento, supondría que tiene una capacidad de codificar información muy superior a lo que se pensaba hasta el momento. Aún basándose en una codificación temporal, este código sería distinto de los códigos temporales estudiados hasta el momento, ya que hasta la fecha no se ha tenido en cuenta que una neurona pueda identificar el origen de su entrada sináptica para utilizarla en el procesamiento de la información.

Por último, una vez que conozcamos detalladamente el papel de las firmas en los sistemas biológicos, aplicaremos estos conocimientos al diseño de nuevos paradigmas de redes neuronales artificiales. En este campo existen pocas aproximaciones basadas en la codificación temporal de la información. Todas ellas se suelen basar en la conectividad como mecanismo de comunicación entre neuronas. El aprendizaje consiste en modificar los pesos de éstas para adaptar el comportamiento de la red a los patrones con los que se entrena. Por ejemplo, en las redes de Hopfield [Hopfield, 1982, Hopfield, 1984] todas las neuronas están conectadas entre si. En este tipo de redes, no hay forma de identificar la neurona o neuronas de las que procede la información recibida. Si las neuronas pudieran distinguir al emisor de la entrada que reciben, podrían procesar esta entrada de forma selectiva, lo que incrementaría la capacidad de la red. Nuestro objetivo será definir nuevos mecanismos de aprendizaje y procesamiento de información basados en el reconocimiento de firmas. Nuestra idea es definir un algoritmo de entrenamiento cuya regla de aprendizaje se base en procesar de formas diferentes los mensajes recibidos en función de la neurona emisora de los mismos.

## 4.7. Apéndice A: Modelos neuronales

En las simulaciones presentadas aquí se han utilizado tres modelos neuronales: el de Komendantov-Kononenko (KK) [Komendantov and Kononenko, 1996], una modificación del de Hindmarsh-Rose (HR) [Hindmarsh and Rose, 1984, Selverston et al., 2000, Pinto et al., 2000, Szücs et al., 2000] y el de Huerta et al. (Huerta) [Huerta et al., 2000]. Los tres son modelos dinámicos diferenciales cuyo comportamiento viene dado por la elección de los parámetros del modelo. En las siguientes secciones se muestran las ecuaciones que los definen y los parámetros elegidos para los distintos modos de comportamiento que pueden presentar las neuronas de los modelos.

### 4.7.1. Modelo de Komendantov-Kononenko

El modelo de Komendantov-Kononenko [Komendantov and Kononenko, 1996] se basa en datos experimentales [Kononenko, 1993] para modelar el comportamiento de ciertas neuronas de caracol con actividad *bursting*. Consta de ocho ecuaciones diferenciales de primer orden que definen cuatro componentes principales. (i) Un mecanismo que permite generar la onda lenta en el que intervienen las corrientes  $I_{Na}(V)$ ,  $I_K$ ,  $I_{Na}$  e  $I_B$ . (ii) Dos corrientes Hodgkin-Huxley [Hodgkin and Huxley, 1952], una de ellas sensible al sodio ( $I_{Na(TTX)}$ ) y la otra al potasio ( $I_{K(TEA)}$ ), que permiten generar la actividad *spiking*. (iii) Una corriente de calcio dependiente del potencial. (iv) Un buffer intracelular de calcio. La ecuación que

describe el comportamiento de la membrana citoplasmática en este modelo es:

$$-C_m \frac{dV}{dt} = I_{Na(TTX)} + I_{K(TEA)} + I_K + I_{Na} + I_{Na}(V) + I_B + I_{Ca} + I_{Ca-Ca} \quad (4.7)$$

donde  $C_m$  es la capacidad de la membrana y  $V$  el potencial de membrana (mV). Las ecuaciones que definen cada una de las corrientes de la ecuación 4.7 son:

$$I_{Na}(V) = g_{Na}^*(V)(1/(1 + \exp(-0,2(V + 45))))(V - V_{Na}) \quad (4.8)$$

$$I_K = g_K^*(V - V_K) \quad (4.9)$$

$$I_{Na} = g_{Na}^*(V - V_{Na}) \quad (4.10)$$

$$I_B = g_B^* m_B h_B (V - V_B) \quad (4.11)$$

$$dm_B/dt = (1/(1 + \exp(0,4(V + 34))) - m_B)/0,05 \quad (4.12)$$

$$dh_B/dt = (1/(1 + \exp(-0,55(V + 43))) - h_B)/1,5 \quad (4.13)$$

$$I_{Na(TTX)} = g_{Na(TTX)}^* m^3 h (V - V_{Na}) \quad (4.14)$$

$$I_{K(TEA)} = g_{K(TEA)}^* n^4 (V - V_K) \quad (4.15)$$

$$dm/dt = (1/(1 + \exp(-0,4(V + 31))) - m)/0,0005 \quad (4.16)$$

$$dh/dt = (1/(1 + \exp(0,25(V + 45))) - h)/0,01 \quad (4.17)$$

$$dn/dt = (1/(1 + \exp(-0,18(V + 25))) - n)/0,015 \quad (4.18)$$

$$I_{Ca} = g_{Ca}^* m_{Ca}^2 (V - V_{Ca}) \quad (4.19)$$

$$dm_{Ca}/dt = (1/(1 + \exp(-0,2V)) - m_{Ca})/0,01 \quad (4.20)$$

$$I_{Ca-Ca} = g_{Ca-Ca}^* \frac{1}{1 + \exp(-0,06(V + 45))} \frac{1}{1 + \exp(k_\beta([Ca] - \beta))} (V - V_{Ca}) \quad (4.21)$$

$$d[Ca]/dt = \rho \{-I_{Ca}/2Fv - k_s[Ca]\} \quad (4.22)$$

donde  $[Ca]$  es la concentración de calcio en el interior de la neurona (mM),  $F$  es la constante de Faraday ( $96,485 \text{ C mol}^{-1}$ ),  $v$  es el volumen de la célula ( $4\pi R^3/3$ ),  $k_s$  es el ratio de respuesta del calcio debido al almacenamiento intracelular y  $\rho$  es la capacidad del buffer de calcio.

<b>Modelo de Komendantov-Kononenko</b>								
	$g_K^*$	$g_{Na}^*$	$g_{Na}^*(V)$	$g_B^*$	$g_{Na}^*(TTX)$	$g_{K(TEA)}^*$	$g_{Ca}^*$	$g_{Ca-Ca}^*$
Regular	0'25	0'02	0'11	0'11	400'0	10'0	1'5	0'02
Spiking	0'25	0'0231	0'11	0'1372	400'0	10'0	1'5	0'02
Spiking-bursting caótico	0'25	0'02	0'13	0'18	400'0	10'0	1'5	0'01

<b>Modelo de Hindmarsh-Rose</b>			
	$\mu$	$\nu$	$I$
Regular	0'0021	0'0011	2'624
Spiking-bursting caótico	0'0031	0'0003	3'128

<b>Modelo de Huerta et al.</b>									
	$g_{Na}$	$g_{Kd}$	$g_{Lf}$	$g_{Vf,Vs}$	$g_{Ca}$	$g_{Ls}$	$g_h$	$g_{K(Ca)}$	$g_{Vs,Vf}$
Regular	80'0	13'0	0'024	0'11	1'0	0'0024	2'1	0'25	0'11

Tabla 4.3: Valores de las conductancias máximas de los canales iónicos de los modelos KK y Huerta et al. y de las constantes que definen el comportamiento de las neuronas HR utilizadas en nuestras simulaciones. Los tres tipos de neurona muestran diferentes comportamientos en función de estos valores. Las unidades son  $\mu S$  para KK y Huerta et al. y están dimensionadas para HR.

En las simulaciones con el modelo KK se van a utilizar tres modos de comportamiento: *regular*, *spiking* y *spiking-bursting caótico*. La Tabla 4.3 muestra los valores de las conductancias máximas de cada uno de los canales iónicos en estos modos de comportamiento. Las constantes del modelo, comunes en todas ellos son:  $V_{Na} = 40mV$ ,  $V_K = -70mV$ ,  $V_B = -58mV$ ,  $V_{Ca} = 150mV$ ,  $C_m = 0'02\mu F$ ,  $R = 0'1mm$ ,  $k_s = 50s^{-1}$ ,  $\rho = 0'002$ ,  $k_\beta = 15000mM^{-1}$  y  $\beta = 0'00004mM$ .

#### 4.7.2. Modelo de Hindmarsh-Rose

El modelo de Hindmarsh-Rose que hemos utilizado en nuestras simulaciones es una variación del original. Se trata de un modelo cuatridimensional definido por las ecuaciones:

$$\frac{dx}{dt} = ay(t) + bx^2(t) - cx^3(t) - dz(t) + I \quad (4.23)$$

$$\frac{dy}{dt} = e - fx^2(t) - y(t) - gw(t) \quad (4.24)$$

$$\frac{dz}{dt} = \mu(-z(t) + S(x(t) + h)) \quad (4.25)$$

$$\frac{dw}{dt} = \nu(-kw(t) + r(y(t) + l)) \quad (4.26)$$

donde  $x(t)$  representa el potencial de membrana de la neurona,  $y(t)$  es una corriente rápida,  $z(t)$  una lenta ( $\mu \ll 1$ ) y  $w(t)$  representa un flujo de calcio muy lento ( $\nu < \mu \ll 1$ ). Por su parte, a, b, c, d, I, e, f, g,  $\mu$ , S, h,  $\nu$ , k, r y l son parámetros ajustables que determinan el comportamiento del modelo. Las unidades en este modelo están dimensionadas.

Las tres primeras ecuaciones definen el modelo de Hindmarsh-Rose original [Hindmarsh and Rose, 1984]. Con estas tres ecuaciones se puede conseguir que el

modelo produzca una gran variedad de actividades *spiking-bursting*, incluyendo un régimen caótico muy similar al observado en las neuronas biológicas. Sin embargo, la actividad caótica del modelo se ve incrementado de forma significativa incluyendo una cuarta ecuación [Selverston et al., 2000, Pinto et al., 2000, Szücs et al., 2000].

En los dos modos de comportamiento que vamos a usar, *regular* y *spiking-bursting caótico*, se mantienen constantes los valores  $a = 1$ ,  $b = 3$ ,  $c = 1$ ,  $d = 1$ ,  $e = 1$ ,  $f = 5$ ,  $g = 0,0278$ ,  $S = 3,966$ ,  $h = 1,6$ ,  $k = 0,96$ ,  $r = 3$  y  $l = 1,6$ . De forma que en nuestro caso, los que realmente van a determinar el comportamiento del modelo son  $\mu$ ,  $\nu$  e  $I$  (Tabla 4.3)

### 4.7.3. Modelo de Huerta et al.

El modelo de Huerta et al. [Huerta et al., 2000] se basa en datos experimentales de neuronas del ganglio estomatógástrico [Turrigiano et al., 1995]. Es un modelo bicompartimental que, por un lado, modela el axón y, por otro, el soma. El axón es el generador de la onda rápida gracias a una corriente de sodio ( $I_{Na}$ ), una rectificadora de potasio retardada ( $I_{Kd}$ ) y una corriente de descarga ( $I_{Lf}$ ). Por su parte, el soma es una componente lenta que recibe una corriente de calcio ( $I_{Ca}$ ), una de descarga ( $I_{Ls}$ ), una de potasio dependiente del calcio ( $I_{K(Ca)}$ ) y una corriente inyectada ( $I_{dc}$ ). Matemáticamente, la ecuaciones que describe el comportamiento del axón y del soma son respectivamente:

$$C_m^{axon} V_f = -I_{Na} - I_{Kd} - I_{Lf} + I_{V_f, V_s} \quad (4.27)$$

$$C_m^{soma} V_s = -I_{Ca} - I_{Ls} - I_h - I_{K(Ca)} - I_{V_f, V_s} + I_{dc} \quad (4.28)$$

donde  $V_f$  es el potencial de membrana del axón y  $V_s$  el del soma (mV ambos) y  $C_m^{axon} = 0,33nF$  y  $C_m^{soma} = 0,5nF$  son las capacidades de membrana de ambos. Cualquiera de las corrientes recibidas por el soma o por el axón tiene una *función de activación* ( $m$ ) y una de *inactivación* ( $h$ ) dadas por:

$$\tau_m(V) \frac{dm}{dt} = m_\infty - m \quad y \quad \tau_h(V) \frac{dh}{dt} = h_\infty - h \quad (4.29)$$

Con estas funciones de activación e inactivación, las corrientes del axón se definen como:

- $I_{Na} = g_{Na} m^3 h(t) (V_f - 50)$ .  
Siendo  $m = m_\infty = \Gamma(-V_f, 4'5, 5'29)$ ,  $h_\infty = \Gamma(V_f, -28'9, 5'18)$ , y  $\tau_h = 0'67(1'5 + \Gamma(V_f, -14'9, 3'6))\Gamma(-V_f, -42'9, 10)$ .
- $I_{Kd} = g_{Kd} m^4 (V_f + 80)$ .  
Siendo  $m_\infty = \Gamma(-V_f, -7'7, 11'8)$ , y  $\tau_m = 7'2 - 6'4\Gamma(-V_f, 8'3, 19'2)$ .
- $I_{Lf} = g_{Lf} (V_f + 65)$
- $I_{V_f, V_s} = g_{fs} (V_s - V_f)$

Por su parte, las corrientes del soma están definidas por las ecuaciones:

- $I_{Ca} = g_{Ca} m^3 (V_s / (1 - \exp(2V_s/24'42)))$ .  
Siendo  $m_\infty = \Gamma(V_s, 21, 10)$  y  $\tau_m = 37'14 - 25'86\Gamma(-V_s, 10'1, 26'4)$ .

	$E_{syn}$	$V_{fast}$	$s_{fast}$	$s_{slow}$	$V_{slow}$	$k_1LP$	$k_2LP$	$k_1PY$	$k_2PY$
KK	-65'0	-44'7	0'31	1'0	-49'0	1'0	0'01	1'0	0'0275
HR	-1'92	-1'66	0'44	1'0	-1'74	0'74	0'007	0'74	0'015
Huerta et al.	-34'3	-26'2	0'33	0'92	-28'2	1'0	0'0233	1'0	0'0086

Tabla 4.4: Valores de los parámetros de las sinapsis químicas. Para el mismo tipo de neurona los valores son los mismos en todas las simulaciones independientemente del modelo de red. Las unidades son mV y msg para KK y Huerta et al. y están dimensionadas para HR.

- $I_{K(Ca)} = g_{K(Ca)}(V_s + 80)([Ca]^4/([Ca]^4 + K_{Ca}^4))(1/(1 + exp((-V_s - 36)/15)))(V_s + 80)$ .  
Siendo  $K_{Ca} = 0'4\mu M$ .
- $I_h = g_h m(V_s + 15)$ .  
Siendo  $m_\infty = \Gamma(V_s, -50'3, 10'5)$  y  $\tau_m = 7'2 - 6'4\Gamma(-V_s, 8'3, 19'2)$ .
- $I_{K(Ca)} = g_{Ls}(V_s + 65)$

En estas ecuaciones la función  $\Gamma(x, y, z)$  viene dada por:

$$\Gamma(x, y, z) = \frac{1}{1 + e^{\frac{x-y}{z}}} \quad (4.30)$$

La dinámica del calcio, en  $\mu M$ , se describe con la ecuación:

$$[Ca] = -\alpha I_{Ca} - \beta[Ca] + \gamma \quad (4.31)$$

con  $\alpha = 6'610^{-5}\mu M/msg$  por  $nA$ ,  $\beta = 1'2110^{-3}msg^{-1}$  y  $\gamma = 4'8410^{-5}\mu M/msg$ .

Por último, las conductancias de los canales son:  $g_{Na} = 80\mu S$ ,  $g_{Kd} = 30\mu S$ ,  $g_{Lf} = 0'02\mu S$ ,  $g_{fs} = 0'11\mu S$ ,  $g_{Ca2} = 1\mu S$ ,  $g_{K(Ca)} = 0'25\mu S$ ,  $g_h = 2'1\mu S$  y  $g_{Ls} = 0'0024\mu S$ .

Con el modelo de Huerta et al. sólo se va a usar un modo de comportamiento, uno *regular* que es capaz de generar una actividad, tanto lenta como rápida muy precisa. Los parámetros para conseguir este tipo de comportamiento son los que se muestran en la Tabla 4.3

## 4.8. Apéndice B: Modelos de sinápsis

En los modelos de red que se han presentado se pueden dar tres tipos de conexión diferentes entre dos neuronas: conexiones *eléctrica*, *químicas rápidas* y *químicas lentas*. Cada una de estas conexiones va a tener una componente en la corriente sináptica total que recibe una neurona, respectivamente,  $I_{elec}$ ,  $I_{fast}$  e  $I_{slow}$ . La corriente sináptica total es la suma de la cada una de estas componentes. Para calcular la corriente que recibe una neurona debida a cada tipo de conexión se han utilizado las siguientes ecuaciones:

$$I_{elecX} = \sum_Y g_{ElecYX}(V_X - V_Y) \quad (4.32)$$

		$g_{ABPD1}$	$g_{PD1AB}$	$g_{ABPD2}$	$g_{PD2AB}$	$g_{PD1PD2}$	$g_{PD2PD1}$
KK	(r)	0'0096	0'0096	0'0223	0'0223	0'0151	0'0151
	(c)	0'0096	0'0096	0'0223	0'0223	0'0151	0'0151
HR	(r)	0'325	0'325	0'548	0'548	0'332	0'332
	(c)	0'325	0'325	0'548	0'548	0'332	0'332
Huerta et al.	(r)	0'0322	0'0322	0'0428	0'0428	0'0519	0'0519
	(c)	0'0322	0'0322	0'0428	0'0428	0'0519	0'0519

Tabla 4.5: Valores de las conductancias máximas de las conexiones eléctricas en el grupo marcapasos.  $g_{XY}$  representa el peso de la conexión eléctrica entre la neurona X y la neurona Y. Las unidades son  $\mu S$  para KK Y Huerta et al. y están dimensionadas para HR. (r) y (c) denotan, respectivamente, los valores para el *circuito reducido* y para el *circuito completo*.

		$g_{ABLP}$	$g_{ABPY}$	$g_{LPAB}$	$g_{LPDP1}$	$g_{LPDP2}$	$g_{LPY}$	$g_{PYLP}$
KK	(r)	0.0446	0.0556	0.0578	—	—	0.0398	0.0311
	(c)	0.0446	0.0556	—	0.0211	0.0269	0.0398	0.0311
HR	(r)	0.112	0.120	0.585	—	—	0.241	0.186
	(c)	0.112	0.120	—	0.208	0.432	0.241	0.186
Huerta et al.	(r)	0'0033	0'0528	0'0853	—	—	0'0278	0'0336
	(c)	0'0033	0'0528	—	0'0511	0'0448	0'0278	0'0336

Tabla 4.6: Valores de las conductancias máximas de las conexiones químicas rápidas.  $g_{XY}$  representa el peso de la conexión entre la neurona X y la neurona Y. Las unidades son  $\mu S$  para KK y Huerta et al. y están dimensionadas para HR. (r) y (c) denotan, respectivamente, los valores para el *circuito reducido* y para el *circuito completo*.

		$g_{ABLP}$	$g_{ABPY}$	$g_{PD1LP}$	$g_{PD1PY}$	$g_{PD2LP}$	$g_{PD2PY}$
KK	(r)	0.0043	0.0056	—	—	—	—
	(c)	—	—	0.0015	0.0023	0.0033	0.0028
HR	(r)	0.032	0.029	—	—	—	—
	(c)	—	—	0.046	0.065	0.038	0.035
Huerta et al.	(r)	0'0063	0'0027	—	—	—	—
	(c)	—	—	0'0023	0'0011	0'0051	0'0025

Tabla 4.7: Valores de las conductancias máximas de las conexiones químicas lentas.  $g_{XY}$  representa el peso de la conexión entre la neurona X y la neurona Y. Las unidades son  $\mu S$  para KK y Huerta et al. y están dimensionadas para HR. (r) y (c) denotan, respectivamente, los valores para el *circuito reducido* y para el *circuito completo*.

$$I_{fastX} = \sum_Y \frac{g_{FastYX}(V_X - E_{syn})}{1 + \exp(s_{Fast}(V_{Fast} - V_Y))} \quad [\text{Golowasch et al., 1999}] \quad (4.33)$$

$$I_{slowX} = \sum_Y g_{SlowYX} m_{SlowX} (V_X - E_{syn}) \quad [\text{Golowasch et al., 1999}] \quad (4.34)$$

$$I_{synX} = I_{elecX} + I_{slowX} + I_{fastX} \quad (4.35)$$

siendo  $m_{SlowX}$ :

$$\frac{dm_{SlowX}}{dt} = \frac{k_1 X (1 - m_{SlowX})}{1 + \exp(s_{Slow}(V_{Slow} - V_{AB}))} - k_2 X m_{SlowX} \quad (4.36)$$

donde X es la neurona postsináptica e Y la presináptica de la conexión. La ecuación 4.33 define una conexión gradual entre neuronas.

Los valores de los parámetros de las sinápsis (Tabla 4.4) y los de las conductancias máximas de los canales iónicos (Tablas 4.5, 4.6 y 4.7) usados en las simulaciones para el mismo tipo de neurona son los mismos independientemente del modelo de red (circuitos *completos* y *reducidos* e *intactos* y *dañados*). Las conductancias eléctricas se eligen de tal forma que definen conexiones bidireccionales simétricas.

# Bibliografía

- [Adrian, 1926] E. D. Adrian (1926). The impulses produced by sensory nerve endings. *J. Physiol*, 61:49–72.
- [Aihara and Matsumoto, 1986] K. Aihara and G. Matsumoto (1986). Chaotic oscillations and bifurcations in squid giants axons. *Chaos*, pages 257–269.
- [Arshavsky et al., 1985a] Y. I. Arshavsky, I.Ñ. Beloozerova, G.Ñ. Orlovsky, Y. V. Panchin and G. A. Pavlova (1985a). Control of locomotion in marine mollusc cione limacina. 1. Efferent activity during actual and fictitious swimming. *Exp Brain Res*, 58:255–262.
- [Arshavsky et al., 1985b] Y. I. Arshavsky, I.Ñ. Beloozerova, G.Ñ. Orlovsky, Y. V. Panchin and G. A. Pavlova (1985b). Control of locomotion in marine mollusc cione limacina. 2. Rhythmic neurons of pedal ganglia. *Exp Brain Res*, 58:263–272.
- [Arshavsky et al., 1985c] Y. I. Arshavsky, I.Ñ. Beloozerova, G.Ñ. Orlovsky, Y. V. Panchin and G. A. Pavlova (1985c). Control of locomotion in marine mollusc cione limacina. 3. On the origin of locomotory rhythm. *Exp Brain Res*, 58:273–284.
- [Ayali and Harris-Warrick, 1999] A. Ayali and R. M. Harris-Warrick (1999). Monoamine control of the pacemaker kernel and cycle frequency in the lobster pyloric network. *J. Neurosci*, 19:6712–6722.
- [Azouz and Gray, 1999] R. Azouz and C. M. Gray (1999). Cellular mechanisms contributing to response variability of cortical neurons in vivo. *J. Neurosci.*, 19:2209–2223.
- [Barnes, 1998] D. Barnes (1998). Hexapodal robot locomotion over uneven terrain. *Proceedings of the 1998 IEEE Intl.*
- [Berry et al., 1997] M. J. Berry, D. K. Warland and M. Meister (1997). The structure and precision of retinal spike trains. *Proc Natl Acad Sci USA*, 94:5411–5416.
- [Bialek et al., 1991] W. Bialek, F. Rieke, R. de Ruyter van Steveninck and D. Warland (1991). Reading a neural code. *Science*, 252:1854–1857.
- [Bidaut, 1974] M. Bidaut (1974). Pharmacological dissection of pyloric network of the lobster stomatogastric ganglion using picrotoxin. *J Neurophysiol*, 44:1089–1101.
- [Brezina et al., 2000] V. Brezina, I. V. Orekhova and K. R. Weiss (2000). The neuromuscular transform: the dynamic, nonlinear link between motor neuron firing patterns and muscle contraction in rhythmic behaviors. *J Neurophysiol*, 83:207–231.

- [Brodfehner et al., 1995] P. D. Brodfuehrer, E. A. Debski, B. A. O’Gara and W. O. Friesen (1995). Neuronal control of leech swimming. *J Neurobiol*, 27:403–418.
- [Buracas et al., 1998] G. T. Buracas, A. M. Zador, M. R. DeWeese and T. D. Albright (1998). Efficient discrimination of temporal patterns by motion-sensitive neurons in primate visual cortex. *Neuron*, 20(5):959–969.
- [Chacron et al., 2001] M. J. Chacron, A. Longtin and L. Maler (2001). Negative interspike interval correlations increase the neuronal capacity for encoding time dependent stimuli. *J. Neurosci*, 21:5328–5343.
- [Chi and Margoliash, 2001] Z. Chi and D. Margoliash (2001). Temporal precision and temporal drift in brain and behavior of zebra finch song. *Neuron*, 32:899–910.
- [Cover and Thomas, 1991] T. M. Cover and J. A. Thomas (1991). *Elements of Information Theory*. Wiley and Sons.
- [de Ruyter van Steveninck et al., 1997] R. de Ruyter van Steveninck, G. D. Lewen, S. P. Strong and R. K. W. Bialek (1997). Reliability and variability in neural spike trains. *Science*, 275:1805–1808.
- [Dekhuijzen and Bagust, 1996] A. J. Dekhuijzen and J. Bagust (1996). Analysis of neural bursting: nonrhythmic and rhythmic activity in isolated spinal cord. *J Neurosci Methods*, 67:141–147.
- [Eguia et al., 2000] M. C. Eguia, M. I. Rabinovich and H. D. I. Abarbanel (2000). Information transmission and recovery in neural communications channels. *Phys. Rev. E*, 62:7111–7122.
- [Elson et al., 1999] R. C. Elson, R. Huerta, H. D. I. Abarbanel, M. I. Rabinovich and A. I. Selverston (1999). Dynamic control of irregular bursting in an identified neuron of an oscillatory circuit. *J. Neurophysiol.*, 82:115–122.
- [Elson et al., 1998] R. C. Elson, A. I. Selverston, R. Huerta, N. F. Rulkov, M. I. Rabinovich and H. D. I. Abarbanel (1998). Synchronous behavior of two coupled biological neurons. *Phys Rev Lett*, 81(25):5692–5695.
- [Elson et al., 2001] R. C. Elson, A. I. Selverston, M. I. Rabinovich and H. D. I. Abarbanel (2001). Dynamical roles of cellular properties in irregular bursting of a stomatogastric neuron. *Society for Neuroscience Abs*, 27:730.10.
- [Fausett, 1994] L. Fausett, editor (1994). *Fundamentals of Neural Networks*. Prentice-Hall Inc.
- [Ferster and Spruston, 1995] D. Ferster and N. Spruston (1995). Cracking the neuronal code. *Science*, 270:756–757.
- [Fitzpatrick et al., 1997] D. C. Fitzpatrick, R. Batra, T. R. Stanford and S. Kuwada (1997). A neuronal population code for sound localization. *Nature*, 388(6645):871–874.

- [Fukuoka et al., 2003] Y. Fukuoka, H. Kimura and A. H. Cohen (2003). Adaptive dynamic walking of a quadruped robot on irregular terrain based on biological concepts. *The International Journal of Robotics Research*, 22 (3-4):187–202.
- [Georgopoulos et al., 1986] A. P. Georgopoulos, A. B. Schwartz and R. E. Kettner (1986). Neuronal population coding of movement direction. *Science*, 233:1416–1419.
- [Golowasch et al., 1999] J. Golowasch, M. Casey, L. F. Abbott and E. Marder (1999). Network stability from activity-dependent regulation of neuronal conductances. *Neural Comp*, 11:1079–1096.
- [Graubard, 1978] K. Graubard (1978). Synaptic transmission without action potentials: input-output properties of a nonspiking presynaptic neuron. *J Neurophysiol*, 41:1014–1025.
- [Harris-Warrick et al., 1992] R. M. Harris-Warrick, E. Marder, A. I. Selverston and M. Moulins, editors (1992). *Dynamic Biological Networks: The Stomatogastric Nervous System*. Cambridge, MA: MIT Press.
- [Hartline and Gassier, 1979] D. K. Hartline and D. V. Gassier (1979). Pattern generation in the lobster (panulirus) stomatogastric ganglion. *Biological Cybernetics*, 33:209–222.
- [Hartline and Maynard, 1975] D. K. Hartline and D. M. Maynard (1975). Motor patterns in the stomatogastric ganglion of the lobster panulirus interruptus. *J. exp. Biol.*, 62:405–420.
- [Hayashi and Ishizuka, 1992] H. Hayashi and S. Ishizuka (1992). Chaotic nature of bursting discharges in the onchidium pacemaker neuron. *J. Theor. Biol.*, 156:269–291.
- [Haykin, 1998] S. Haykin (1998). *Neural Networks: A Comprehensive Foundation*. Prentice-Hall Inc., second edition.
- [Hindmarsh and Rose, 1984] J. L. Hindmarsh and R. M. Rose (1984). A model of neuronal bursting using tree coupled first order differential equations. *Philos Trans Royal Soc London*, B221:87–102.
- [Hodgkin and Huxley, 1952] A. L. Hodgkin and A. F. Huxley (1952). A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. *J Physiol*, (London) 117:500–544.
- [Hooper, 1997] S. L. Hooper (1997). Phase maintenance in the pyloric pattern of the lobster (panulirus interruptus) stomatogastric ganglion. *J Comput Neurosci*, 4:191–205.
- [Hooper and Weaver, 2000] S. L. Hooper and A. L. Weaver (2000). Motor neuron activity is often insufficient to predict motor response. *Curr Opin Neurobiol*, 10:676–682.
- [Hopfield, 1982] J. J. Hopfield (1982). Neural networks and physical systems with emergent collective computational abilities. *Proceedings of the National Academy of Scientists*, 79:2554–2558.

- [Hopfield, 1984] J. J. Hopfield (1984). Neurons with graded response have collective computational properties like those of two-state neurons. *Proceedings of the National Academy of Scientists*, 81:3088–3092.
- [Huerta et al., 2000] R. Huerta, M. A. Sánchez-Montañés, F. Corbacho and J. A. Sigüenza (2000). A central pattern generator to control a pyloric-based system. *Biological Cybernetics*, 82:85–94.
- [Hunter and Milton, 2003] J. D. Hunter and J. G. Milton (2003). Amplitude and frequency dependence of spike timing: Implications for dynamic regulation. *J. Neurophysiol*, 90:387–394.
- [Izhikevich et al., 2003] E. Izhikevich, N. S. Desai, E. C. Walcott and F. C. Hoppensteadt (2003). Bursts as a unit of neural information: selective communication via resonance. *Trends in Neuroscience*, 26(3):161–167.
- [Katz et al., 1994] P. S. Katz, P. A. Getting and W.Ñ. Frost (1994). *Nature*, 367:729–731.
- [Kepecs and Lisman, 2003] A. Kepecs and J. Lisman (2003). Information encoding and computation with spikes and bursts. *Network: Comput. Neural Syst*, 14:103–118.
- [Komendantov and Kononenko, 1996] A. O. Komendantov and N. I. Kononenko (1996). Deterministic chaos in mathematical model of pacemaker activity in bursting neurons of snail, *helix pomatia*. *J theor Biol*, 183:219–230.
- [Kononenko, 1993] N. I. Kononenko (1993). Mechanisms of membrane potential oscillation in bursting neurons of the snail, *helix pomatia*. *Comp Biochem Physiol*, 106A:135–147.
- [Krahe and Gabbiani, 2004] R. Krahe and F. Gabbiani (2004). Burst firing in sensory systems. *Nature Reviews Neuroscience*, 5:13–24.
- [Latorre et al., 2002] R. Latorre, F. B. Rodríguez and P. Varona (2002). Characterization of triphasic rhythms in central pattern generators (i): Interspike interval analysis. *Lect. Notes Comput. Sc.*, 2415:160–166.
- [Latorre et al., 2004a] R. Latorre, F. B. Rodríguez and P. Varona (2004a). Effect of individual spiking activity on rhythm generation of central pattern generators. *Neurocomp*, 58-60:535–540.
- [Latorre et al., 2004b] R. Latorre, F. B. Rodríguez and P. Varona (2004b). Neural signatures: Multiple coding in spiking bursting cells (en preparación).
- [Lisman, 1997] J. E. Lisman (1997). Bursts as a unit of neural information: making unreliable synapses reliable. *Trends Neurosci*, 20:38–43.
- [Marder and Calabrese, 1996] E. Marder and R. L. Calabrese (1996). Principles of rhythmic motor pattern production. *Physiol Rev*, 76:687–717.
- [Marder and Eisen, 1984] E. Marder and J. S. Eisen (1984). Transmitter identification of pyloric neurons: electrically coupled neurons use different transmitter. *J Neurophysiol*, 51:1345–1361.

- [McCormick and Contreras, 2001] D. A. McCormick and D. Contreras (2001). On the cellular and network bases of epileptic seizures. *Annu. Rev. Physiol.*, 63:815–846.
- [Morris et al., 2000] L. G. Morris, J. B. Thuma and S. L. Hooper (2000). Muscles express motor patterns of non-innervating neural networks by filtering broad-band input. *Nat Neurosci*, 3:245–250.
- [Mulloney and Selverston, 1974] B. Mulloney and A. I. Selverston (1974). Organization of the stomatogastric ganglion of the spiny the lobster. i. neurons driving the lateral teeth. *J Comp Physiol*, 91:1–32.
- [Nádasdy, 2000] Z. Nádasdy (2000). Spike sequences and their consequences. *J. Physiol (Paris)*, 94:505–524.
- [Nadim et al., 1999] F. Nadim, Y. Manor, N. Kopell and E. Marder (1999). Synaptic depression creates a switch that controls the frequency of an oscillatory circuit. *Proc Natl Acad Sci USA*, 96:8206–8211.
- [Nirenberg and Latham, 2003] S. Nirenberg and P. E. Latham (2003). Decoding neuronal spike trains: How important are correlations? *Proc Natl Acad Sci USA*, 100(12):7348–7353.
- [Nusbaum et al., 2001] M. P. Nusbaum, D. M. Blitz, A. M. Swensen, D. Wood and E. Marder (2001). The roles of co-transmission in neural network modulation. *Trends Neurosci*, 24:146–154.
- [Parzen, 1962] E. Parzen (1962). On estimation of a probability density function and mode. *Ann Math Stats*, 33:1065–1076.
- [Pearson and Fourtner, 1975] K. G. Pearson and C. R. Fourtner (1975). Nonspiking interneurons in walking systems of the cockroach. *J Neurophysiol*, 38:33–52.
- [Pike et al., 1999] F. G. Pike, R. M. Meredith, A. W. A. Olding and O. Paulsen (1999). Postsynaptic bursting is essential for 'hebbian' induction of associative long-term potentiation at excitatory synapses in rat hippocampus. *J. Physiol. (Lond)*, 518:571–576.
- [Pinto et al., 2000] R. D. Pinto, P. Varona, A. R. Volkovski, A. Szücs, H. D. I. Abarbanel and M. I. Rabinovich (2000). Synchronous behavior of two coupled electronic neurons. *Physiol Rev E*, 62:2644–2656.
- [Raper, 1979] J. A. Raper (1979). Nonimpulse-mediated synaptic transmission during the generation of a cycle motor program. *Science*, 205:304–306.
- [Reinagel and Reid, 2000] P. Reinagel and R. C. Reid (2000). Temporal coding of visual information in the thalamus. *J. Neurosci*, 20:5392–5400.
- [Reinagel and Reid, 2002] P. Reinagel and R. C. Reid (2002). Precise firing events are conserved across neurons. *J. Neurosci*, 22(16):6837–6841.
- [Rieke et al., 1997] F. Rieke, D. Warland, R. de Ruyter van Steveninck and W. Bialek (1997). *Spikes: Exploring the Neuronal Code*. A Bradford Book. MIT Press Cambridge, Massachusetts, London, England.

- [Roberts and Bush, 1981] A. Roberts and B. M. H. Bush (1981). *Neurons without impulses*. Cambridge Univ Press, Cambridge.
- [Rodríguez et al., 2002] F. B. Rodríguez, R. Latorre and P. Varona (2002). Characterization of triphasic rhythms in central pattern generators (ii): Burst information analysis. *Lect. Notes Comput. Sc.*, 2415:167–173.
- [Rodríguez et al., 2001] F. B. Rodríguez, P. Varona, R. Huerta, M. I. Rabinovich and H. D. I. Abarbanel (2001). Richer network dynamics of intrinsically non-regular neurons measured through mutual information. *Lect. Notes Comput. Sc.*, 2084:490–497.
- [Sanderson and Kobler, 1976] A. C. Sanderson and B. Kobler (1976). Sequential interval histogram analysis of non-stationary neural spike trains. *Biological Cybernetics*, 22:61–71.
- [Segundo et al., 1998] J. P. Segundo, G. Sugihara, P. Dixon, M. Stiber and L. F. Bersier (1998). The spike trains of inhibited pacemaker neurons seen through the magnifying glass of non linear analysis. *Neuroscience*, 87:741–766.
- [Selverston, 1999] A. I. Selverston (1999). What invertebrate circuits have taught us about the brain. *Brain Research Bulletin*, 50(5-6):439–40.
- [Selverston and Moulines, 1987] A. I. Selverston and M. Moulines, editors (1987). *The Crustacean Stomatogastric System: a Model for the Study of Central Nervous System*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York London Paris Tokyo.
- [Selverston and Mulloney, 1974] A. I. Selverston and B. Mulloney (1974). Organization of the stomatogastric ganglion of the spiny lobster. ii. neurons driving the medial tooth. *J Comp Physiol*, 91:33–51.
- [Selverston et al., 2000] A. I. Selverston, M. I. Rabinovich, H. D. I. Abarbanel, R. Elson, A. Szcs, R. D. Pinto, R. Huerta and P. Varona (2000). Reliable circuits from irregular neurons: A dynamical approach to understand central pattern generators. *J Physiol*, (París) 94:357–374.
- [Shadlen and Movshon, 1999] M.Ñ. Shadlen and J. A. Movshon (1999). Synchrony unbound: A critical evaluation of the temporal binding hypothesis. *Neuron*, 24:67–77.
- [Shannon, 1948] C. E. Shannon (1948). A mathematical theory of communication. *Bell Sys. Tech. J.*, 27:379–423 623–656.
- [Softky, 1995] W. R. Softky (1995). Simple codes versus efficient codes. *Curr Opin Neurobiol*, 5:239–247.
- [Stevens and Zador, 1995] C. F. Stevens and A. Zador (1995). Neural coding: The enigma of the brain. *Current Biology*, 5:1370–1371.
- [Strong et al., 1998] S. P. Strong, R. Koberle, R. de Ruyter van Steveninck and W. Bialek (1998). Entropy and information in neural spike train. *Physical Reveiw Letters*, 80(1):197–200.
- [Swensen and Marder, 2001] A. M. Swensen and E. Marder (2001). Modulators with convergent cellular actions elicit distinct circuit outputs. *J. Neurosci*, 21:4050–4058.

- [Szücs et al., 2000] A. Szücs, R. C. Elson, M. I. Rabinovich, H. D. I. Abarbanel and A. I. Selverston (2000). Nonlinear behavior of sinusoidally forced pyloric pacemaker neurons. *J Neurophysiol*, 85:1623–1638.
- [Szücs et al., 2003] A. Szücs, R. D. Pinto, M. I. Rabinovich, H. D. I. Abarbanel and A. I. Selverston (2003). Synaptic modulation of the interspike interval signatures of bursting pyloric neurons. *J Neurophysiol*, 89:1363–1377.
- [Theunissen and Miller, 1995] F. Theunissen and J. P. Miller (1995). Temporal encoding in nervous systems: a rigorous definition. *J Comput Neurosci*, 2(2):149–162.
- [Thoby-Brisson and Simmers, 1998] M. Thoby-Brisson and J. Simmers (1998). Neuro-modulatory inputs maintain a lobster motor pattern-generating network in a modulation-dependent state: Evidence from long-term decentralization in vivo. *J Neurosci*, 18:2212–2225.
- [Turrigiano et al., 1995] G. G. Turrigiano, G. LeMasson and E. Marder (1995). Selective regulation of current densities underlies spontaneous changes in the activity of cultured neurons. *J Neurosci*, 15:3640–3652.
- [Varona et al., 2001] P. Varona, J. J. Torres, R. Huerta, H. D. I. Abarbanel and M. I. Rabinovich (2001). Regularization mechanisms of spiking-bursting neurons. *Neural Netw*, 14:865–875.