

UCH-FC
MAG-B
H 582
C. 1

CORRELACIONES ESPACIOTEMPORALES DENTRO Y ENTRE
SUBPOBLACIONES DE CÉLULAS GANGLIONARES ON Y OFF DE LA
RETINA DE *Octodon degus*

TESIS
ENTREGADA A LA
UNIVERSIDAD DE CHILE
EN CUMPLIMIENTO PARCIAL DE LOS REQUISITOS
PARA OPTAR AL GRADO DE

MAGÍSTER EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

FACULTAD DE CIENCIAS

POR
RUBÉN HERZOG AMUNÁTEGUI

ENERO 2016

DIRECTOR DE TESIS: DR. JUAN CARLOS LETELLIER
CO-DIRECTOR DE TESIS: DR. ADRIÁN PALACIOS



FACULTAD DE CIENCIAS

UNIVERSIDAD DE CHILE

INFORME DE APROBACION

TESIS DE MAGÍSTER

Se informa a la Escuela de Postgrado de la Facultad de Ciencias que la Tesis de Magíster presentada por el candidato:

RUBÉN HERZOG AMUNÁTEGUI

Ha sido aprobada por la comisión de Evaluación de la tesis como requisito para optar al grado de Magíster en Ciencias Biológicas, en el examen de Defensa Privada de Tesis rendido el día Miércoles 23 de Diciembre de 2015.

Director de Tesis:
Dr. Juan Carlos Letelier

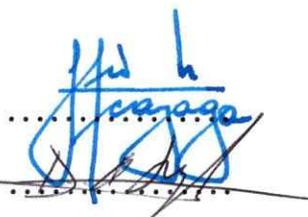


Co-Director de Tesis
Dr. Adrián Palacios

.....

Comisión de Evaluación de la Tesis

Dr. Julio Alcayaga



Dr. Daniel Basilio

PALABRAS INICIALES

*Siento no saber nada bueno,
ni poder enseñar a los hombres cosa alguna
que logre convertirlos o hacerlos mejores.
(...) Por tal motivo me entregué a la magia.
¡Ah! ¡Si por la fuerza del Espíritu y de la Palabra
(...) me fuesen revelados algunos misterios,
no me vería, como hasta ahora,
obligado a hacer un comercio de palabras huecas!*

Fausto, Goethe.

BIOGRAFÍA



Nací el 17 de febrero de 1991 en Santiago de Chile. Tempranamente me interesé por observar, disectar y reconstruir objetos. Posteriormente, llegó el interés por los números y los computadores. Luego de varios años, siguiendo un inocente deseo de cuidar y proteger el ambiente, entré a Biología Ambiental a la Universidad de Chile en 2009, donde rápidamente cambié de parecer, motivado por temas más teóricos como los trabajos de Biología Teórica del Prof. Letelier y colaboradores, y comencé a tomar ramos de Licenciatura en Biología. Finalmente egresé de Licenciatura en Biología en 2012 y entré al Magíster el año siguiente, donde bajo la tutoría del Prof. Letelier conocí al Prof. Palacios donde encontré un nutritivo y permisivo ambiente para desarrollar mis intereses por lo numérico, lo teórico y lo biológico.

AGRADECIMIENTOS

Comenzaré por agradecer a las personas emocionalmente fundamentales. A mi padre y madre por la libertad de acción y elección que logramos construir mediante innumerables diálogos. A Samy, quién ha sido mi compañero de academia, ciencia, experimentación, casa y vida. Agradezco a Milagros, quién en un encuentro mágico, apareció endulzando mi vida con ricas dosis de amor, dentro de tanto amargor académico e insipidez numérica. Los amo. Agradezco a todos mis amigos de Santiago, que siempre fueron un buen motivo para procrastinar y para permitirme el ocio y el jolgorio. Nombrarlos a todos sería transformar esta sección en un brindis.

En lo académico, agradezco a mi primer guía científico, Patricio Iturriaga, quién me enseñó prácticas de laboratorio que simplifican mi quehacer dentro del laboratorio. No olvidar que también estamos jugando y que jugando aprendemos mejor. A Gonzalo Robledo, quién por primer vez me hizo llegar un libro de modelos matemáticos para sistemas ecológicos. A Juan Carlo Letelier, por su buen sentido del humor, por su mirada alternativa de los problemas y su enorme voluntad de ayudar. A mi co-tutor, Adrián Palacios, por su confianza, financiamiento y ayuda. Por entregarme siempre un cable a tierra. A Jorge Mpodozis por la nutritiva conversación y fundamentales aportes al momento de entender a los sistemas vivos en sus complicadas dimensiones y operaciones. A María José Escobar, quién siempre me aportó una rica conversación en torno a la retina, condimentadas con buen humor y calidez. A Tim Gollisch y su laboratorio en Göttingen, quienes me recibieron y me enseñaron gran parte de las técnicas que hoy manejo para analizar los datos de la retina. A Bruno Cessac, que me recibió en el INRIA dos veces, siempre con buena disposición, mostrándome, desde la física, otra perspectiva de la retina.

A a todos los colegas (Lab. de Adrián Palacios y Lab. de María José) por las discusiones y por procurar un ambiente relajado de trabajo.

Agradezco particularmente a Janet Guzman quién siempre me ha ayudado con la difícil burocracia de la Universidad de Chile.

Agradezco a CONICYT que financió mi Magíster y a Vicerrectoría de Asuntos Académicos de la Universidad de Chile, que financió mi pasantía en Göttingen y a los proyectos FONDECYT #1110292, #1150638, Instituto Científico Milenio CINV IC09-022-P, ANR-47-CONICYT.

Índice

Palabras Iniciales	ii
Biografía	iii
Agradecimientos	iv
Índice	v
Índice de tablas	vii
Índice de figuras	viii
Abreviaciones y Símbolos	ix
Resumen	x
Abstract	xi
1 Introducción	1
1.1 Redes Neuronales y Conectividad	1
1.1.1 ¿Porque Redes Neuronales?	2
1.1.2 Arquitecturas y Tipos de Conectividad	2
1.2 Retina: Un Modelo de Red Neuronal	3
1.2.1 Organización de la Red Retiniana: Diversidad Celular y Sináptica.	3
1.2.2 Correlaciones en los Trenes de Espigas de Células Ganglionares de la Retina (CGR): Estudiando la Conectividad Funcional	5
1.2.3 Orígenes de las Correlaciones en las CGR: Mecanismos	7
1.3 El Problema	9
1.3.1 Restricciones Espaciales de la Conectividad Funcional	10
1.3.2 Temporalidad de las Correlaciones	10
2 Materiales y Métodos	11
2.1 Parte Experimental	11
2.1.1 Animales y Preparación Biológica	11
2.1.2 Set-up Experimental y Registros con Matriz de Multi-Electrodos	11
2.1.3 Condiciones Experimentales y Estímulos	11
2.2 Análisis Computacional	12
2.2.1 Spike-Sorting: Del Registro Electrofisiológico al Raster Plot	12
2.2.2 Estimación de los Campos Receptivos	12

2.2.3	Clasificación de las CGR en base a la Polaridad: Subpoblaciones ON y OFF .	13
2.2.4	Rasters sintéticos	13
2.2.5	Espaciamiento entre los Filtros Espaciales	13
2.2.6	Correlaciones Espaciotemporales	14
2.2.7	Extensión Espacial de las Correlaciones	15
2.2.8	Evolución Temporal de las Correlaciones	15
2.2.9	Comparaciones Estadísticas	15
3	Resultados	17
3.1	Conjuntos de Datos	17
3.1.1	Subpoblaciones ON y OFF y sus campos receptivos	17
3.1.2	Número de Neuronas y Tasas de Disparo	20
3.1.3	Actividad (Sub)Poblacional	21
3.2	Análisis de Correlaciones	23
3.2.1	Efecto Global del Estímulo: Interacciones Dentro y Entre Subpoblaciones	25
3.2.2	Efecto Global del Estímulo: Comparando entre Estímulos con δCC	28
3.2.3	Extensión Espacial de las Correlaciones	32
3.2.4	Evolución Temporal de las Correlaciones	38
4	Discusión	42
4.1	Subpoblaciones y cambios en las tasas de disparo	42
4.1.1	Superficie Registrada y Número de CGR	42
4.1.2	Clasificación de las CGR y Campos Receptivos	43
4.1.3	Preferencia a Estímulos y Cambios en las Tasas de Disparo	44
4.2	Correlaciones Espaciotemporales	46
4.2.1	Cambios Globales en las Correlaciones	47
4.2.2	Interracciones dentro y entre Subpoblaciones	48
4.2.3	Evolución Temporal de las Correlaciones	49
5	Conclusiones	51
6	Bibliografía	52

Índice de tablas

1	Áreas de campos receptivos y Espaciamiento entre ellos	20
2	Tasas de disparo por tipo y condición	20
3	Contribución de Subpoblaciones a la Actividad Poblacional	22
4	Contribución de las interacciones entre y dentro subpoblaciones a la evolución temporal de las correlaciones para CGR adyacentes	39
5	Contribución de las interacciones entre y dentro subpoblaciones a la evolución temporal de la línea base de la correlaciones	39

Índice de figuras

1	Redes del Cerebro	2
2	La Retina de Vertebrados	4
3	Correlaciones en 40 CGR de salamandra	7
4	Mecanismos Involucrados en Correlaciones	8
5	Tipos de Correlaciones Rápidas	9
6	Dependencia con el estímulo y extensión espacial de las correlaciones	10
7	Filtros Espaciales y Temporales para CGR ON y OFF	18
8	Área de los Filtros Espaciales y Espaciamiento entro CGR	19
9	Tasas de disparo por tipo y condición	21
10	Actividad Poblacional por Tipo y Condición	22
11	Ejemplo de Función Correlación Cruzada para pares de CGR ON-ON, OFF-OFF y ON-OFF	24
12	Dependencia de las correlaciones con las tasas de disparo	25
13	Histograma de Valores de Correlación Empírica	27
14	Histograma de Valores de Correlación para rasters Sintéticos	28
15	Diferencia en las Correlaciones Empíricas	29
16	Diferencia en las Correlaciones para raster Sintéticos	31
17	Extensión Espacial de las Correlaciones	33
18	Extensión Espacial de las Correlaciones Independientes de las Tasas de Disparo	34
19	Correlaciones más allá del solapamiento	36
20	Correlaciones Independientes de la Tasa de Disparo más allá del Solapamiento	37
21	Correlaciones en el Tiempo	38
22	Histograma de Correlaciones en el tiempo	40

Abreviaturas y Símbolos

CGR	Célula(s) Ganglionar(es) de la Retina
CG	Capa Ganglionar
CPI	Capa Plexiforme Interna
CPE	Capa Plexiforme Externa
CNE	Capara Nuclear Externa
CNI	Capa Nuclear Interna
A	Célula Amacrina
BP	Célula Bipolar
FR	Fotorreceptor
H	Célula Horizontal
SN	Sistema Nervioso
MEA	Multi-Electrode Array, Matriz de Multi-Electrodos
FCC	Función Correlación Cruzada
AEE	Actividad Escotópica Espontánea
AFE	Actividad Fotópica Espontánea
RB	Ruido Blanco
PN	Película Natural
CR	Campo(s) Receptivo(s)
PCA	Principal Component Analysis
STA	Spike-Triggered Average
SVD	Singular Value Decomposition
s	Espaciamiento
d_{ij}	Distancia euclideana entre el centro del CR de la neurona i y la neurona j
r_i, r_j	Radio menor del CR de la neurona i y j , respectivamente
ρ_a, ρ_b	Conjunto de valores de correlación de a pares para condición a y b , respectivamente
δCC	Cambio global en las correlaciones entre dos condiciones
K-S	Kolmogorov-Smirnov

RESUMEN

Las correlaciones en los patrones de disparo de las Células Ganglionares de la Retina (CGR) han sido observadas en diferentes especies de vertebrados ocurriendo no solo en respuesta a estímulos dinámicos, sino que también frente a estímulos estáticos. Actualmente, con el desarrollo de las matrices de multi-electrodos (MEA, por sus iniciales en inglés), es posible registrar cientos de neuronas simultáneamente, permitiendo estudiar la actividad colectiva de ellas. Esta actividad colectiva muestra correlaciones, las que presentan diversas temporalidades dependiendo de los mecanismos que las generan. Los mecanismos involucrados en las interacciones dependerán de los tipos de CGR, de la distancia entre CGR y del estímulo. Aquí, se probó estímulos modulados y no modulados espaciotemporalmente y también una película natural, con el fin de estudiar la extensión espacial de las correlaciones en la retina y su dependencia con el estímulo y el tipo de CGR involucrada en la interacción. Cambios en esta extensión espacial sugerirían cambios en los mecanismos que generan estas correlaciones. Entonces, en este trabajo se registró la retina *in vitro* de *Octodon degus* utilizando MEA, para posteriormente analizar la extensión espacial correlaciones espaciotemporales entre y dentro de subpoblaciones de CGR ON y OFF frente a diversos estímulos, encontrando que la película natural evoca la mayor extensión espacial como también el mayor nivel basal de las correlaciones en las poblaciones estudiadas. Esta mayor extensión espacial podría estar dada por la actividad de amacrinas activadas específicamente por las características de dicho estímulo, activando concertadamente a CGR no solapadas en sus campos receptivos. Finalmente, se encontró que la subpoblación OFF conduce mayormente la actividad concertada de todas las CGR y que la película natural disminuye la segregación funcional entre la subpoblación ON y OFF, al compararla con otros estímulos.

ABSTRACT

Correlations between Retinal Ganglion Cells (RGC) firing patterns have been observed on several vertebrates, occurring not only in response to dynamic stimuli, but also to static ones. Currently, with the development of the Multi-Electrode Arrays (MEA), it is possible to record hundreds of neurons simultaneously, allowing the study of the collective activity of them. This collective activity shows correlations with different temporalities, depending on the generating mechanisms. The mechanisms involved on the interactions will depend on the type of RGC, the distance between them and the stimuli. Here, spatiotemporal modulated and unmodulated stimuli was tested and also a natural movie, with the goal of study the spatial extension of the correlation on the retina and its dependence on the stimuli and the type of RGC involved on the interaction. Changes on this spatial extension would suggest changed on the mechanisms generating those correlations. So, in this work *Ocotodon degus in vitro* retinas were recorded using MEA, then the spatial extension of the spatiotemporal correlations between and within ON and OFF RGC were analyzed under several stimuli, finding that natural movie evokes the higher spatial extension and also the higher basal level of correlations. This higher spatial extension could be generated by the activity of amacrine cells activated specifically by the features of the natural movie, activating in a concerted manner a RGC with non-overlapping receptive fields. Finally, it was found that the OFF subpopulation mainly drives the whole population activity and that the natural movie decreases the functional segregation between ON and OFF subpopulations, when compared to other stimuli.

1 INTRODUCCIÓN

En diversos niveles de observación de los fenómenos biológicos es posible describir agentes que interactúan entre ellos, componiendo un sistema con dimensión operacional diferente a la dimensión en la cual operan dichos agentes. Dichos agentes, desde una perspectiva de teoría de grafos, serán llamados nodos, mientras que la interacción entre ellos se denomina una arista, la que representa la conexión entre ellos. Ejemplos de lo anterior son especies biológicas interactuando en un ecosistema, diversos tipos celulares conformando seres multicelulares o neuronas de un sistema nervioso, por decir algunos. Éste último es de especial interés en ésta tesis, donde se estudiará desde una perspectiva de redes una red sensorial compuesta de diversas neuronas (nodos) e interacciones (aristas) entre ellas: la retina.

1.1. Redes Neuronales y Conectividad

El acelerado desarrollo tecnológico de hoy día, a nivel de circuitos, computadores y redes, ha permitido que nos familiaricemos con conceptos que provienen de la electrónica y las ciencias computacionales, utilizándolos como metáfora para diferentes situaciones cotidianas. Sin embargo, estos conceptos ya se habían permeado en el mundo de la neurociencia hace más de 70 años, por la propuesta de McCulloch y Pitts [McCulloch and Pitts, 1943], quienes modelaron una red neuronal utilizando circuitos binarios. Poco tiempo después, Hebb [Hebb, 1949] propone que las vías neuronales se refuerzan en la medida en que estas son activadas, dando las primeras nociones sobre plasticidad neuronal mediada por actividad, situación que Shatz [Shatz, 1996] sintetiza: '*cells that fire together, wire together*', es decir, células que disparan juntas, están conectadas. Siguiendo esta línea, Widrow y Hoff [Widrow and Hoff, 1960] desarrollaron a final de los años 50's los primeros circuitos tipo red neuronal aplicado a problemas del mundo de las comunicaciones y posteriormente, en los años 80's, Hopfield [Hopfield, 1982] propone redes neuronales artificiales con conexiones recurrentes, implementando memoria en esta redes. Desde aquellos orígenes, se ha desarrollado una línea de investigación dedicada a la generación de nuevas redes neuronales artificiales en el contexto de '*machine learning*' e inteligencia artificial, mientras que por otro lado, existe una línea más básica enfocada en la investigación de redes neuronales biológicas. Este trabajo se sitúa dentro de ésta última línea, relacionando la función de la red retiniana con su organización y cambios en la

conectividad.

1.1.1. ¿Porque Redes Neuronales?

Parte de los esfuerzos que ha realizado la comunidad neurocientífica para entender el operar del sistema nervioso (SN) ha sido el proponer al cerebro como una gran red multiescala, tanto a nivel espacial como temporal [Hagmann et al., 2008, Rubinov and Sporns, 2010, Sporns et al., 2005, Sporns et al., 2004] (ejemplo de esto es la iniciativa Human Connectome project, <http://www.humanconnectomeproject.org/>). Así, diversas funciones biológicas hoy son parte de una red con actividad dinámica.

Dentro de las escalas estudiadas en el SN existen las redes de neuronas, donde una población de neuronas interconectadas emiten potenciales de acción (considerado señal binaria, 1 o 0), los que generan patrones (series de tiempo) poblacionales de disparo que dependen, entre otros, de la anatomía, la conectividad, el balance excitación-inhibición y el estado de estimulación de la red.

1.1.2. Arquitecturas y Tipos de Conectividad

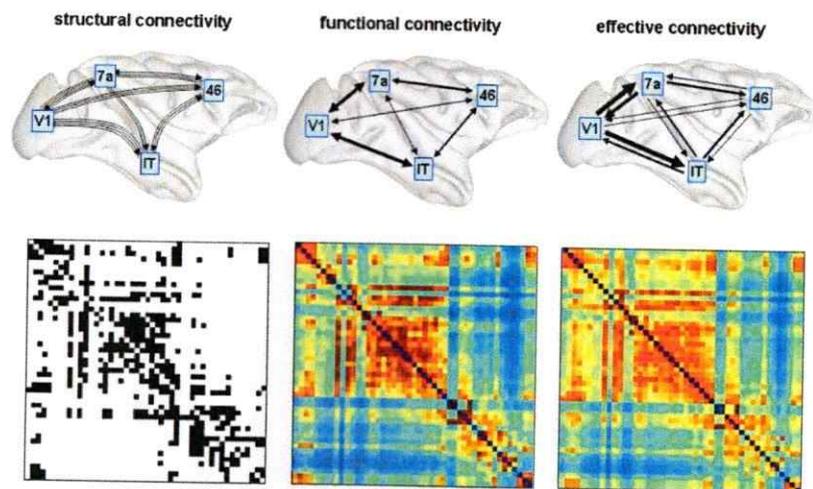


Figura 1: Redes del Cerebro. En la figura se muestran 3 tipos de interacciones entre las mismas zonas, pero construidas bajo diferentes tipos de conectividad: estructural, funcional y efectiva. En la fila superior se indican esquemáticamente las zonas cerebrales conectadas por flechas (indicando dirección e intensidad de la conexión), mientras que en la inferior se muestran las matrices de conectividad (también llamada matriz de adyacencia) entre las zonas, donde cada entrada de la matriz corresponde a presencia o ausencia (negro o blanco, respectivamente) de conexión con una determinada fuerza (colores) y dirección entre una zona y otra. http://www.scholarpedia.org/article/Brain_connectivity

Dentro de las escalas de observación de las redes, Frison y colaboradores [Friston, 1994] propusieron 3 modos de conectividad que permiten establecer conexiones (dirigidas y no dirigidas como ponderadas y no ponderadas) entre entidades (nodos) del SN: i) estructural (i.e. anatómica), estudiando las conexiones físicas entre los nodos, ii) funcional, donde se estudian las correlaciones estadísticas entre los nodos y iii) efectiva, la que involucra conexión física como también correlación estadística, infiriendo relaciones causales entre la actividad de los nodos (Figura 1). De esta forma es posible establecer topologías o arquitecturas de redes en estos 3 modos.

Dado que el objeto de estudio es una red sensorial compuesta por miles de neuronas, se estudiará la red desde una perspectiva de conectividad funcional, con el propósito de entender los cambios en la conectividad funcional frente a diferentes condiciones experimental, en la restricción espacial (anatómica) y en la evolución temporal de dicha conectividad.

1.2. Retina: Un Modelo de Red Neuronal

Como ya se adelantó en la sección previa, el modelo de red neuronal estudiado en esta tesis es la retina, una superficie sensorial presente en todos los vertebrados con ojos, específicamente, la retina *in vitro* del roedor chileno diurno *Octodon degus*. Junto con el desarrollo de las matrices de multi-electrodos (MEA por sus siglas en inglés, ver 2.1.2), es posible estudiar la funcionalidad de la red frente a diversas condiciones experimentales, registrando potenciales de acción de más de 200 células, las cuales pertenecen a una red de miles de células con una diversidad mayor 60 tipos [Masland, 2012]. A continuación se describirá la organización estructural de la retina, sus tipos celulares, las correlaciones presentes en los patrones de disparo (conectividad funcional) y los posibles mecanismos involucrados en dichas correlaciones (conectividad efectiva).

1.2.1. Organización de la Red Retiniana: Diversidad Celular y Sináptica.

La retina es una estructura multicapa, organizada en capas celulares (donde se encuentran los somas de las células) y plexiformes (capas de contactos sinápticos; neuropilas), la cual realiza una transformación de flujo de fotones en flujo de señales biológicas (e.g. potenciales de acción, liberación de vesículas sinápticas, cambios en el potencial local de campo). Su organización en multicapa (desde distal hacia proximal al flujo de fotones) consiste en un epitelio pigmentado, bajo el cual están los segmentos externos de los fotorreceptores (FR) seguido por los segmentos internos. Los somas de los fotorreceptores (conos y bastones) están ubicados en la capa nuclear externa (CNE),

los cuales proyectan a la capa plexiforme externa (CPE), donde sinaptan con células bipolares (BP, 12 tipos conocidos en mamíferos [Euler et al., 2014]) y horizontales (H), con sus somas ubicados en la capa nuclear interna (CNI). Las bipolares a su vez proyectan a la capa plexiforme interna (CPI), donde contactan con células amacrinas (A) y células ganglionares (CGR, más de 20 tipos conocidos en mamíferos [Masland, 2012]), estas últimas con sus somas ubicados en la capa ganglionar (CG), donde sus axones formarán el nervio óptico que proyectará hacia diversas estructuras cerebrales retinorecipientes. [Linberg et al., 2001, Gollisch and Meister, 2010, Masland, 2012]. Ver Figura 2.

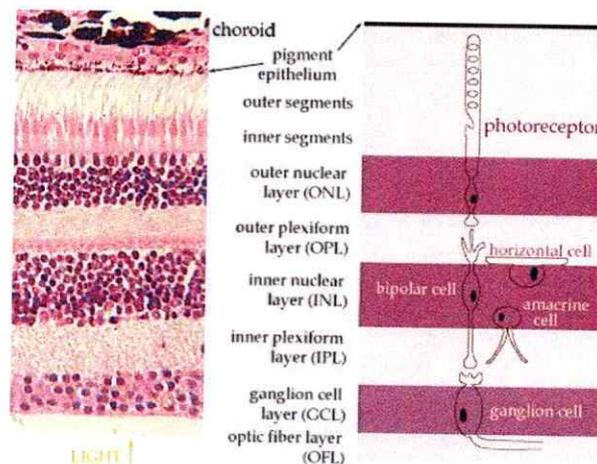


Figura 2: La Retina de Vertebrados. A la izquierda se muestra un corte transversal de la retina, donde se aprecian las capas celulares y sinápticas. A la derecha se muestra esquemáticamente la identidad de las células y sus proyecciones hacia las capas sinápticas. Nótar que la luz impacta a la retina por la capa ganglionar. <http://www.bion.com/bioline/neurosci/course/eyeret.html>

Respecto a la diversidad y organización sináptica, se puede establecer dos grandes vías: vertical y horizontal. La vía vertical (FR-BP-CGR) está dada principalmente por liberación de glutamato [Connaughton, 2005], regulando el nivel de excitación/inhibición en la red dependiendo de la intensidad lumínica, mientras que las vías horizontales se ven involucradas tanto en inhibición lateral (células horizontales en la CPE y células amacrinas en la CPI, [Jadzinsky and Baccus, 2013]) como también en la actividad concertada de neuronas cercanas (uniones en hendidura en ambas capas, [Trenholm et al., 2014, Bu et al., 2014, Bloomfield and Völgyi, 2009]). Los fotorreceptores activados pueden ser conos o bastones, dependiendo del nivel de iluminación al cual se enfrenta la retina, subdividiendo la vía vertical en una vía fotópica/mesópica (conos, alta intensidad lumínica) y escotópica (bastones, baja intensidad lumínica). Los fotorreceptores regulan la liberación de glutamato a nivel de células bipolares y H, dependiendo del nivel de luz. Existen bipolares-ON, las

cuales se depolarizan con los aumentos de intensidad lumínica y bipolares-OFF, que se hiperpolarizan con el aumento de intensidad lumínica. Las proyecciones de bipolares-ON y bipolares-OFF se encuentran segregadas en la CPI, formando las sub-laminas ON y OFF, generando una división estructural entre las vías sensibles al aumento y reducción de la intensidad lumínica [Euler et al., 2014]. Las células bipolares liberan glutamato, hacia CGR y A. No obstante, existen células amacri-nasy CGR con árboles dendríticos extendidos hacia ambas sub-láminas, lo que les permite integrar señales provenientes de la vía ON y la vía OFF [Euler et al., 2014, Masland, 2012, Gollisch and Meister, 2010].

Específicamente, *Octodon degus* presenta 3 tipos de fotorreceptores, sumando casi 10 millones: uno de tipo bastón y 2 de tipo conos (proporción 3:1, respectivamente), uno de onda media M (verde) y de onda corta S (ultravioleta) en proporción de 13:1 (M:S) [Jacobs et al., 2003]. Respecto a las bipolares, se han encontrado en *degus* 11 tipos funcionales y con distinta expresión de receptores ionotrópicos (tipo OFF, 10) o metabotrópicos (tipo ON, 1) (resultados aún no publicados, A. Palacios lab.). En la CG se estima un total de 297.000 células [Jacobs et al., 2003, Vega-Zuniga et al., 2013].

En resumen, la retina es una red no aleatoria en su estructura, donde sus funciones estarán dadas por las interacciones tanto verticales como horizontales. Estas interacciones generan propiedades de células únicas como por ejemplo la sensibilidad a la dirección [Gollisch and Meister, 2010], campos receptivos con oponencia centro-periferia [Schwartz et al., 2012] y también propiedades de red tales como correlaciones en los patrones de disparo de cientos de CGR. Éste último punto es de especial interés en esta tesis, el cual será abordado desde una perspectiva estructural, funcional y efectiva en las siguientes subsecciones.

1.2.2. Correlaciones en los Trenes de Espigas de Células Ganglionares de la Retina (CGR): Estudiando la Conectividad Funcional

Las correlaciones en los patrones de disparo de las CGR han sido observadas en diferentes especies de vertebrados (e.g. goldfish [Kenneth S. Ginsburg, James A. Johnsen, Levine, 1984], primate [Greschner et al., 2011], salamandra [Schneidman et al., 2006], cobayo [Simmons et al., 2013]), ocurriendo no solo en respuesta a estímulos dinámicos, sino que también frente a estímulos estáticos como luz uniforme espacial y temporalmente (*full field*) [Greschner et al., 2011, Simmons et al.,

2013, Vidne et al., 2012]. Actualmente, con el desarrollo de MEA, es posible registrar desde decenas hasta miles de neuronas simultáneamente [Ferrea et al., 2012], estudiando no solo las correlaciones entre pocas neuronas, sino que también las correlaciones en grandes poblaciones de CGR [Schneidman et al., 2006, Tkacik et al., 2014, Vidne et al., 2012]. Mientras algunos estudios consideran que las correlaciones entre las CGR no dependen de las correlaciones del estímulo [Nirenberg et al., 2001, Meytlis et al., 2012], otros estudios han mostrado que las correlaciones de las CGR están relacionadas con el régimen de ruido en el cual se encuentre la red neuronal [Tkacik et al., 2010] así como también con las correlaciones del estímulo [Simmons et al., 2013]. En poblaciones de neuronas simuladas [Tkacik et al., 2010] como también en retinas de salamandra [Puchalla et al., 2005], de cobayo [Simmons et al., 2013] y de primate [Shlens et al., 2009] se observa que tanto las tasas de disparo como las correlaciones entre pares de neuronas explican estadísticamente los patrones poblacionales observados, indicando dependencia entre pares de neuronas respecto al estímulo (ver figura 3). Además, recientes investigaciones han demostrado que los patrones de disparo de dos neuronas adyacentes y acopladas eléctricamente responden a la estructura espacial del estímulo, a lo cual cada neurona por si sola es incapaz de responder, mostrando que las correlaciones en una escala temporal rápida ($<5\text{ms}$) dependen tanto del acoplamiento eléctrico entre neuronas como también de la estructura espacial del estímulo [Trenholm et al., 2014].

Shlens y colaboradores [Shlens et al., 2006, Shlens et al., 2008] han mostrado que los patrones de disparo multi-neuronales de las CGR frente a un estímulo que varía espaciotemporalmente (ruido blanco espaciotemporal) pueden ser explicados estadísticamente en base a las correlaciones entre pares de CGR cercanas. Esto último permite realizar estadística de los patrones de disparo sin tener que tomar en cuenta todos los patrones generados y, biológicamente, sugiere mecanismos subyacentes a las correlaciones que se encuentran restringidos espacialmente.

Los estudios presentados arriba aportan información respecto a la conectividad funcional de la red retiniana y sugieren también ciertos mecanismos (conectividad efectiva) subyacentes a estas correlaciones. La siguiente sección entrega una revisión sobre los posibles mecanismos involucrados en las correlaciones observadas en la retina.

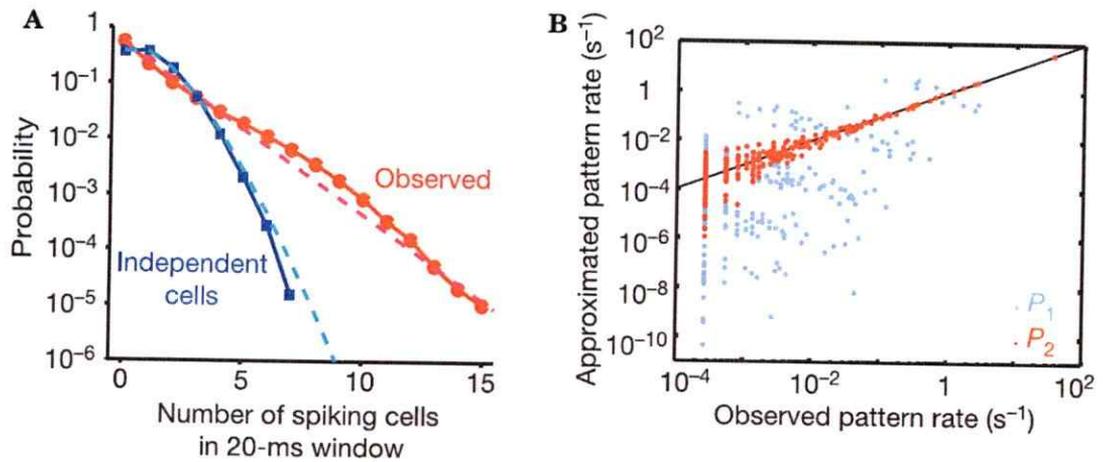


Figura 3: Correlaciones en 40 CGR de salamandra. En **A** se muestra la distribución de probabilidad de neuronas disparando sincrónicamente en una ventana temporal de 20ms para la población registrada en MEA durante un estímulo de película natural (línea roja). La línea roja discontinua muestra un ajuste usando una función exponencial. La línea azul muestra la distribución para la misma población, pero luego de randomizar los trenes de espigas para cada neurona. La línea azul discontinua muestra una distribución de Poisson, la cual representa completa independencia entre neuronas. En **B** se muestra la tasa de ocurrencia de patrones generados por un modelo de Máxima Entropía (eje y) vs la tasa de ocurrencia de los patrones observados empíricamente (eje x). Los puntos grises (P_1) corresponden a los patrones generados por un modelo donde solo se toman en cuenta las tasas de disparo (independencia), mientras que los puntos rojos (P_2) corresponden a los patrones generados por un modelo que toma en cuenta las tasas de disparo y los disparos sincrónicos entre pares de neuronas en una ventana de 20ms, el cual se ajusta mejor a los datos empíricos al compararlo con el modelo de independencia. La línea negra corresponde a la identidad. Schneidman et al. 2006 [Schneidman et al., 2006]

1.2.3. Orígenes de las Correlaciones en las CGR: Mecanismos

Los orígenes de las correlaciones entre CGR han sido estudiado en varios vertebrados [Mastrorarde, 1989, Brivanlou et al., 1998, DeVries, 1999, Shlens et al., 2006, Shlens et al., 2008, Trong and Rieke, 2008], dando cuenta de al menos 3 tipos de correlaciones de acuerdo a la temporalidad de estas: (i) rápidas (0.5-5 ms), (ii) medianas (5-10ms) y (iii) lentas (10-40ms)(ver figura 4). Las correlaciones lentas (iii) están dadas por ruido compartido, es decir, principalmente por la actividad de los fotorreceptores o por la variabilidad en la absorción estocástica de fotones [Trong and Rieke, 2008, Ala-Laurila et al., 2011]. En el caso de las correlaciones de mediano rango (ii) se ha sugerido la participación de amacrinas. También es posible que estén dadas por olas de propagación de actividad en la capa ganglionar [Brivanlou et al., 1998]. Finalmente, las correlaciones rápidas (i), que son el foco de este trabajo, han sido divididas en dos grandes tipos: **divergentes** y **recíprocas** [Mastrorarde, 1989, Brivanlou et al., 1998, DeVries, 1999, Shlens et al., 2006, Shlens et al., 2008, Trong and Rieke, 2008] (ver figura 5). El primer caso, las **correlaciones divergentes**, corresponde a dos

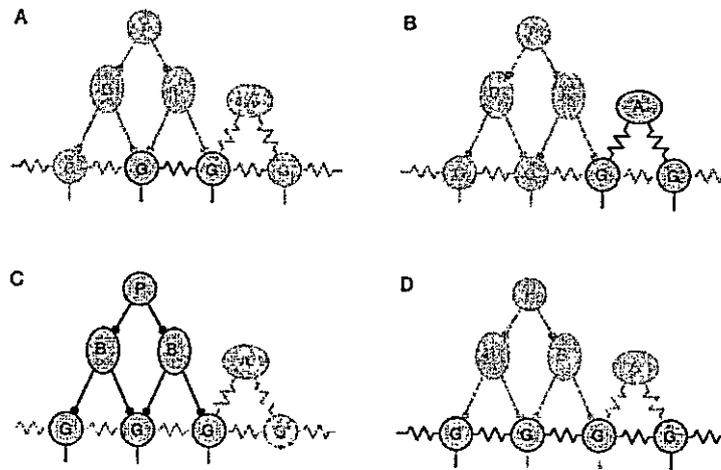


Figura 4: Mecanismos Involucrados en Correlaciones. La figura muestra esquemáticamente los mecanismos que podrían estar generando correlaciones entre CGR. P es fotorreceptor, B es bipolar, A es amacrina y G es célula ganglionar. A muestra acoplamiento eléctrico entre ganglionares vía uniones en hendidura, lo que resultaría en correlaciones rápidas, llamadas recíprocas. B Correlaciones de medio rango generadas por acoplamiento eléctrico vía uniones en hendidura con una amacrina pre-sináptica, pero también podría ser una bipolar estimulando simultáneamente a dos ganglionares. C Muestra correlaciones lentas generadas por inputs químicos comunes generados por fotorreceptores o bipolares. D Muestra correlaciones dadas por ondas de actividad que se propagarían en una red de ganglionares acopladas eléctricamente bajo condiciones farmacológicas o no sanas. Extraído de Brivanlou et al. 1998, [Brivanlou et al., 1998].

células post-sinápticas que reciben input de una sola pre-sináptica, la cual podría ser una bipolar o una amacrina. Dado que este mecanismo requiere de una sola célula pre-sináptica, generalmente estará restringido al solapamiento entre los campos dendríticos de las CGR (generalmente de la misma polaridad), pero también puede darse vía amacrinas de campo ancho [Manookin et al., 2015], caso en el cual el solapamiento no sería restricción. En el caso de las **correlaciones recíprocas**, corresponde a acoplamiento eléctrico entre CGR. Se ha observado que las sinápsis eléctricas no están presentes entre todos los tipos de CGR [Trong and Rieke, 2008], lo cual restringe aún más las correlaciones recíprocas a ciertos tipos específicos de CGR. Aparte de estos dos grandes mecanismos, se puede encontrar **correlaciones rápidas** dadas por la estructura espacial del estímulo, la que puede generar liberación vesicular (desde bipolares) simultánea en diferentes sitios, correlacionando la actividad de la CGR [Trong and Rieke, 2008].

Por lo tanto, es posible distinguir correlaciones en base a la **temporalidad**, los mecanismos que forman parte de ellas, la **extensión espacial** en la retina y también los **tipos neuronales** que participan de estas correlaciones. Sin embargo, el efecto de diversos estímulos ha empezado a ser considerado recientemente [Simmons et al., 2013]. Hasta la fecha no ha sido tomado en cuenta la variación de la extensión espacial de las correlaciones y como dichas correlaciones varían durante

la presentación del estímulo. En la siguiente sección se describirá las motivaciones de éste trabajo y las problemáticas a abordar.

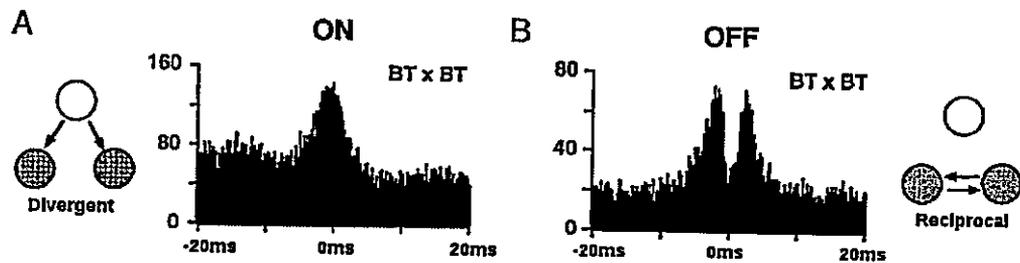


Figura 5: Tipos de Correlaciones Rápidas. La imagen muestra dos tipos de correlaciones entre células ON y células OFF de conejo (ambas BT, 'brisk transient', i.e. células rápidas y transitorias en su modo de disparar) en base a los mecanismos que las subyacen: divergente (A) y recíproca B. A muestra un mecanismo divergente entre dos células ON, donde una célula pre-sináptica estimula a dos post-sinápticas, generando una función correlación cruzada (ver 2.2.6) con un solo peak. B muestra la misma función, pero para dos células OFF las cuales presentan acoplamiento eléctrico, i.e. un mecanismo recíproco, generando una función correlación cruzada con dos peaks, correspondiente con la activación mutua entre éste ár de células. Extraído de DeVries, 1999 [DeVries, 1999].

1.3. El Problema

Dado que la retina presenta una estructura y organización que restringe tanto temporal como espacialmente las correlaciones entre las CGR, es de interés estudiar la variación de dichas correlaciones y su dependencia con el estímulo. De esta forma, sería posible restringir la conectividad funcional de la red en base a la estructura y organización de la retina, considerando no solo correlaciones estadísticas entre neuronas, sino que mecanismos y relaciones causales entre ellas (i.e. conectividad efectiva).

Como antecedente, recientes estudios han mostrado que el nivel global de correlaciones entre CGR depende de las correlaciones del estímulo como también de los tipos neuronales considerados en la interacción [Greschner et al., 2011, Simmons et al., 2013]. Sin embargo, esos estudios no exploraron la extensión espacial así como tampoco la variación temporal de las correlaciones a lo largo de una sesión de estimulación.

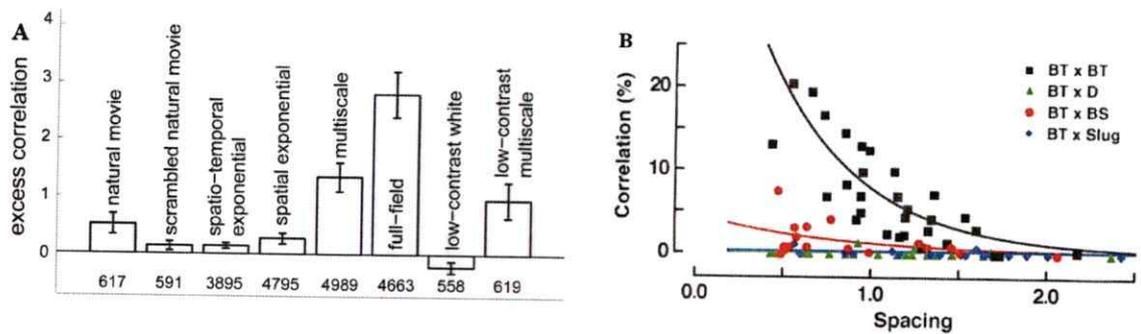


Figura 6: Dependencia con el estímulo y extensión espacial de las correlaciones. La figura **A** muestra el exceso de correlación (correlaciones con estímulo no correlacionado, i.e. ruido blanco vs correlaciones con estímulos correlacionados) para diversos estímulos en CGR de cobayo. Los números bajo las barras corresponde al número de pares considerados para el análisis. Simmons et al. 2013 [Simmons et al., 2013]. En **B** se muestra la extensión de las correlaciones entre diversos tipos de células ganglionares ON de conejo estimuladas con ruido blanco (BT, 'brisk transient', D, 'delayed', BS, 'brisk sustained', Slug, 'sluggish'). Se aprecia que para células del mismo tipo, i.e. BT x BT, se encuentra un decaimiento exponencial de las correlaciones respecto al solapamiento entre campos receptivos, mientras que para los otros tipos de interacción las correlaciones son nulas. DeVries 1999 [DeVries, 1999].

1.3.1. Restricciones Espaciales de la Conectividad Funcional

Entonces, teniendo en cuenta que las correlaciones dependen del estímulo y de los tipos neuronales considerados, surge la pregunta: ¿Varía la extensión espacial de las correlaciones entre CGR con el estímulo?. De ser así, ¿Depende del tipo de CGR considerada en la interacción?. Además, ¿existen correlaciones significativas más allá del solapamiento entre los campos receptivos?. Siendo así, ¿que mecanismos conocidos permitirían estas correlaciones?. Las primeras tres preguntas serán abordadas experimentalmente, mientras que la última será abordada en la discusión en base a la revisión de mecanismos expuesta en 1.2.3.

1.3.2. Temporalidad de las Correlaciones

Por otro lado, las correlaciones han sido estudiadas tradicionalmente considerando los trenes de espigas de todo el registro, dejando de lado la evolución temporal de estas correlaciones durante la sesión de estimulación. Por ejemplo, ¿Cambia la extensión espacial de las correlaciones durante el registro? Aquí, se comparará las correlaciones considerando todo el registro contra las correlaciones encontradas en ventanas temporales consecutivas para diversas condiciones de estimulación, lo que permitirá explorar las variaciones de las correlaciones en el tiempo y, por tanto, cambios en la conectividad funcional con el tiempo.

2 MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Parte Experimental

2.1.1. Animales y Preparación Biológica

Se utilizó el roedor chileno *Octodon degus* de alrededor de 3 meses de edad. El bioterio de la Universidad de Valparaíso dispone de una colonia estable de *Octodon degus*. El animal es sacrificado luego de anestesia, sus ojos enucleados, dejados en solución extracelular (AMES 8.8g/L H₂O) burbujeada con gas mezcla (95 % O₂ 5 % CO₂) mantenida a temperatura ambiente. Luego, se extrae la retina y se separa del epitelio pigmentado a partir de la preparación de ojo en copa. La retina obtenida es cortada a lo largo de 2 ejes perpendiculares, obteniendo 4 trozos y se registrará al menos uno de ellos en el MEA, cuidando de registrar en la zona más cercana a la veta visual (zona de mayor densidad celular).

2.1.2. Set-up Experimental y Registros con Matriz de Multi-Electrodos

El trozo de retina es dispuesto con las CGR en contacto con los electrodos del MEA, el cual está conectado al sistema interfaz USB-MEA256 (MCS, ancho de banda 1Hz - 5kHz) y las señales obtenidas son adquiridas con MC_Rack (MCS) instalado en un PC, que digitaliza la señal a 20kHz. Los fotorreceptores quedan orientados hacia la línea óptica por donde viaja el estímulo desde el proyector. Las matrices utilizadas tienen electrodos de 30 μ m de diámetro y con separación de 100 μ m entre ellos.

2.1.3. Condiciones Experimentales y Estímulos

Se registró por 10-15 min. en actividad espontánea escotópica (AEE, 0.3 nW/cm²), 10-15 min. en actividad espontánea fotópica (AEF, luz proyectada sobre la matriz con intensidad igual a la intensidad media de los otros estímulos, 74 nW/cm²), ruido blanco (RB, checkerboard) por 15-30 min y la película natural por 15-30 min. Checkerboard corresponde a una cuadrícula de 400x400 píxeles (5 μ / píxel) compuesta de bloques cuadrados (60 μ m), donde cada bloque puede tomar aleatoriamente cian (0,255,255 en R,G,B) o negro, refrescando la imagen a una tasa de 60Hz, mientras

que la película natural (registrada con un robot móvil) es una secuencia de 30 segundos de 400x400 píxeles consistente en movimientos de cámara, pasto, árboles, cielo, etc., la cual es repetida al menos 30 veces consecutivamente, mostrada a 60 Hz.

2.2. Análisis Computacional

2.2.1. Spike-Sorting: Del Registro Electrofisiológico al Raster Plot

Los eventos (espigas) son detectados fijando un umbral de -4.5 d.s. - -6 d.s. del promedio de la señal de cada canal por separado. Luego, estos eventos son clasificados semi-automáticamente vía Análisis de Componente Principal (PCA) y ValleySeek usando el software Offline Sorter (Plexon inc.), verificando manualmente la calidad de cada clúster, modificándolos cuando fuera necesario. Se descartan eventos con formas de onda tipo axónicas y también los que violen el periodo refractario (intervalo entre disparos < 2 ms) [Segev et al., 2004]. Finalmente, se obtiene para cada unidad una serie de tiempo en base a las espigas, el cual se usará en los análisis sucesivos. Además, se calcula la correlación de Pearson entre todas las unidades obtenidas para buscar duplicados entre electrodos, i.e. neuronas que fueron registradas por más de un electrodo. Si dos neuronas presentan un nivel de correlación de Pearson mayor a 0.5, entonces dichos trenes de espigas se mezclan. El conjunto de trenes de espigas de todas las unidades es el llamado *raster*.

2.2.2. Estimación de los Campos Receptivos

Los campos receptivos de las CGR se estiman usando 'spike-triggered average' (STA) mediante un código MATLAB, usando los registros de la retina durante estimulación con checkerboard [Chichilnisky, 2001]. STA corresponde al estímulo promedio que precede al disparo de una neurona, por lo que se construye el conjunto promedio de frames que preceden a una espiga para una neurona en particular (en este caso, 18 frames, ~ 300 ms). Luego, mediante métodos de descomposición matricial, en este caso SVD (singular value decomposition), se obtendrá el filtro temporal (temporalidad del estímulo previo al disparo) y espacial (espacio en la retina donde esta neurona es sensible) de la neurona. Se conservarán solo las neuronas donde el valor peak del filtro espacial exceda en 5 d.s. al valor promedio del fondo. Para estimar el tamaño y la posición del campo receptivo, se ajusta una elipse al filtro espacial, obteniendo así la posición relativa al estímulo y se tomará 1 s.d. en cada semieje como los respectivos semiradios de la elipse.

2.2.3. Clasificación de las CGR en base a la Polaridad: Subpoblaciones ON y OFF

Utilizando los filtros temporales se clasificarán las CGR como ON u OFF. Se utilizarán los dos primeros componentes principales de estos filtros y se clasificarán automáticamente usando el algoritmo de clasificación k-means con 2 clústers.

2.2.4. Rasters sintéticos

Dado que probabilísticamente las correlaciones aumentan con las tasas de disparo de las neuronas consideradas para el cálculo, se generó un raster artificial para cada condición experimental y para cada retina por separado. Para esto se tomó el conjunto de tasas de disparos empíricas y con ellas se generó un conjunto de trenes de espigas sintético, manteniendo la misma tasa de disparo empírica y la misma duración del registro. De esta forma, se generó un raster de neuronas independientes entre ellas y, además, independientes del estímulo. Utilizando la tasa de disparo de cada neurona, se generó una serie binarizada (mismo número de bins que el registro empírico) de números aleatorios extraídos de una distribución de Poisson con promedio igual a la tasa de disparo, entregando una espiga si es que la tasa de disparo es mayor al número aleatorio, o un silencio en caso de que sea igual o menor. Este raster permite distinguir entre las correlaciones que están dadas solo por los aumentos en las tasas de disparo y las correlaciones que están dadas ya sea por la estructura y dinámicas de la retina así como también por el estímulo. Este raster será sometido a los mismos análisis de correlaciones que los datos empíricos.

2.2.5. Espaciamiento entre los Filtros Espaciales

El espaciamiento es calculado como el cociente entre la distancia euclídeana entre los centros de los campos receptivos de dos neuronas (i y j) y la suma de los dos semiejes menores:

$$s = d_{ij}/(r_i + r_j,) \quad (1)$$

donde s es el espaciamiento, d_{ij} la distancia euclídiana y r_i y r_j son los semiejes menores de la elipse ajustada a la neurona i y j , respectivamente. De esta forma se tiene una medida del solapamiento, que cuando $s = 1$ corresponde a adjacencia entre los campos receptivos, $s < 1$ corresponde a solapamiento y $s > 1$ no hay solapamiento. Dado que es un cociente entre distancias, esta medida presenta unidades arbitrarias.

2.2.6. Correlaciones Espaciotemporales

Los trenes de espigas de cada CGR serán separados en ventanas (bin) consecutivas de 1ms para posteriormente calcular la función correlación cruzada (FCC) normalizada para series de tiempo discretas entre todos los pares posibles, considerando un retraso (delay) temporal, n , en la FCC de ± 5 ms. Esta función sigue la formula:

$$FCC(f, g) = \sum_{m=-n}^{m=+n} f^*[m]g[m+n], \quad (2)$$

donde f y g son dos series de tiempo, f^* es el complejo conjugado de f , m corresponde al 'bin' temporal y n al retraso considerado para calcular la función (para un ejemplo ver figura 5). La normalización fuerza a esta función a ser 1 cuando $n = 0$ si $f = g$ (i.e. la función autocorrelación es 1 con cero retraso). Esta función captura no solamente los eventos sincrónicos (i.e. correlaciones espaciales; dos neuronas disparando en el mismo 'bin'), sino que también captura correlaciones temporales, i.e. neurona 1 disparando a tiempo 0 y neurona 2 disparando a tiempo $n \neq 0$.

Se considerará como índice de correlación el máximo absoluto de la función dentro del rango donde se calculó y se realizará este proceso para cada condición de estímulo por separado. Posteriormente, se asignará a cada par la indentidad de la interacción, es decir, ON-ON, OFF-OFF o ON-OFF.

Para cuantificar el cambio global de correlaciones entre CGR, δCC entre un estímulo y otro, se graficará la correlación para todos los pares en la condición a vs los valores de correlación para los mismos pares en la condición b . A este gráfico se le ajustará una función de la forma

$$\rho_a = (1 + \delta CC)\rho_b, \quad (3)$$

donde ρ_a y ρ_b es el conjunto de correlaciones para la condición a y b , respectivamente. δCC es la diferencia global de correlaciones entre ambas condiciones [Simmons et al., 2013]. Dado que el ajuste entrega un solo valor de δCC , se realizará dicho ajuste para 20 subconjuntos (de diferentes tamaños) de pares de CGR aleatorias y dicho proceso se repetirá 30 veces, cambiando siempre la semilla generadora de números aleatorios. De esta forma, se obtiene una distribución de δCC , la cual en todos los casos es normal, lo que permite representarla con el promedio δCC_μ y la desviación estándar δCC_σ , para luego hacer comparaciones estadísticas entre ellos basados en estadística

paramétrica. Este mismo análisis se realizará para estudiar los cambios en las tasas de disparo, δ Tasa de disparo, de una condición a otra.

2.2.7. Extensión Espacial de las Correlaciones

Con el espaciamiento ya calculado (ver 2.2.5) se calculará una función correlación vs espaciamiento. Generalmente, esta función se ajusta a un decaimiento exponencial de las correlaciones con el espaciamiento, con la forma:

$$XCorr(s) = XCorr_0 e^{-bs} + c, \quad (4)$$

donde s es el espaciamiento entre campos receptivos (ver ecuación 1) $XCorr(s)$ es la correlación en función del espaciamiento entre los campo receptivo, $XCorr_0$ es la máxima correlación cuando $s = 0$ y $-1/b$ corresponde al largo característico de las correlaciones al cual se reducen en casi un tercio del valor inicial. c representa el nivel de correlación basal. En este caso se considerará solo $XCorr(s = c)$ y $XCorr(s = 1)$ como referencia de la línea base de las correlaciones y como las correlaciones en el límite del solapamiento, respectivamente. Dado que al ajustar ésta ecuación se obtiene un solo valor, no es posible realizar comapraciones estadísticas. Por lo mismo, se utilizará todos los valores de correlación en el rango $s = 1 \pm 0.01$ y en el caso de la línea base se utilizara todos los valores de correlacion encontrados para $s > 8$.

2.2.8. Evolución Temporal de las Correlaciones

Utilizando ventanas temporales de 5s con un solapamientos entre ellas del 50 %, se realizará el mismo análisis expuesto en 2.2.7, obteniendo la funcion $XCorr(s)$ para cada ventana temporal, es decir una funcion $XCorr(s, t)$. Luego, se calculará la distribución (i.e. histograma) de valores para $XCorr(s = 1, t)$ y para $XCorr(s = c, t)$, para estudiar la divergencia entre los valores de correlación más allá del solapamiento y los valores de correlación basal en el tiempo, respectivamente.

2.2.9. Comparaciones Estadísticas

En el caso de que las muestras comparadas se ajusten a una distribución normal, se aplicará t-test para una o dos muestras para comparación entre promedios. En el caso que las muestras comparadas no se ajusten a una distribución normal, entonces se utilizará el test no paramétrico de Kolmogorov-Smirnov (K-S) para comparar las distribuciones con $\alpha = 0.0001$. Además, el test

K-S entrega un estadístico que representa la distancia entre la distribuciones y será utilizado para establecer distancias entre distribuciones no normales.

3 RESULTADOS

3.1. Conjuntos de Datos

En esta sección se describirá cualitativa y cuantitativamente los datos obtenidos, comenzando por una descripción de los datos en término de número de CGR registradas, sus tasas de disparo, sus campo receptivo (i.e. polaridad, área y solapamiento) y la actividad poblacional. Posteriormente, se ahondará en las correlaciones, su extensión espacial y su evolución temporal.

3.1.1. Subpoblaciones ON y OFF y sus campos receptivos

Se registraron 4 trozos de retina de 4 animales distintos, donde después de realizar spike-sorting, verificar la existencia de duplicados entre electrodos y filtrar las neuronas de acuerdo a la calidad de su campo receptivo, se obtuvo un total de 867 CGR, obteniendo 263 ON y 631 OFF. Como ejemplo de una de las retinas registradas ver figura 7. Para el caso de las CGR ON se aprecia un peak positivo, mientras que para las OFF un peak negativo. Cabe notar la existencia de neuronas bifásicas, las cuales no obstante serán clasificadas como ON u OFF por el algoritmo, de acuerdo a su cercanía a uno de los dos clústers en el espacio de los dos primeros componentes principales de los filtros temporales.

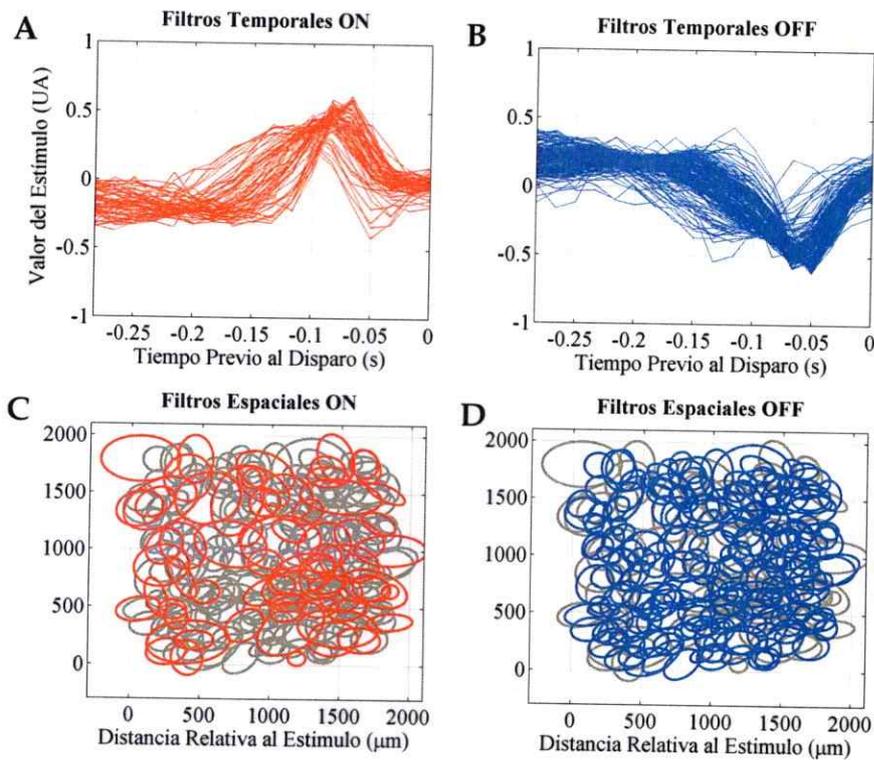


Figura 7: Filtros Espaciales y Temporales para CGR ON y OFF. Se muestran datos para una de las retinas registradas. En **A** y en **B** se observan todos los filtros temporales para las CGR ON (rojo) y OFF (azul), respectivamente. Se aprecia que no todas tienen el peak a la misma temporalidad, sin embargo todas las ON presentan un peak positivo y las OFF un peak negativo. En **C** y en **D** se observa la distribución espacial de los filtros espaciales de las CGR ON (rojo) y OFF (azul), respectivamente y en gris las células que no pertenecen a la sub-población respectiva. Las figuras muestran la elipse ajustada al STA con 1σ en cada semi-eje. Se puede apreciar como ambas subpoblaciones cubren prácticamente todo el espacio retiniano registrado

Respecto al área de los campo receptivo (Figura 8), se encontró un promedio de $1136.95 \mu\text{m}^2$ para todas las unidades, $1643.94 \mu\text{m}^2$ para ON y $947.32 \mu\text{m}^2$ para OFF. Si bien las neuronas OFF son más numerosas, estas presentan campos receptivos más pequeños, mientras que las ON, las cuales son menos representadas en la zona registrada, presentan campos receptivos de mayor área.

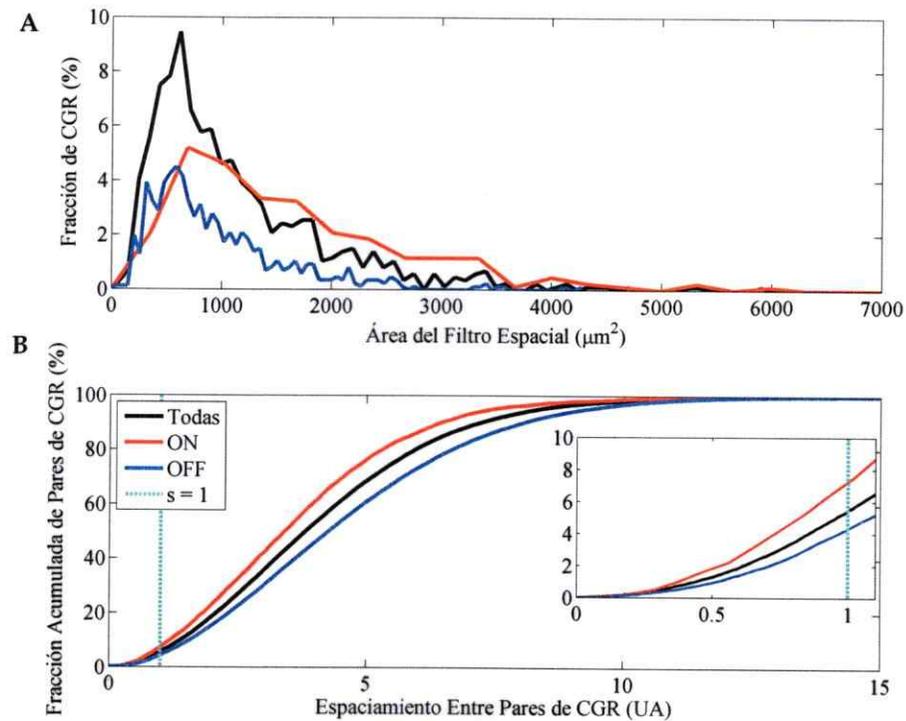


Figura 8: Área de los Filtros Espaciales y Espaciamiento entre CGR. En **A** se observa los histogramas de áreas de los filtros espaciales para las CGR ON (rojo), OFF (azul) y todas juntas (negro). Se observa como las CGR ON presentan una distribución extendida hacia filtros espaciales más grandes, en comparación con las OFF. En **B** se muestra la distribución acumulada del espaciamiento entre pares de CGR ON, OFF y todas juntas. En el recuadro se muestra el intersección con $s = 1$ (línea discontinua cian), i.e. ajacencia entre los filtro espaciales, donde se aprecia que existe mayor cantidad de pares ON con solapamiento entre sus filtros espaciales que pares OFF.

El espaciamiento entre los campos receptivos de las CGR es una medida funcional de las zonas de integración compartidas (o no compartidas) entre pares de neuronas y entrega nociones sobre los posibles inputs comunes que éstas podrían recibir. Para todos los pares de CGR estudiadas, se encontró un espaciamiento promedio de 4.13, 3.73 para las ON y 4.60 para las OFF. Es de especial interés el porcentaje de pares CGR que presentan un espaciamiento menor a 1, ya que esto indica el porcentaje de pares de CGR que integran zonas compartidas en el espacio, y, probablemente, también comparten inputs. Para todos los pares estudiados se encontró que un 5.71 % presenta solapamiento, mientras que para las ON se encontró un 7.54 % y para las OFF un 4.54 %. Los detalles de la distribución de las áreas de campos receptivos y del espaciamiento entre ellos son expuestos en la figura 8 y en la tabla 1.

Por lo tanto, se encuentra que la numerosidad del tipo de CGR está inversamente relacionada con el tamaño de los campos receptivos, y, consecuentemente, con el solapamiento entre ellos, es

decir, a mayor tamaño de campos receptivos, mayor solapamiento entre CGR y menos numerosidad de dicho tipo.

Tabla 1: Áreas de campos receptivos y Espaciamiento entre ellos.

Tipo	Área (μm^2)			Espaciamiento (UA)		
	Promedio	Mínimo	Máximo	Promedio	Mínimo	Máximo
Todas	1136.95	14.10	10125.36	4.13	0.0025	23.92
ON	1643.94	190.77	10125.36	3.73	0.055	16.064
OFF	947.32	14.10	4299.48	4.60	0.0025	23.92

3.1.2. Número de Neuronas y Tasas de Disparo

Para todas las CGR registradas se encontró que la tasa de disparo promedio decae con el estímulo de la forma $\text{PN} > \text{RB} > \text{AEF} > \text{AEE}$ (ver tabla 2 y figura 9). Además, se encontró que para ambas condiciones espontáneas hay células que no disparan durante todo el registro, las cuales si disparan con RB y PN. El aumento de las tasas de disparo desde la condición AEE a la condición AEF se corresponde con un aumento en el nivel global de excitación de la red dado por un aumento en la actividad de los conos. Cabe notar que en la condición AEF las CGR ON presentan una tasa de disparo promedio mayor que las OFF, lo cual se corresponde con la preferencia de las CGR ON por los aumentos de intensidad lumínica y la correspondiente supresión de actividad de las CGR OFF. Bajo condiciones fotópicas, las células OFF presentan siempre la máxima tasa de disparo y también el mayor aumento global al comparar entre condiciones. Respecto a las células ON, no muestran un aumento global significativo en sus correlaciones ($p > 0.01$, t-test) al comparar AEF y RB, lo que sugiere que para esta subpoblación estos estímulos son equivalente en términos de excitación.

Tabla 2: Tasas de disparo por tipo y condición.

Cond. Tipo / Tasa (Hz)	AEE			AEF			RB			PN		
	Prom.	Mín.	Máx.	Prom.	Mín.	Máx.	Prom.	Mín.	Máx.	Prom.	Mín.	Máx.
Todas	0.92	0	18.16	3.12	0	81.19	6.24	0.036	61.04	8.68	0.011	107.38
ON	1.42	0	10.80	5.01	0.0022	27.93	6.49	0.12	27.72	8.94	0.41	26.55
OFF	0.733	0	18.16	2.40	0	81.19	6.14	0.036	61.04	8.59	0.011	107.38

Por lo tanto, la modulación espaciotemporal del estímulo induce mayores tasas de disparo en ambas subpoblaciones y, además, hace disparar a neuronas que no disparan durante ambas condiciones espontáneas. Adicionalmente, las correlaciones espaciotemporales del estímulo (i.e. PN) inducen mayores tasas de disparo en las CGR, respecto a los otros estímulos.

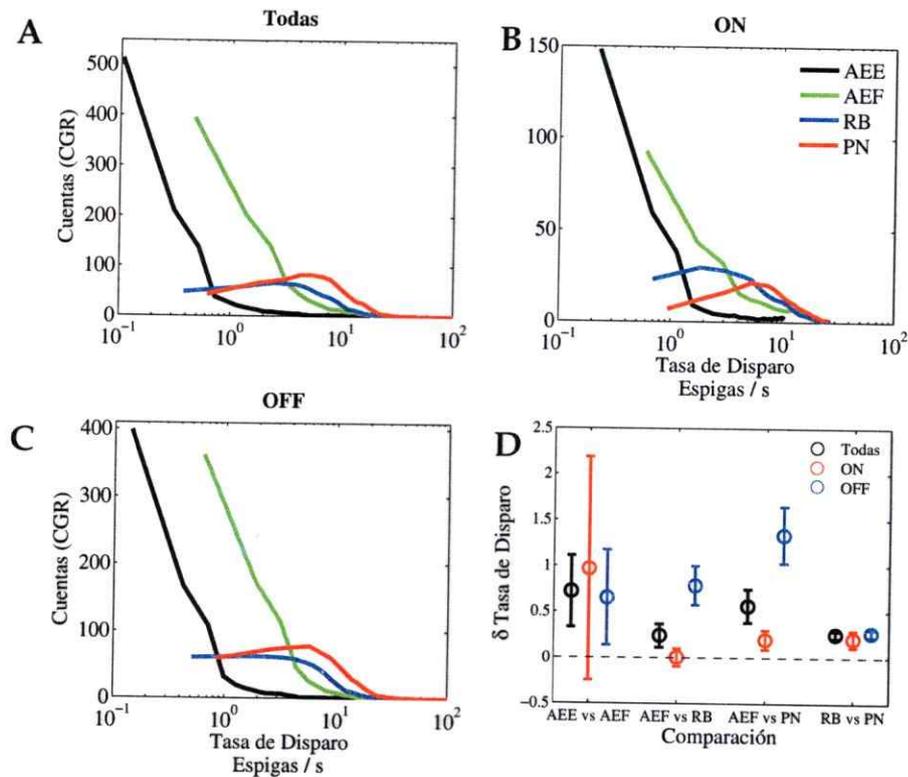


Figura 9: Tasas de disparo por tipo y condición. En **A** se muestran histogramas de tasas de disparo en gráfico semilogarítmico para las 4 retinas registradas, con las 4 condiciones experimentales: AEE (negro), AEF (verde), RB (azul) y PN (rojo). Mismo gráfico para **B** y **C**, solo que con las CGR ON y OFF, respectivamente. **D** muestra el cambio global en las tasas de disparos, δ Tasa de disparo, para diferentes comparaciones entre estímulos. Se observa que AEF aumenta las tasas de disparos significativamente respecto a AEE, indicando mayor nivel de actividad en la red. Todos los valores son significativamente diferentes de 0 ($p < 0.001$, t-test), a excepción de la población ON para AEF vs RB, donde no hay cambios globales significativos en las tasas de disparo ($p > 0.1$). Barras de error son 1 desviación estándar.

3.1.3. Actividad (Sub)Poblacional

La actividad poblacional es la suma de todas las espigas de todas las neuronas registradas en un bin determinado. Visualizar esta actividad y, eventualmente, analizarla estadísticamente, es de especial interés puesto que entrega nociones sobre la estructura espacial y temporal de la actividad poblacional de todas las CGR registradas, y la contribución de un tipo específico de CGR a dicha actividad. En la figura 10 se muestra la tasa poblacional para las CGR ON, OFF y todas juntas para las 4 condiciones experimentales para una de las retinas. Se observan diferencias visuales en las actividad poblacionales, tanto dependientes del estímulo como del tipo considerado. Numéricamente se expone en la tabla 3 la correlación de cada subpoblación a la actividad poblacional total y la correlación existente entre ambas subpoblaciones. Se encuentra que la población OFF en todas las

condiciones contribuye mayormente a la actividad poblacional, lo cual es consistente con el mayor número de estas células en las retinas registradas, y también se aprecia que la contribución de cada tipo es estable con los estímulos. En el caso de la interacción entre poblaciones, se observa estabilidad en la interacción entre las subpoblaciones, a excepción de película natural, donde la correlación entre las actividades aumenta casi el doble, indicando una mayor interacción funcional entre estas bajo el estímulo natural y menor segregación.

Tabla 3: Contribución de Subpoblaciones a la Actividad Poblacional

Comparacion / Condición	Coeficiente de Correlación \pm E.E.M.			
	AEE	AEF	RB	PN
Todas vs On	0.677 ± 0.064	0.681 ± 0.033	0.557 ± 0.049	0.696 ± 0.049
Todas vs Off	0.833 ± 0.042	0.848 ± 0.027	0.905 ± 0.0140	0.947 ± 0.0079
On vs Off	0.182 ± 0.018	0.197 ± 0.047	0.158 ± 0.039	0.434 ± 0.041

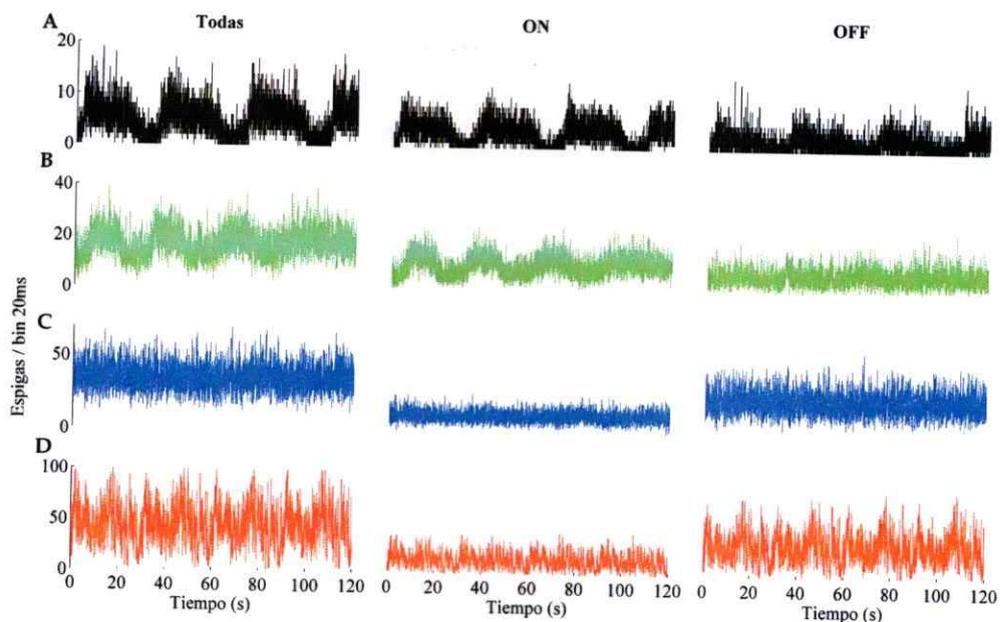


Figura 10: Actividad Poblacional por Tipo y Condición. En las filas se muestran las condiciones (A AEE, negro; B AEF, verde; C RB, azul; D PN, rojo) y en las columnas las CGR consideradas en la actividad poblacional con un bin de 20ms. El eje y cambia con la condición, mientras que el eje x siempre presenta el mismo rango. Cabe notar la mayor tasa poblacional de CGR ON a pesar de ser menor en número (68/270 en este experimento) y la semejanza entre el trazo para Todas y para ON en ambas condiciones espontáneas. Para las condiciones con modulación espaciotemporal, C y D, las CGR OFF son las que predominan en términos de magnitud de tasa de disparo poblacional. Considerar que los patrones repetidos en D ocurren por la repetición del estímulo.

Entonces, dadas los diferentes patrones espaciotemporales en la actividad poblacional y sus aumentos (y disminuciones) concertados de actividad, se investigará estas diferencias en base a las correlaciones entre pares de CGR, la extensión espacial de éstas y sus variaciones temporales.

3.2. Análisis de Correlaciones

En las siguientes secciones se mostrará los resultados obtenidos para las correlaciones entre CGR y las subpoblaciones descritas. Se comenzará con una comparación del nivel de correlación global entre estímulos, para luego ahondar en la extensión espacial de las correlaciones. Se compararán estos resultados con los encontrados para los rasters sintéticos (ver 2.2.4). Finalmente se mostrará la dinámica de las correlaciones durante la sesión de estimulación.

Como fue descrito en 1.2.3, las correlaciones dependen del tipo de CGR involucrado, del solapamiento entre ellas y del estímulo. En la figura 11 se muestra un ejemplo de estas dependencias para 3 pares de CGR registradas. Se observa que la FCC entre ON-ON levemente solapadas (figura 11 A) presenta un peak cercano a retraso = 0 para PN y RB, sin embargo la forma ancha de las FCC sugiere correlaciones dadas por sinápsis eléctricas [Brivanlou et al., 1998, Trong and Rieke, 2008, Shlens et al., 2008]. Además, se observa el aumento en la magnitud de la FCC para PN, en comparación con las otras condiciones.

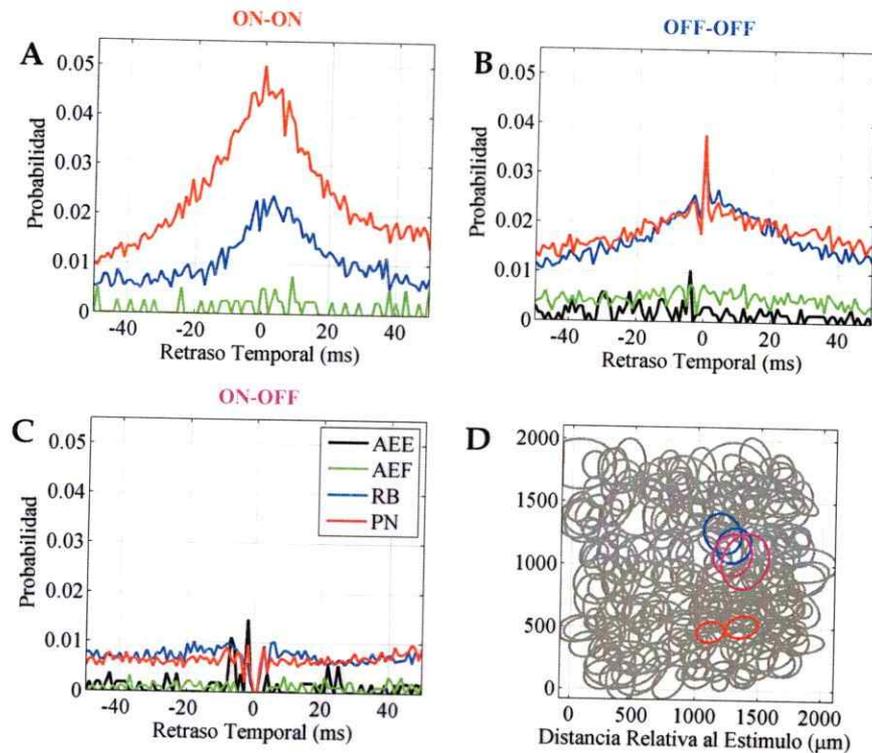


Figura 11: Ejemplo de Función Correlación Cruzada para pares de CGR ON-ON, OFF-OFF y ON-OFF. A, B y C muestran la FCC para pares de neuronas ON-ON (rojo), OFF-OFF (azul) y ON-OFF (magenta), respectivamente, para las 4 condiciones experimentales. Notar el aumento en la magnitud de la FCC entre CGR con la misma polaridad para las condiciones PN y RB, en comparación con AEE y AEF. D muestra la distribución en el espacio retiniano de los pares seleccionados (siguiendo el mismo código de colores), donde se puede apreciar el solapamiento entre los pares de CGR. Las elipses grises muestran las CGR que no fueron seleccionadas.

Para el caso de AEF no se observan correlaciones más allá del ruido y para el caso de AEE una de las dos CGR considerara no disparó, por lo que no se logró computar la FCC. Por otro lado, la interacción OFF-OFF solapadas (figura 11 B) muestra una FCC para RB y PN más estrecha con un peak a retraso = 0, sugiriendo que esta interacción está dada por acoplamiento eléctrico [Brivanlou et al., 1998, Trong and Rieke, 2008, Shlens et al., 2008]. Para el caso de AEE se encuentra un peak desplazado (-4 ms) no centrado en 0, lo que indica correlación temporal entre estas CGR OFF, es decir, una activación secuencial de éstas CGR. En el caso de AEF las FCC es ruidosa.

Finalmente, la interacción entre ON y OFF con campo receptivo solapados (figura 11 C) muestra un valle a retraso = 0, lo cual concuerda con las descripciones de Mastronade [Mastronade, 1989], sin embargo, se aprecia un peak a -2ms para AEE, indicando una activación secuencial de estas dos CGR, tal como en el caso OFF-OFF para AEE. En el caso de AEF se observa un amplio rango de retrasos temporales en los cuales la FCC es nula, indicando que bajo esta condición este

par de CGR no tienen correlaciones rápidas. No obstante, los valores de correlación para éste tipo de interacción se reducen más de 3 veces, en comparación con los otros pares.

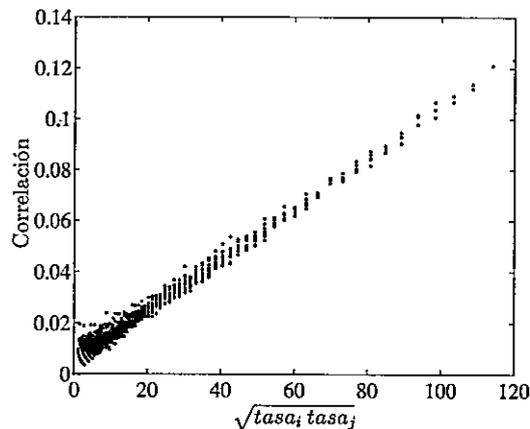


Figura 12: Dependencia de las correlaciones con las tasas de disparo. La figura muestra la relación lineal entre las correlaciones y la raíz cuadrada del producto de las tasas de disparo de dos neuronas consideradas, $tasa_i$ y $tasa_j$, respectivamente.

Por otro lado, se calculó la dependencia de las correlaciones con las tasas de disparo para neuronas no correlacionadas por construcción (ver 2.2.4), encontrando que las correlaciones aumentan linealmente con la raíz cuadrada del producto de las tasas de disparo. El producto entre ambas tasas de disparo es equivalente a la probabilidad de ambas neuronas disparando juntas. Entonces, neuronas que se encuentran no correlacionadas por construcción exhiben correlaciones, por lo que se comparará las correlaciones encontradas en los datos experimentales con las encontradas en los raster sintéticos para discriminar entre correlaciones dadas por las tasas de disparo y correlaciones dadas por la estructura y dinámica de la retina como también por el estímulo.

Así, éstos análisis se realizarán para todas las CGR registradas, considerando el espaciamiento entre ellas, el tipo de interacción y el estímulo, tomando en cuenta solo el valor máximo de la FCC para retrasos temporales entre ± 5 ms, pero no la forma de la FCC.

3.2.1. Efecto Global del Estímulo: Interacciones Dentro y Entre Subpoblaciones

Siguiendo lo expuesto en 2.2.6, se calculó el máximo de la FCC para todos los pares, para todos los experimentos y condiciones experimentales. La distribución de los valores de correlación encontradas se expone en la figura 13. Para casi todas las condiciones y tipos seleccionados, las correlaciones se distribuyen aproximadamente de forma log-normal, encontrando para todos los

casos que el máximo de la distribución para PN está desplazado hacia mayores valores de correlación, en comparación con las otras condiciones experimentales y, además, su cola mayor decae como una ley de potencia, i.e. línea recta en gráfico logarítmico, al igual que RB. Para el caso de todos los pares de CGR, la distribución para AEE y AEF son semejantes, sin embargo en el caso de la interacción OFF-OFF, las distribuciones comienzan a diverger aproximadamente a 10^{-2} de valor de correlación, mientras que para ON-ON se asemejan incluso en la cola mayor de la distribución. Notar que para ON-ON, AEE y AEF muestran alta frecuencia de valores pequeños de correlación, lo que se aprecia en que la cola menor de la distribución no cae a cero, ajustándose menos a una distribución log-normal. Mismo caso para la interacción ON-OFF en la condición AEE y PN. Por inspección visual, se observa que los menores valores de correlación para PN están dados por la interacción ON-OFF (comparar figura 13.A con 13.D).

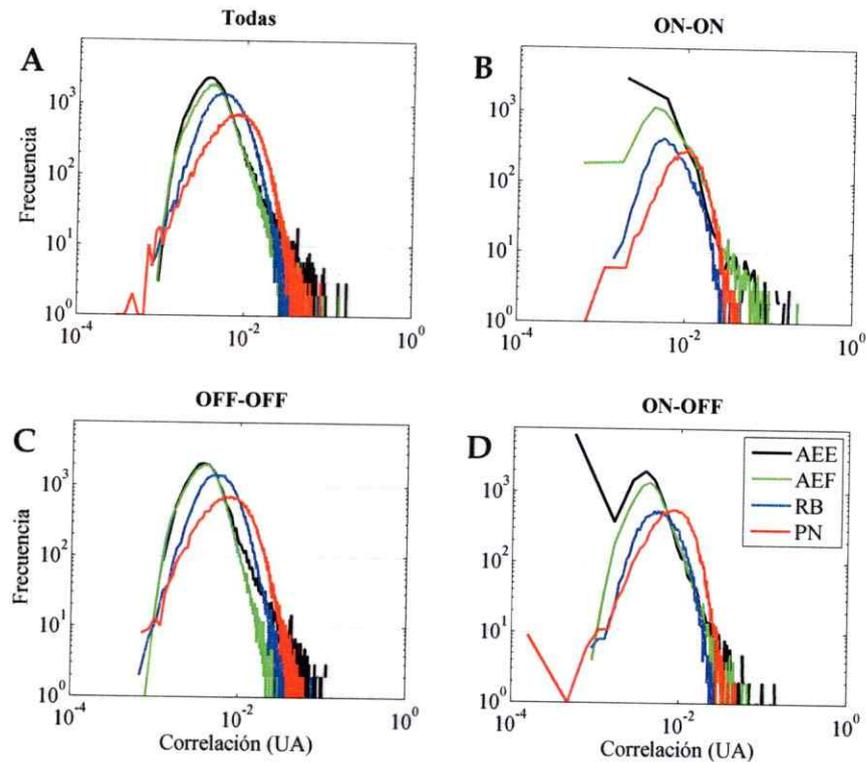


Figura 13: Histograma de Valores de Correlación Empírica. Distribuciones de correlaciones positivas (no se encontraron valores negativos y para graficar en logarítmico se descartaron todas las correlaciones iguales a cero). Todas las distribuciones se aproximan a una distribución log-normal a excepción de AEE en la interacción ON-ON y ON-OFF (B y D). En A se aprecia el desplazamiento del máximo de la distribución de la interacción ON-ON y ON-OFF (B y D). En A se aprecia el desplazamiento del máximo de la distribución de la interacción PN>RB>AEF=AEE. En B se aprecia que para la interacción ON-ON, AEF y AEE presenta gran frecuencia de valores bajos de correlación, sin embargo ambas distribuciones se extienden hacia altos valores de correlación, en comparación con las otras condiciones. C muestra una distribución más aguda para AEF, en comparación con las otras interacciones, indicando una reducción en la fuerza de la interacción en dicha condición. D muestra gran frecuencia para valores bajo de correlación tanto para AEE y PN muestra una cola extendida hacia valores bajo de correlación ausente en las otras interacciones. Por lo tanto, la modulación espaciotemporal del estímulo genera aumento en la moda (y la media) de los valores de correlación, independiente de la interacción que se tome en cuenta.

Se observa que en todos los casos el máximo de la distribución se desplaza hacia mayores valores de correlación de la forma $PN > RB > AEF = AEE$, semejante al aumento de las tasas de disparo. Parte del comportamiento encontrado en la distribución de las correlaciones se debe solo al aumento en las tasas de disparo (ver figura 14), sobre todo el desplazamiento de las distribuciones. Sin embargo, los raster sintéticos exhiben valores de correlación mucho menos frecuentes (\sim un orden de magnitud) que los raster empíricos, indicando que la estructura de la retina, sus dinámicas y la respuesta al estímulo inducen tanto mayores valores de correlación como también correlaciones de a pares más frecuentes (máximo de las distribuciones en el eje y). Todas las distribuciones correspondientes entre datos empíricos y sintéticos son significativamente diferentes (test K-S $p < 0.0001$), indicando

que las correlaciones encontradas empíricamente no están generadas por un proceso de Poisson, i.e., independencia entre neuronas e independencia de la neurona dado su pasado.

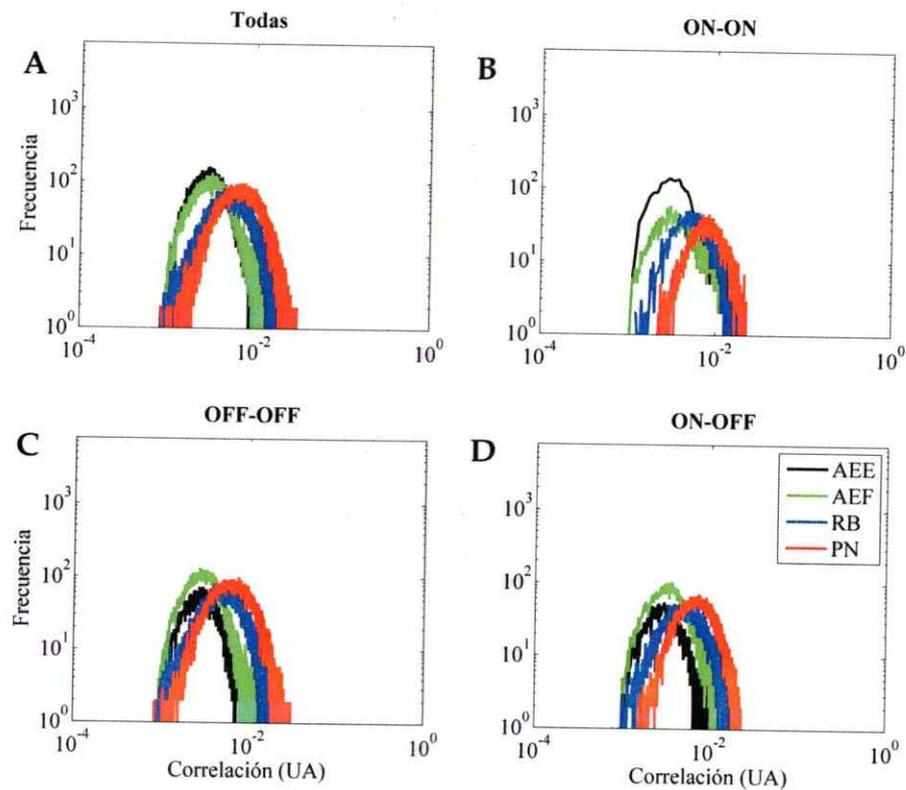


Figura 14: Histograma de Valores de Correlación para rasters Sintéticos. Mismo gráfico que en 13, pero para rasters generados sintéticamente sin correlación entre neuronas por construcción. Se mantiene la escala de ambos ejes para facilitar la comparación. También se observan distribuciones aproximadamente log-normales, exhibiendo el mismo comportamiento de los datos empíricos: el máximo de la distribución decae con el estímulo de la forma $PN > RB > AEF = AEE$, corroborando que parte del aumento en las correlaciones se debe solo al aumento en las tasas de disparo. Además, las distribuciones cubren un menor rango de valores de correlación (sobre todo hacia valores cercanos a 1), así como también los valores de correlaciones encontrados son menos frecuentes.

Los resultados observados en estas distribuciones, que han sido descritos cualitativamente hasta ahora, serán explorados en más detalle y de forma cuantitativa en las siguientes secciones. No obstante, solo mirando las distribuciones (de datos empíricos y sintéticos), se evidencia que la modulación espaciotemporal del estímulo genera mayores valores de correlación (tanto moda como media), los cuales en parte dependen del aumento de las tasas de disparo generados por dichos estímulos.

3.2.2. Efecto Global del Estímulo: Comparando entre Estímulos con δCC

Utilizando la ecuación 3 y la metodología expuesta en 2.2.6, se calculó δCC entre AEE y AEF, ya que en ambas condiciones se registró la actividad de la red sin modulación espaciotemporal del

estímulo, pero ambas entregan la actividad intrínseca de la red bajo niveles diferentes de iluminación. Luego, se comparó solo entre condiciones fotópicas, es decir, AEF vs RB y PN y finalmente RB vs PN, para comparar la misma vía fotópica y no mezclar en la comparación la vía de conos con la de bastones. Así, se comparó las correlaciones dadas por la actividad intrínseca de la red contra las correlaciones dadas por la modulación del estímulo. El mismo análisis se repitió con las correlaciones encontradas en los rasters sintéticos, para descartar cambios en las correlaciones dados solo por las tasas de disparo. Además, se comparó estadísticamente los valores de δCC con los valores de δ Tasa de disparo (ver figura 9.D), encontrando que todos los valores de δCC (tanto para los rasters empíricos como sintéticos) son significativamente diferentes a los de δ Tasa de disparo ($p < 0.0001$, t-test para dos muestras).

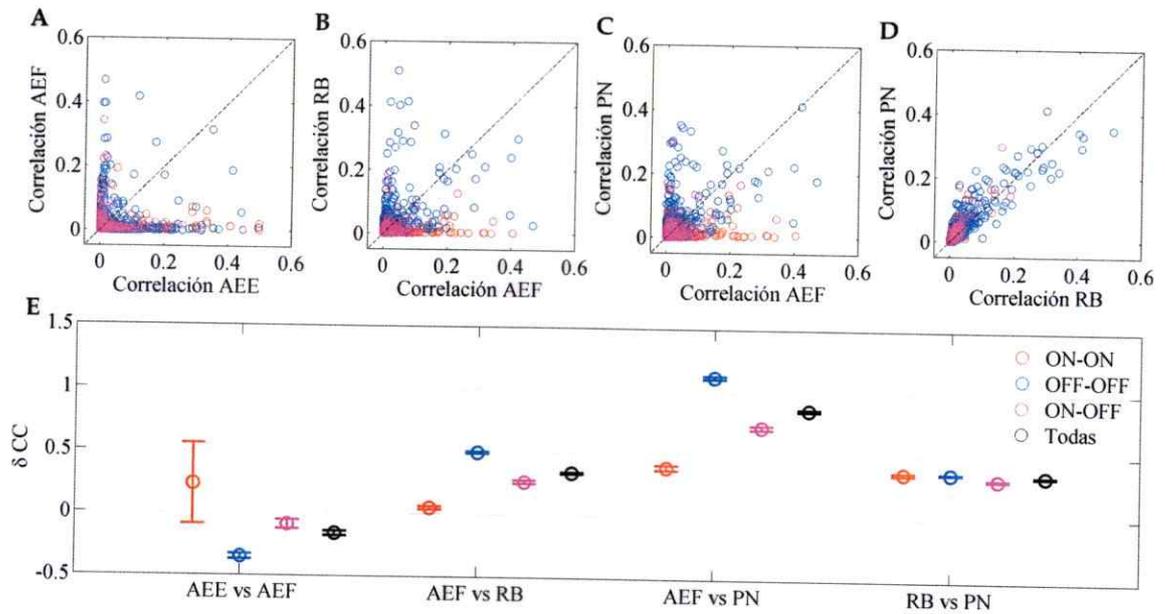


Figura 15: Diferencia en las Correlaciones Empíricas. A-D muestran gráficos de dispersión donde se comparan los valores de correlación entre todos los pares de CGR para una condición vs la otra. Línea diagonal indica la identidad y el código de colores es ON-ON (rojo), OFF-OFF (azul), ON-OFF (magenta) y Todas (negro). E resume los valores de $\delta CC_\mu \pm 1\delta CC_\sigma$ (barras de error) para todas las comparaciones realizadas, mostrando el efecto de la modulación espaciotemporal correlacionada (PN) y no correlacionada (RB) sobre la actividad intrínseca de la red. Todos los puntos significativamente diferentes de 0 (t-Student para una muestra $p < 0.0001$) y significativamente distintos entre ellos (t-Student para dos muestras $p < 0.0001$).

Al comparar AEE vs AEF (figura 15.A) se encontró un aumento en las correlaciones solo para la interacción ON-ON, mientras que para las otras interacciones se encontró una disminución de las correlaciones. Al considerar los rasters sintéticos (ver 16.A), se encontró que tanto la interacción ON-OFF como la interacción entre Todas muestran un aumento en las correlaciones, mientras que

OFF-OFF muestra una disminución y ON-ON un aumento (estos últimos dos casos consistentes cualitativamente con los datos empíricos, pero diferentes estadísticamente). El aumento específico de las ON está relacionado con su preferencia a disparar con los aumentos de la intensidad lumínica, además de que todas las CGR están recibiendo el mismo estímulo simultáneamente. Notar que las tasas de disparo para Toda la población como para la población OFF aumentan al comparar esta dos condiciones (ver figura 9.D), pero no así las correlaciones entre ellas. La disminución en las correlaciones para la interacción OFF-OFF tanto en raster sintéticos como empíricos puede ser explicada por la gran dispersión de los valores de δ Tasa de disparo para esta comparación, además de las neuronas que no disparan en ninguna de las dos condiciones.

Para el caso de AEF vs RB (figura 15.B) todas las interacciones observadas en los datos empíricos se corresponden cualitativamente con los cambios observados en los rasters sintéticos (figura 16.B), a pesar de ser estadísticamente diferentes (t-test para dos muestrass $p < 0.0001$), con los rasters sintéticos exhibiendo mayores valores de δ CC. Específicamente, la interacción ON-ON presenta un leve aumento de las correlaciones para la condición RB, lo cual indica que en términos de correlacion global esta sub-población es levemente sensible efecto de la modulación espaciotemporal no correlacionada, a pesar de que en términos de tasas de disparo es insensible (ver figura 9.D). La interacción OFF-OFF muestra un aumento en las correlaciones sugiriendo que la actividad poblacional bajo esta condición está conducida mayormente por la actividad concertada entre CGR OFF. Esto se apoya también en el aumento de las correlaciones para la interacción ON-OFF, indicando que las CGR ON aumentan mas su interacción con las CGR OFF en RB, que con ellas mismas. Consecuentemente, aumentan las correlaciones para toda la población. Entonces, en RB la actividad se ve conducida mayormente por las CGR OFF, las cuales no solo aumentan sus tasas de disparo, sino que también el nivel de correlación con ellas mismas y con las CGR ON, cuando se compara con AEF.

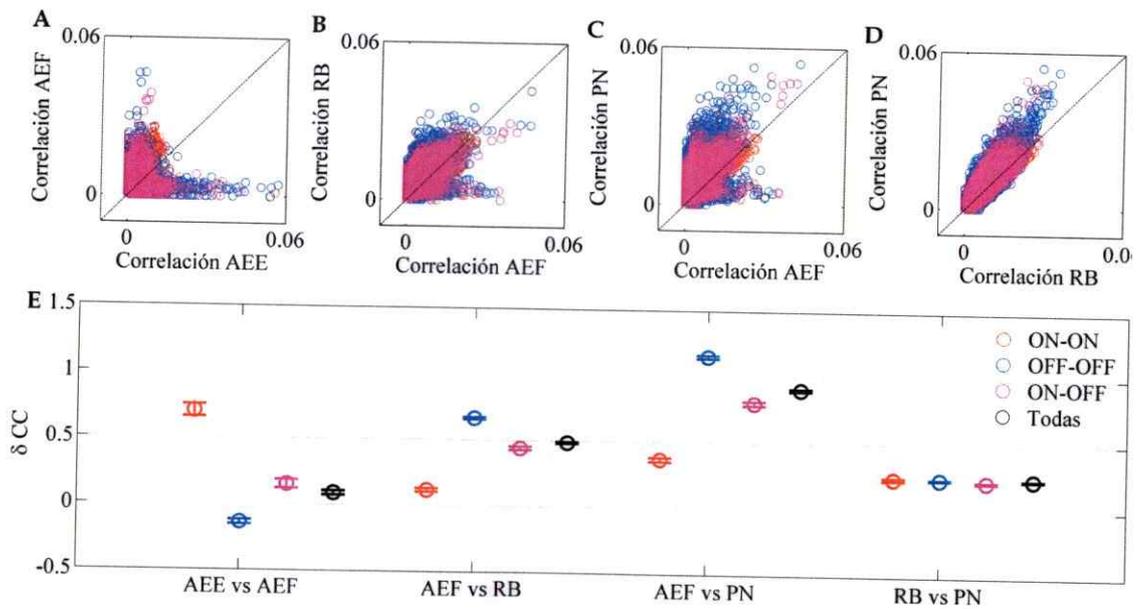


Figura 16: Diferencia en las Correlaciones para raster Sintéticos. La figura muestra el mismo gráfico expuesto en la figura 15, pero para los rasters sintéticos. Se aprecia el mismo comportamiento cualitativo para todas las comparaciones, excepto para AEE vs AEF. No obstante, todos los valores encontrados difieren estadísticamente de los valores encontrados para los rasters empíricos. Notar que los ejes de **A-D** fueron reducidos en un orden de magnitud para mejorar la visualización (ningún punto quedó fuera) en comparación a los gráficos correspondientes para los rasters empíricos.

Cuando se compara AEF contra PN (figura 15.C), se encuentra que el aumento de correlaciones para PN es aproximadamente el doble del aumento para AEF vs RB, para todas las interacciones consideradas, encontrando el mismo comportamiento para los raster sintéticos, pero difiriendo estadísticamente. **Esto muestra que la modulación espaciotemporal correlacionada de la película natural induce no solo mayores tasas de disparo, sino que también mayores correlaciones en toda la red.** Se aprecia el mismo fenómeno que en AEF vs RB respecto a la actividad poblacional conducida mayormente por las CGR OFF, solo que con mayor magnitud.

Luego, al comparar RB vs PN (figura 15.D) se observa que a pesar de que los valores encontrados de δCC son significativamente diferentes ($p < 0.001$, t-test para dos muestras), todos se encuentran en un entorno cercano de valores, al igual que para los rasters sintéticos. Esto reafirma lo observado en AEF vs RB y AEF vs PN: la modulación espaciotemporal correlacionada del estímulo PN no cambia fundamentalmente la proporción o la forma en que las subpoblaciones interactúan globalmente (en comparación con RB), sino que cambia la intensidad de las conexiones funcionales entre ellas. Por otro lado, los valores encontrados aquí (0.345 ± 0.0033 para Todas) coinciden sorprendentemente con los valores encontrados por Simmons et al. (0.32 ± 0.020) [Simmons et al., 2013] para comparaciones entre RB y PN pero en CGR de cobayo.

En suma, las CGR estudiadas pueden cambiar globalmente sus tasas de disparo independiente del cambio global de las correlaciones. La modulación espaciotemporal del estímulo genera una mayor actividad correlacionada entre todas las CGR respecto a las correlaciones intrínsecas de la red bajo condiciones fotópicas, especialmente entre las CGR OFF. Esta actividad correlacionada se intensifica cuando la modulación espaciotemporal del estímulo está correlacionada.

3.2.3. Extensión Espacial de las Correlaciones

Entonces, teniendo en cuenta los efectos del estímulo sobre las correlaciones globales en la red, se ahondará en mayor detalle sobre la extensión espacial de estas correlaciones en el espacio retiniano en busca de restricciones espaciales sobre dichas correlaciones. De esta forma no solo se observará el efecto del estímulo y el tipo de interacción sobre las correlaciones, sino que también el efecto de la distancia entre CGR en el espacio retiniano, es decir, el efecto sobre las correlaciones locales. Tal como se realizó en las secciones anteriores, se estudiará el caso de los rasters sintéticos para descartar las correlaciones dadas por los cambios en las tasas de disparo.

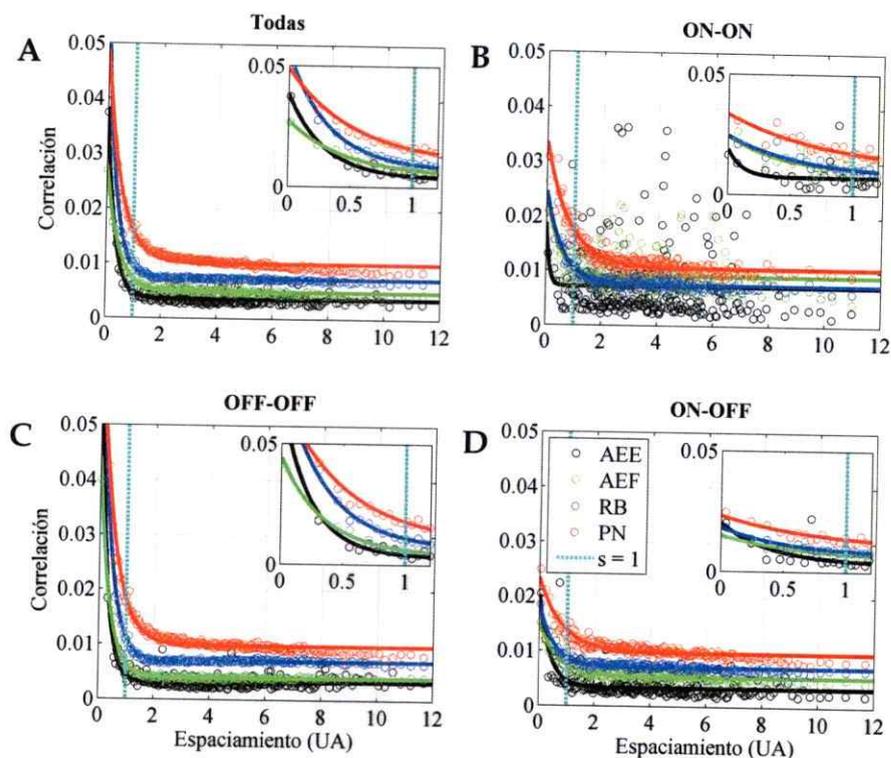


Figura 17: Extensión Espacial de las Correlaciones. Las figuras muestran la función $Xcorr(s)$ para todas las interacciones y estímulos utilizados. El inserto muestra el detalle de la función cercano a $s=1$, i.e. adyacencia entre campos receptivos. Se destaca que PN presenta correlaciones más allá del solapamiento para todos los tipos de interacción. A excepción de ON-ON (B) bajo AEE y AEF, todas las funciones se ajustan a un decaimiento exponencial de las correlaciones con el espaciamento entre RGC, exhibiendo una relación $PN > RB > AEF > AEE$ tanto para $Xcorr(s=1)$ como para $Xcorr(s=c)$. OFF-OFF (C) muestra alta semejanza con Todas (A). ON-OFF (D) exhibe los menores valores máximos de correlación. La línea base de correlaciones tanto para AEE como para RB no depende del tipo de interacción (K-S test $p > 0.001$). Lo mismo ocurre para PN, a excepción de ON-ON, la cual difiere de todas las otras interacciones para esta condición. Bajo AEF, ON-ON difiere de todas las otras interacciones y OFF-OFF también difiere de ON-OFF (K-S test $p > 0.001$). El código de colores se mantiene al igual que en las figuras anteriores.

En las figuras 17 y 18 se muestran las funciones $Xcorr(s)$ para todas las condiciones experimentales y todos los tipos de interacción, considerando los valores de correlación con y sin las contribución de las tasas de disparo, respectivamente. Lo primero que salta a la vista es que existe un decaimiento exponencial de las correlaciones a medida que los campos receptivos de las CGR se alejan. Lo segundo, es que las correlaciones sin la contribución de las tasas de disparo mantienen su decaimiento exponencial, sin embargo las asíntotas de las funciones se acercan a cero, indicando que gran parte de las diferencias entre estas está dada por el cambio en las tasas de disparo. No obstante, la interacción ON-ON para AEE y AEF presenta muchos puntos que yacen fuera del ajuste exponencial, indicando la existencia de correlaciones que dependen de forma no exponencial

del espaciamiento entre las CGR. Esto es de especial interés, ya que estas dos condiciones evocan la actividad intrínseca de la red bajo condiciones escotópicas y fotópicas, respectivamente, mostrando que en dichas condiciones las CGR ON presentan correlaciones significativamente diferentes de la línea base que se extienden más allá del solapamiento entre campos receptivos. Esto indica la presencia de correlaciones espaciotemporales intrínsecas extendidas espacialmente en la red.

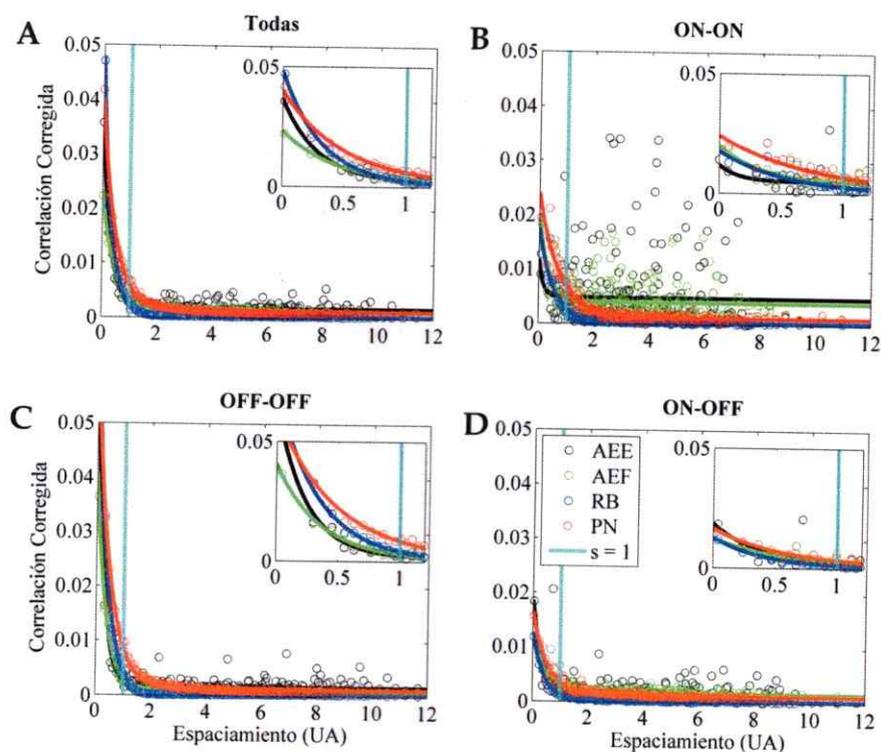


Figura 18: Extensión Espacial de las Correlaciones Independientes de las Tasas de Disparo. Se muestran los mismo gráficos que en la figura 17, pero luego de restar los valores de correlaciones obtenidos para los raster sintéticos (i.e. Correlación corregida). Se observa el mismo comportamiento que en la figura 17, solo que la línea base de las correlaciones (asíntota) cae a cero, disminuyendo la diferencia entre las curvas. Esto indica que gran parte de la línea base de las funciones $X_{corr}(s)$ corresponde a las correlaciones dadas por los cambios en las tasas de disparo, sobre todo para RB, donde la línea base exhibe para todas las interacciones el menor valor luego de la corrección.

Fuera del excepcional caso de la actividad intrínseca de las CGR ON, se observa el mismo fenómeno: tanto los valores de correlación cuando las campos receptivos de las CGR se encuentran adyacentes ($X_{corr}(s = 1)$) como los valores de la línea base ($X_{corr}(s = c)$) de las correlaciones son significativamente mayores para PN, cuando se compara con las otras condiciones sin restar la contribución de tasas de disparo (test K-S $p < 0.0001$, para todos los tipos de interacción). Cuando se resta la contribución de las tasas de disparo, $X_{corr}(s = 1)$ bajo PN es significativamente

mayor que RB para todas las condiciones e interacciones (test K-S $p < 0.0001$), sin embargo para el caso de la interacción ON-OFF es menos significativo al compararlo con AEE y AEF (K-S test $p < 0.01$ y $p < 0.1$, respectivamente). Cabe notar que al restar la contribución de las tasas de disparo, $Xcorr(s = 1)$ para RB muestra los mínimos valores para todas las interacciones excepto para OFF-OFF. Respecto a la línea base de las correlaciones ($Xcorr(s = c)$), se observa que al restar la contribución de las tasas de disparo todas las líneas bases son significativamente diferentes entre ellas (K-S test $p < 0.0001$), sin embargo RB exhibe siempre la menor línea base y PN solo es mayor que AEF para la interacción OFF-OFF, mientras que para las otras interacciones PN siempre es menor que AEE y AEF.

Por lo tanto, la modulación espaciotemporal del estímulo (RB y PN) evoca tanto mayor correlación cuando los campos receptivos están adyacentes como también la mayor línea base de las correlaciones, especialmente la modulación espaciotemporal correlacionada del estímulo (PN). Sin embargo, bajo RB, en la interacción de Todas, ON-ON y ON-OFF tanto la correlación cuando los campos receptivos son adyacentes como la línea base de las correlaciones dependen fuertemente del cambio de las tasas de disparo, ya que al restar la contribución de estas, ambos valores caen por debajo de las otras condiciones. Lo mismo ocurre con la línea base de las correlaciones de PN, la cual también cae por debajo de las condiciones espontáneas en el caso de Todas, ON-ON y ON-OFF. Entonces, los mayores valores de correlación independientes de los cambios en la tasas de disparo para campos receptivos adyacentes son evocados por la modulación espaciotemporal correlacionada del estímulo y no así cuando esta modulación no está correlacionada.

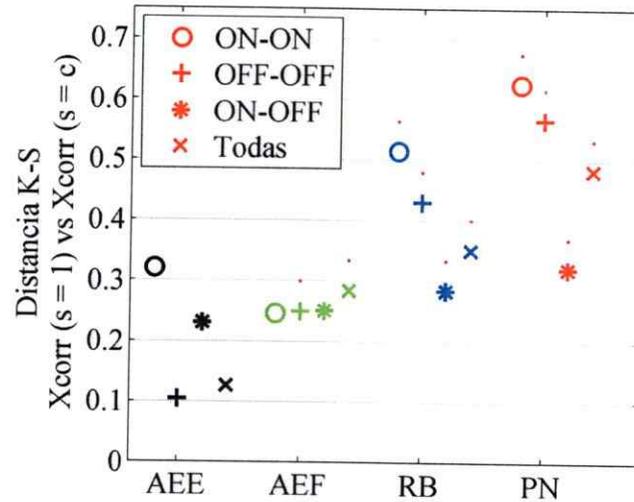


Figura 19: Correlaciones más allá del solapamiento. La figura muestra la distancia K-S entre $X_{corr}(s = 1)$ y $X_{corr}(s = c)$, para todas las condiciones y tipos de interacción. Puntos magenta indica diferencias significativas entre ambos valores con $p < 0.0001$. Tanto RB como PN muestran correlaciones más allá del solapamiento para todas los tipos de interacciones, caso contrario a AEE, donde no hay diferencias significativas, i.e. las correlaciones están restringidas por el solapamiento entre campos receptivos. AEF muestra diferencias significativas para OFF-OFF y Todas, sin embargo la interacción ON-ON presenta una función $X_{corr}(s)$ no exponencial, por lo que estos parámetros no representan la relación entre correlación y espaciamento. La mayor diferencia entre ambos valores se encuentra con PN para todas las interacciones, es decir, PN presenta la mayor extensión espacial de las correlación a pesar de tener la mayor línea base. Código de colores por condición se mantiene igual que en las otras figuras.

Por otro lado, al comparar el valor de correlación para campos receptivos adyacentes, $X_{corr}(s = 1)$, contra el valor de correlación de la línea base, $X_{corr}(s = c)$, es posible discriminar entre correlaciones que están significativamente extendidas más allá del solapamiento entre campos receptivos de las que no. Para esto se utilizó el test K-S para estudiar la significancia de esta diferencia como también el estadístico de éste test para medir la diferencia entre estos valores. Así, se encontró que la diferencia entre estos valores (distancia K-S, ver figura 19 y 20), para la interacción entre Todas y entre OFF-OFF decae de la forma $PN > RB > AEF > AEE$ para las correlaciones con y sin la contribución de las tasas de disparo. Por otro lado, no se encontró diferencias significativas entre estos valores para todas las interacciones consideradas en AEE, tanto tomando en cuenta la contribución de las tasas de disparo a las correlación como cuando esta se resta. Para AEF solo la interacción entre OFF-OFF y Todas muestran correlaciones significativas más allá del solapamiento (K-S test $p < 0.0001$) con y sin corrección para tasas de disparo. Considerar que la interacción ON-ON para ambas condiciones espontáneas muestra un comportamiento no exponencial. Para el caso de RB se encuentran correlaciones más allá del solapamiento en todos los tipos de interacción cuando no se corrige por las tasas de disparo, mientras que cuando se aplica la corrección solo se encuentran co-

rrelaciones significativas para Todas y OFF-OFF, confirmando la gran contribución de las tasas de disparo a las correlaciones bajo esta condición. Finalmente PN muestra correlaciones significativas más allá del solapamiento para todos los tipos de interacción con y sin corrección para tasas de disparo. Asimismo, para esta condición se encuentran los mayores valores de distancia K-S, indicando que estos dos valores presentan la mayor divergencia bajo éste estímulo.

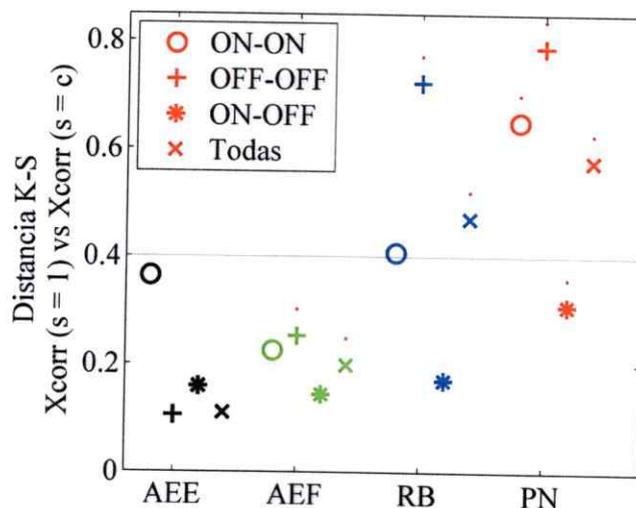


Figura 20: Correlaciones Independientes de la Tasa de Disparo más allá del Solapamiento. Se muestra la misma figura que en 19, pero luego de restar las correlaciones encontradas para los rasters sintéticos, es decir, correlaciones sin la contribución de las tasas de disparo. Notar que la distancia K-S entre ambos valores disminuye al realizar la corrección así como también dejan de ser significativas las diferencias para ON-ON y ON-OFF. Se mantienen las máximas distancias K-S para PN, incrementándose para el caso de la interacción OFF-OFF.

En suma, la actividad intrínseca de la red bajo condiciones escotópicas presenta correlaciones restringidas por el solapamiento entre campos receptivos, mientras que la actividad intrínseca bajo condiciones fotópicas muestra correlaciones restringidas por el solapamiento solo para ON-OFF (sin considerar el caso no trivial de ON-ON). Además, como fue observado para el nivel global de correlaciones, la subpoblación OFF parece conducir mayormente la actividad concertada en las condiciones con modulación espaciotemporal poblacional (RB y PN), pero no así para las condiciones espontáneas, donde la sub-población ON no solo aumenta el nivel global de correlaciones, sino que también extiende sus correlaciones intrapoblacionales a espacimientos mayores al solapamiento. Finalmente, se destaca que a pesar de descartar la contribución de las tasas de disparo a las correlaciones encontradas en PN, esta sigue exhibiendo la mayor extensión espacial de las correlaciones, así como también el mayor nivel de correlaciones cuando los campos receptivos de las CGR están adyacentes.

3.2.4. Evolución Temporal de las Correlaciones

Los resultados presentados arriba muestran el nivel global de correlaciones considerando los trenes de espigas de todas las neuronas durante toda la sesión de estimulación, lo cual anula cualquier tipo variación temporal de las correlaciones que pudiera ocurrir, suponiendo una conectividad funcional estática. A continuación se mostrarán breves resultados sobre la variación temporal de las correlaciones en una sesión de estimulación.

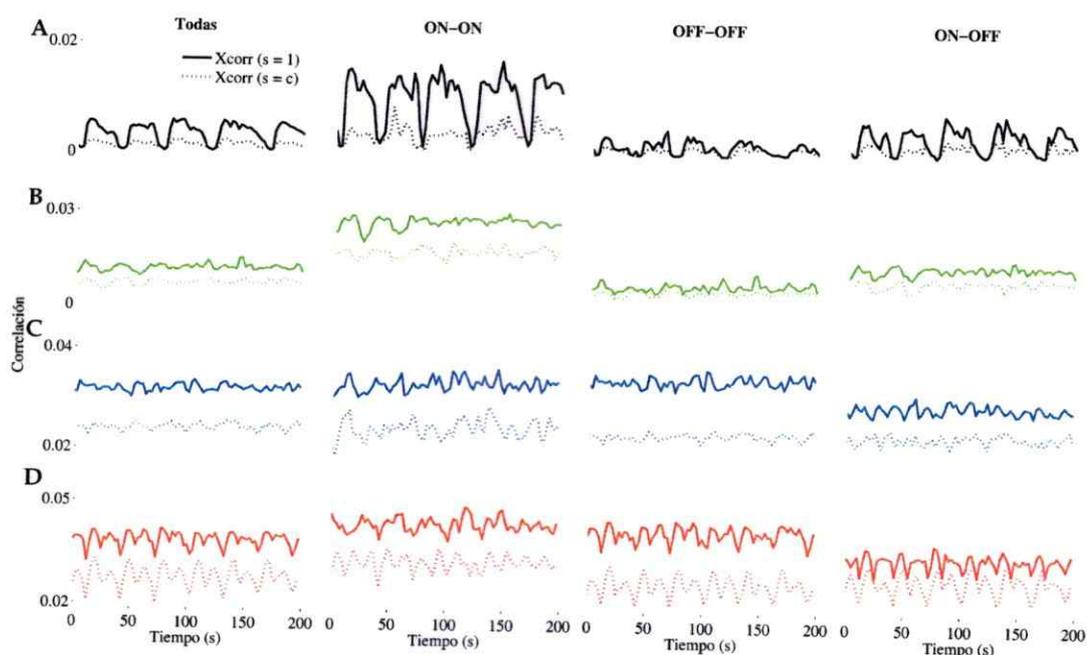


Figura 21: Correlaciones en el Tiempo. La figura muestra el curso temporal de $Xcorr(s=1)$ (línea continua) y de $Xcorr(s=c)$ (línea punteada) para una retina representativa. En **A**, AEE, se pueden ver oscilaciones de ambos parámetros en el tiempo, exhibiendo la mayor amplitud para la interacción ON-ON. Se observa también que $Xcorr(s=1)$ fluctúa desde niveles equivalentes a la línea base hacia niveles alejados de la misma, es decir, hay correlaciones más allá del solapamiento que no son capturadas al considerar todo el registro. En **B**, AEF, se observa altos valores de correlación para ON-ON en comparación con las otras interacciones. **C**, RB, también exhibe oscilaciones de ambos parámetros, mostrando la mayor separación entre ellos para OFF-OFF. **D**, PN, muestra oscilaciones rápidas de las correlaciones las cuales están relacionadas con las variaciones de la película natural más la repetición del estímulo. Código de colores mantiene se mantiene igual que en las figuras anteriores.

Como se observa en la figura 21, la función $Xcorr(s,t)$ no es constante en el tiempo, sino que varía en todas las condiciones y tipos de interacción, indicando la presencia de cambios en la conectividad funcional. Al comparar la figura 10.A con 21.A, i.e. AEE, se observa que no solamente es la tasa poblacional oscila en el tiempo, sino que también la extensión espacial de las correlaciones,

la cual periódicamente cae al nivel basal de correlaciones y luego aumenta, divergiendo del valor basal, sobre todo para Todas, ON-ON y ON-OFF. Este fenómeno no se observa al realizar el análisis considerando todo el registro, situación donde $Xcorr(s = 1)$ nunca es mayor que la línea base. No obstante, la menor divergencia entre estos valores se encuentra en AEE para todas las condiciones, sugiriendo que las fluctuaciones de la extensión espacial de las correlaciones dependen del estímulo.

Tabla 4: Contribución de las interacciones entre y dentro subpoblaciones a la evolución temporal de las correlaciones para CGR. adyacentes

	Coeficiente de Correlación \pm E.E.M. $Xcorr(s = 1, t)$			
	AEE	AEF	RB	PN
Todas vs On-On	0.601 \pm 0.10	0.871 \pm 0.053	0.755 \pm 0.054	0.743 \pm 0.036
Todas vs Off-Off	0.900 \pm 0.034	0.965 \pm 0.0067	0.892 \pm 0.015	0.947 \pm 0.012
Todas vs On-Off	0.814 \pm 0.091	0.969 \pm 0.0054	0.877 \pm 0.028	0.871 \pm 0.0092
On-On vs Off-Off	0.467 \pm 0.10	0.773 \pm 0.073	0.530 \pm 0.050	0.598 \pm 0.063

Tabla 5: Contribución de las interacciones entre y dentro subpoblaciones a la evolución temporal de la línea base de las correlaciones

	Coeficiente de Correlación \pm E.E.M. $Xcorr(s = c, t)$			
	AEE	AEF	RB	PN
Todas vs On-On	0.636 \pm 0.13	0.863 \pm 0.038	0.765 \pm 0.038	0.788 \pm 0.036
Todas vs Off-Off	0.949 \pm 0.031	0.986 \pm 0.0068	0.967 \pm 0.0055	0.979 \pm 0.0070
Todas vs On-Off	0.782 \pm 0.091	0.951 \pm 0.012	0.800 \pm 0.050	0.859 \pm 0.037
On-On vs Off-Off	0.515 \pm 0.15	0.835 \pm 0.044	0.688 \pm 0.043	0.725 \pm 0.048

Para el caso de AEF (21.B), se encuentran los mayores valores de correlación para ON-ON y los menores para OFF-OFF, consistente con lo encontrado en el análisis estático de las correlaciones (figura 17), donde ON-ON presenta mayor línea base de correlaciones así como correlaciones mayores a la línea base extendidas más allá del solapamiento. Se aprecia mayor divergencia entre $Xcorr(s = 1, t)$ y $Xcorr(s = c, t)$ en comparación con AEE, (figura 22.B), indicando que la actividad poblacional intrínseca de la retina bajo condición fotópica oscila por momentos de mayor extensión espacial de las correlaciones, es decir, existen momentos donde la actividad de disparo se propaga en la retina, correlacionando CGR alejadas entre sí.

Respecto a la modulación espaciotemporal del estímulo (RB y PN), se observa que ambos parámetros ($Xcorr(s = 1, t)$ y $Xcorr(s = c, t)$) se encuentran alejados, confirmando lo encontrado en la secciones previa: la modulación espaciotemporal del estímulo induce correlaciones significativamente mayores a la línea base más allá del solapamiento. Sin embargo, las correlaciones ON-OFF

presentan la menor divergencia (22.C y D), indicando que incluso en el tiempo la interacción entre estas dos vías se encuentran restringidas espacialmente y que las vías están funcionalmente conectadas con mayor fuerza con si mismas que entre ellas. Para ambos casos, RB y PN, se observa que la interacción OFF-OFF es la que presenta mayor divergencia entre ambos parámetros. Más aún, como se observo en la figura 15, la modulación espaciotemporal correlacionada del estímulo induce mayores valores de correlación y, además, valores de correlación más allá del solapamiento que se mantienen divergentes de la línea base en el tiempo.

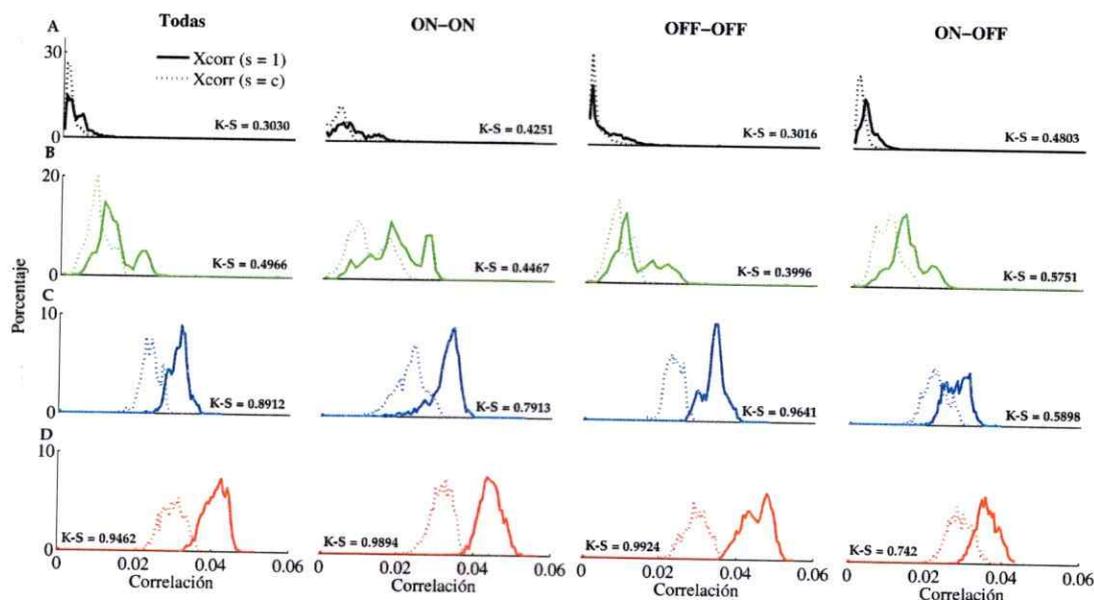


Figura 22: Histograma de Correlaciones en el tiempo. La figura muestra el histograma de valores para $X_{corr}(s=1, t)$ (línea continua) y $X_{corr}(s=c, t)$ (línea punteada) y la divergencia entre estas distribuciones medida con la distancia Kolmogorov-Smirnov. Se observa una disminución de ambos parámetros y de la divergencia entre ellos de la forma $PN > RB > AEF > AEE$. La interacción ON-OFF muestra la mayor divergencia entre los parámetros para los estímulos sin modulación (A y B), indicando interacciones dinámicas extendidas más allá del solapamiento entre ambas subpoblaciones. Lo contrario se observa para las condiciones con modulación del estímulo, C y D, donde la interacción ON-OFF presenta la menor divergencia, indicando que bajo estas condiciones las subpoblaciones presentan más correlaciones y mayor extensión espacial cuando interactúan dentro de cada sub-población que entre ellas. Concordante con el análisis estático, se observa que la interacción OFF-OFF para estímulos modulados presenta la mayor correlación en el tiempo así como también la mayor extensión espacial de las correlaciones en el tiempo, presentando muy poco solapamiento entre la distribución de ambos parámetros. Código de colores se mantiene igual que en las figuras anteriores.

Así como se observó que la actividad poblacional presenta una mayor contribución de las CGR OFF dada su mayor representación, también se observa lo mismo respecto a las correlaciones en el tiempo (ver tabla 4 y 5), donde la interacción OFF-OFF muestra los mayores valores de correlación con la evolución temporal de $X_{corr}(s=1)$ y $X_{corr}(s=c)$ para toda la población bajo estímulos modulados espaciotemporalmente. También se observa que la interacción ON-ON muestra la me-

nor correlación con la interacción OFF-OFF, indicando que también en el tiempo estas dos vías muestran segregación funcional.

En suma, la conectividad funcional varía en el tiempo, mostrando que en la actividad intrínseca de la retina existen momentos donde las correlaciones se extienden más allá del solapamiento entre CGR así como también momentos donde las correlaciones quedan restringidas completamente al solapamientos entre ellas. La modulación espaciotemporal del estímulo induce también mayores valores de correlación en el tiempo y mayor extensión espacial de la mismas, sobre todo para la sub-población OFF. Esta modulación también fortalece la interacción entre las vías ON y OFF.

4 DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos muestran que la modulación espaciotemporal del estímulo evoca los mayores niveles globales de correlaciones espaciotemporales, así como también la mayor extensión espacial de estas en el espacio retiniano, especialmente el estímulo película natural (correlacionado espaciotemporalmente) entregando los máximos valores de correlación global y la máxima extensión espacial. Además, se mostró que el nivel de correlación depende también del tipo de CGR considerada, encontrando mayores niveles de correlación y de extensión espacial en interacciones intra-poblacionales que en interacciones inter-poblacionales. De esta forma se prueba la hipótesis de trabajo.

Por otro lado, gran parte de los cambios globales en las correlaciones (no así la extensión espacial) de una condición a otra se deben a los cambios en las tasas de disparo, por lo que es de especial interés discutir los cambios globales en las tasas de disparo. Sin embargo, aunque no haya cambio global en las tasas de disparo, se pueden encontrar cambios globales en las correlaciones y viceversa, sugiriendo un rango donde las tasas de disparo y las correlaciones pueden variar independiente una de la otra, es decir, la organización funcional de la red puede variar independiente del nivel de excitación global de ésta.

A continuación se discutirán en mayor detalle los resultados encontrados, los posibles mecanismos involucrados en las correlaciones y sus cambios, y como estos mecanismos restringen la conectividad funcional, dando nociones sobre la conectividad efectiva de esta red.

4.1. Subpoblaciones y cambios en las tasas de disparo

4.1.1. Superficie Registrada y Número de CGR

La superficie registrada es de aproximadamente 2 mm^2 , siempre cercana al nervio óptico. Luego, considerando que en la CG de la retina de *O. degus* hay aproximadamente $3000 \text{ células/mm}^2$ [Vega-Zuniga et al., 2013] y suponiendo que aproximadamente la mitad de las células en esta capa son amacrinas desplazadas [Kao and Sterling, 2006] (caso del cobayo), se registró y analizó aproximadamente un 7% (215 CGR en promedio en cada retina) de las CGR presentes en la CG. Este valor es solo aproximado, ya que desconocemos la proporción entre CGR y amacrinas. Otro factor que influ-

ye en el registro es la profundidad y espaciamiento al cual los electrodos registran, ya que podrían existir señales de las CGR que no son detectadas por los electrodos, más aún si consideramos que el umbral de detección es menor o igual a -4.5 d.s. del promedio de la señal (ver 2.2.1), descartando muchas espigas con baja tasa señal-ruido. Además, existen células que responden con baja tasa de disparo o simplemente no responden a los estímulos presentados, las que son descartadas, disminuyendo aún más el número de células seleccionadas. Finalmente, se debe considerar también que fueron seleccionadas solamente células que tuvieran un STA poco ruidoso (ver 2.2.2) con el fin de tener buenas estimaciones del espaciamiento entre CGR, sin embargo el que una CGR no muestre buena señal en el STA no indica necesariamente que esta CGR haya sido mal registrada o erróneamente analizada durante el spike-sorting, sino que podría no ser estimulada preferentemente con el ruido blanco. Entonces, se debe tener en cuenta que solo estamos tomando una pequeña muestra de todas las CGR presentes en la CG.

4.1.2. Clasificación de las CGR y Campos Receptivos

Las CGR fueron clasificadas utilizando el filtro temporal de sus campo receptivo (ver 2.2.3), el cual captura el curso temporal promedio del estímulo previo al disparo de la CGR [Chichilnisky, 2001], sin embargo, dado que STA es un promedio, es posible que algunas CGR respondan tanto a aumentos como disminuciones de la intensidad del estímulo, entregando filtros temporales bifásicos o simplemente sin modulación temporal, requiriendo de otras metodologías (e.g. spike-triggered covariance [Schwartz et al., 2006, Samengo and Gollisch, 2013] o non-linear input model [McFarland et al., 2013]) no utilizadas aquí para detectar estos componentes por separado. Por otro lado, cuando se utiliza un estímulo tipo pulsos de luz en campo completo (no utilizado en este trabajo), se ha encontrado en *O. degus* una gran proporción de CGR ON y OFF que responden significativamente tanto al encendido como al apagado del estímulo, es decir, una respuesta tipo ON-OFF (A. Palacios lab, resultados no publicados). Además, recientes estudios han mostrado que la preferencia de las CGR a los pulsos de luz cambia con el nivel de iluminación media [Tikidji-Hamburyan et al., 2014], así como también con estímulos alejados del centro del campo receptivo [Geffen et al., 2007], por lo que una CGR clasificada como ON, podría responder como OFF bajo otras condiciones de estimulación o viceversa. Por esto, en todos los registros se controló que la iluminación media de los estímulos lumínicos fuera la misma. Entonces, se tiene en cuenta que la clasificación ON u OFF aquí realizada no representa necesariamente exclusividad en la respuesta de las CGR o proyecciones

a una capa específica de la CPI, sino que su preferencia promedio a las variaciones luminicas del estímulo, lo cual de todos modos genera una segregación funcional.

Por otro lado, las proporciones encontradas entre células ON y OFF ($\sim 1:3$) son consistentes con lo encontrado en cobayo, así como también CGR ON con filtros espaciales más grandes que las OFF y que éstas últimas se distribuyan más densamente en la retina [Ratliff et al., 2010]. Esto también se ha observado en primates no humanos [Chichilnisky and Kalmar, 2002], en ratón [Pandarinath et al., 2010] y salamandra [Geffen et al., 2007]. Esta asimetría entre CGR ON y OFF ha sido propuesta como un acoplamiento estructural entre la retina y la distribución de la luminancia de las imágenes naturales, la cual se encuentra sesgada hacia bajos niveles de luminancia [Ratliff et al., 2010].

Respecto a los campos receptivos, se ha observado que para película natural tanto el tamaño como el filtro temporal de estos cambia, pero no así la polaridad de estos [Park and Pillow, 2011, Lesica et al., 2008, McFarland et al., 2013, Sharpee, 2013], por lo que la medida de espaciamento utilizada (s) podría estar sub o sobre estimada para el caso de película natural. No obstante, para la película natural utilizada en estos registros no fue posible estimar los campos receptivos utilizando varias aproximaciones disponibles, por lo que se debe tener en cuenta que los cambios en la extensión espacial de las correlaciones también podría estar dada por cambios en los filtros espaciales de las CGR.

4.1.3. Preferencia a Estímulos y Cambios en las Tasas de Disparo

Como se observa, la condición fotópica genera aumento global en las tasas de disparo de las CGR en comparación con la condición escotópica, lo cual se correlaciona con el mayor grado de convergencia de la vía de bastones (un sólo tipo de bipolar de bastones en mamíferos), en comparación con la vía de conos, la cual es más divergente, activando a mayor diversidad de bipolares y, consecuentemente, mayor proporción de CGR [Purves D,]. Además, al ser más divergente la vía de conos, permite que las CGR colecten señales de varios tipos de bipolares, aumentando sus tasas de disparo. Esto es consistente con la existencia de CGR que no disparan durante la condición AEE pero que si lo hacen durante AEF. Aún así, existen CGR que no disparan en ninguna de las dos condiciones anteriores, pero si lo hacen al presentarle un estímulo modulado espaciotemporalmente, lo cual es concordante con CGR que responden preferentemente a cambios en el estímulo más que a estímulos estáticos. Frente a estímulos estáticos las CGR se adaptan, disminuyendo su sensibilidad

y con ello las tasas de disparo [Demb, 2008]. Además, en AEF existe inhibición periférica constante [Thakur and Rao, 2014, Takeshita and Gollisch, 2014], mientras que en condiciones moduladas espaciotemporalmente esta inhibición fluctúa, aumentando las tasas de disparo. Asociado a la relación centro-periferia de los campo receptivo, se ha visto que las CGR son sensibles a cambios en el contraste local, aumentando sus tasas de disparo con el aumento de contraste local [Zaghloul et al., 2003], situación que solo es posible bajo estímulos modulados espaciotemporalmente.

Por otro lado, se ha visto preferencia de las CGR por cambios de intensidad lumínica, longitudes de onda específicas, movimientos globales, locales, laterales, aparición de imágenes, bordes, entre otros, [Gollisch and Meister, 2010], todos estos presentes en los estímulos con modulación espaciotemporal. Sin embargo, ruido blanco puede presentar fenómenos tipo movimiento, texturas o bordes, pero no por construcción, sino que aleatoriamente. Caso contrario es el de la película natural, que contiene un ancho de banda acotado de frecuencias espaciales y temporales (generando texturas) [Eero P Simoncelli, 2001], presenta diversos elementos con bordes (e.g. árboles, ramas, montañas), además del movimiento global y local dado por el robot utilizado para el registro, generando una película con flujo óptico. Entonces, la película natural presenta mayor diversidad de elementos que activan preferentemente a las CGR, en comparación con los otros estímulos, explicando funcionalmente las mayores tasas de disparo presentes en este estímulo.

Considerando las subpoblaciones específicas, se encuentra que RB y PN modifican las tasas de disparo diferencialmente para cada subpoblación, cuando se compara con AEF. Por ejemplo, la población ON no muestra un cambio global en sus tasas de disparo cuando se compara AEF con RB, sugiriendo que esta población no discrimina en término de tasas de disparo globales entre AEF y RB, mientras que la población OFF muestra un aumento, indicando una preferencia específica de esta población por el estímulo RB sobre AEF. Sin embargo, al comparar RB vs PN, no se observa modificación diferencial de las tasas de disparo para ambas subpoblaciones, sugiriendo que PN aumenta el nivel de excitación global de la retina, pero sin una preferencia por una de las dos subpoblaciones.

Así, teniendo en cuenta qué características del estímulo cambian las tasas de disparo tanto globalmente como específicamente por subpoblación, se procede a discutir los cambios en las correlaciones y los posibles mecanismos involucrados.

4.2. Correlaciones Espaciotemporales

Las correlaciones estudiadas aquí corresponden únicamente a correlaciones rápidas ($< 5ms$), que de ocurrir entre campo receptivo solapados, restringe los mecanismos posibles a acoplamiento eléctrico vía gap junctions (presente en *O. degus*, ver [Palacios-Munoz et al., 2014]) entre pares de CGR o a input común desde una bipolares o amacrinas [Mastrorade, 1989, Brivanlou et al., 1998, DeVries, 1999, Shlens et al., 2006, Shlens et al., 2008, Trong and Rieke, 2008, Bloomfield and Völgyi, 2009]. En el caso de que los campo receptivo no se encuentren solapados podría estar involucrada una amacrinas de campo ancho acoplada eléctricamente a dos o más CGR [Manookin et al., 2015], como también la liberación simultánea de vesículas desde varias bipolares (dentro de la ventana temporal definida) evocada por las correlaciones espaciales del estímulo. Además, para cualquiera de los dos casos es posible encontrar coincidencia estadística entre los trenes de espigas sin necesidad de que estén anatómicamente conectadas o recibiendo input común (ver figura 12), situación que fue controlada con el análisis de los rasters sintéticos, descartando así conexiones funcionales que no están dadas por conectividad estructural.

Se debe tener en cuenta que la forma usada para cuantificar las correlaciones, la función correlación cruzada, es una de las tantas disponibles (ver [Vasquez et al., 2012, Torre et al., 2013, Averbek et al., 2006, Puchalla et al., 2005, de la Rocha et al., 2007]), teniendo la ventaja que permite analizar correlaciones espaciotemporales (la correlación de Pearson se restringe solo a correlaciones espaciales), no necesita de la construcción de un modelo (disminuyendo significativamente el tiempo de computo), ni tampoco requiere de correcciones por la finitud de los datos (necesario al utilizar medidas de teoría de la información), entregando una medida de interpretación directa de correlación entre pares de señales. Por otro lado, la forma en que se utilizó la FCC no discrimina la temporalidad a la cual ocurre la coincidencia entre los trenes de espigas (dentro de la ventana de 10ms), así como tampoco la forma de esta función, la cual entrega mayor detalle de los posibles mecanismos subyacentes a dichas correlaciones [Völgyi et al., 2013]. Una FCC ancha unimodal suele estar relacionada a correlaciones de temporalidad media ($> 10ms$) mediada por sinápsis químicas (i.e. correlaciones divergentes), mientras que una FCC estrecha bimodal suele estar relacionada a temporalidad rápida ($< 5ms$) y acoplamiento eléctrico (i.e. correlaciones recíprocas) [Mastrorade, 1989, DeVries, 1999]. Además, existen FCC unimodales estrechas asociadas a acoplamiento eléctrico entre una amacrinasy dos CGR, siendo esta la FCC más frecuente en la retina [Bloomfield and Völgyi, 2009]. Sin embargo, dado que todas las FCC fueron normalizadas para que el área bajo

la curva sume 1, una FCC ancha entregará un peak de menor valor que una FCC más estrecha (valores más dispersos en el primer caso y más concentrados en el peak en el segundo), por lo que el peak de la FCC es una medida indirecta de la forma de la FCC. Así, mientras mayor sea el peak de la FCC en el rango definido, más sugerente es que ésta correlación esté mediada por acoplamiento eléctrico, mientras que valores menores sugieren correlaciones mediadas por sinápsis químicas desde bipolares, amacrinasa o por ruido compartido.

Entonces, tomando en cuenta que la mayoría de las correlaciones rápidas encontradas en la retina están dadas por acoplamiento eléctrico entre una amacrina común a dos CGR, se sugiere que las correlaciones más allá del solapamiento están dadas por mecanismos laterales en la CPI, mediados por amacrinasa con extensión espacial de sus campo receptivo mayor que la suma de los campo receptivo de dos CGR y, particularmente, se sugiere la participación de amacrinasa de campo ancho [Manookin et al., 2015, Kao and Sterling, 2006], las que activarían simultáneamente a las CGR. Además, así como la película natural evoca mayores tasas de disparo producto de la diversidad de características que la componen, también se espera haya una mayor activación de amacrinasa, dado estas están involucradas en funciones como detección de movimiento, dirección, tamaño de los objetos, entre otros [Hoggarth et al., 2015, Gollisch and Meister, 2010, Thakur and Rao, 2014]. Finalmente, la extensión espacial de las correlaciones más allá del solapamiento en película natural persistió luego de restar el efecto de las tasas de disparo sobre éstas, mientras que para RB se vio disminuída, sugiriendo la existencia de mecanismos que solamente se activan con la película natural y que no dependen de las tasas de disparo. Por lo tanto, *se sugiere que la mayor contribución al aumento global en las correlaciones y de la extensión espacial de estas bajo la película natural se debe a la mayor activación de amacrinasa conectadas a CGR que evoca éste estímulo.*

4.2.1. Cambios Globales en las Correlaciones

Al comparar entre estímulos, se observa que los cambios globales en las correlaciones están dados principalmente por las tasas de disparo (comparar figura 15 con figura 16). Además, al comparar la función $Xcorr(s)$ con y sin contribución de las tasas de disparo (figura 17 y 18, respectivamente), se observa que las tasas de disparo contribuyen mayormente al cambio en la línea base y no así al decaimiento de esta función. Luego, considerando que las CGR con campo receptivo solapados son menos de un 10% de todos los pares considerados y que estos mismos pares son los que muestran los mayores valores de correlación, se espera encontrar que la mayor proporción de correlaciones

(del otro 90%) estén dados principalmente por cambios en las tasas de disparo. De ser así, el cambio global en las correlaciones evocado por el estímulo dependería principalmente del nivel de excitación global de la retina y no de la activación de mecanismos específicos que acoplarían a las CGR evocados por algún estímulo.

4.2.2. Interracciones dentro y entre Subpoblaciones

Dado que la metodología utilizada para medir los cambios en las correlaciones globales no entrega información respecto a los cambios locales (para CGR solapadas, adyacentes o levemente separadas entre ellas) producto de la poca representación de este tipo de interacción, es necesario analizar los cambios en la función $Xcorr(s)$ para establecer algunas restricciones biológicas impuestas sobre la conectividad funcional y como estas restricciones afectan la interacción entre CGR bajo diferentes estímulos.

La función $Xcorr(s)$ para la interacción OFF-OFF muestra gran similitud con las interacción entre Todas, producto de la mayor proporción de CGR OFF en todos los registros. Además, la interacción OFF-OFF muestra los mayores valores de correlación y de extensión espacial para todos los estímulos, cuando se compara con las otras interacciones. Esto sugiere mayor presencia de acoplamiento eléctrico entre las CGR OFF, en comparación con las otras interacciones, lo cual se ha descrito en conejo [DeVries, 1999], donde sólo las CGR OFF presentan interacciones recíprocas (i.e. eléctrica) entre ellas, mientras que las ON muestran interacción tipo divergentes (i.e. químicas) entre ellas. Por lo mismo, también se espera encontrar los menores valores de correlación para la interacción ON-OFF, ya que por un lado las correlaciones estarían dadas principalmente por sinápsis químicas y por otro los campo receptivo presentan polaridad opuesta, respondiendo a diferentes características del estímulo. Aún así, se destaca el hecho de que la interacción ON-OFF aumenta su magnitud para PN, lo cual también ha sido observado en cobayo [Simmons et al., 2013], indicando que las correlaciones del estímulo aumentan las interacciones inter-poblacionales. Además, al restar la contribución de las tasas de disparo, la extensión espacial de la interacción ON-ON y ON-OFF para RB se vio disminuída, indicando que gran parte de estas correlaciones están dadas por el aumento en las tasas de disparo, caso no presente con PN. No obstante lo anterior, se sabe de la existencia de gap junctions en la CPI de *O. degus* [Palacios-Munoz et al., 2014], pero no de la expresión en tipos específicos de CGR, por lo que se propone como tarea futura evaluar mediante técnicas de imagen la existencia de gap junctions dentro o entre tipos específicos de CGR y rela-

cionar dichos resultados con lo aquí encontrado.

Entonces, estos resultados sugieren mecanismos específicos para la interacción OFF-OFF, mediados principalmente por acoplamiento eléctrico, los que entregan mayores valores de correlación (producto de un peak de mayor magnitud en la FCC para interacciones recíprocas), así como también permiten encontrar correlaciones extendidas más allá del solapamiento de los campo receptivo vía CGR intermedia o vía amacrina. Para el caso ON-ON se sugieren interacciones principalmente mediadas por sinápsis químicas, las que entregan menores valores del peak de la FCC y que dependen mayormente del nivel de excitación global de la red. Aún así, bajo PN, todos los tipos de interacción muestran correlaciones significativas más allá del solapamiento, lo que sugiere la presencia de mecanismos activados solamente bajo éste estímulo y que son independientes de la tasa de disparo, posiblemente amacrinas conectadas tanto a células ON como OFF, lo que también explicaría el mayor nivel de correlación para la interacción ON-OFF.

4.2.3. Evolución Temporal de las Correlaciones

Dado que todas las condiciones registradas duran al menos 15 minutos, se exploró también la evolución temporal de la función $Xcorr(s)$, encontrando que las correlaciones no son estáticas durante el registro, sino que fluctúan de estados donde las correlaciones se extienden significativamente más allá del solapamiento entre campo receptivo, a estados donde las correlaciones quedan restringidas por el solapamiento entre los campo receptivo. También en este análisis es posible observar la segregación funcional entre las dos subpoblaciones y cómo esta se fortalece bajo PN. En particular, la actividad intrínseca de las poblaciones registradas muestran fluctuaciones en esta extensión espacial, la cual podría estar relacionada con avalanchas de actividad, donde la actividad de disparo se propaga por el espacio retiniano, aumentando las correlaciones entre neuronas que no poseen solapamiento entre sus campo receptivo [Mora and Marre, 2015]. Para los estímulos modulados espaciotemporalmente se encontró lo expuesto más arriba: PN evoca la mayor divergencia entre $Xcorr(s = 1, t)$ y $Xcorr(s = c, t)$ para todos los tipos de interacción, sin embargo se observa que hay fluctuaciones en la diferencia de estos parámetros, lo que sugiere la existencia de mecanismos que modulan las correlaciones en la retina así como también la extensión de esta. Un posible mecanismo podría ser la liberación de dopamina, la cual está involucrada en la permeabilidad de las uniones en hendidura y que, además, está involucrada en señalización de ritmos circadianos y

de niveles de iluminación de la escena visual [Bu et al., 2014].

Entonces, la conectividad funcional no es estática en el tiempo, sino que fluctúa tanto la magnitud de las correlaciones como su extensión espacial en el espacio retiniano. Sin embargo, en éste trabajo no se profundizó en mayor detalle respecto a la temporalidad de las correlaciones dada la carencia de referencias al respecto y dados los estímulos utilizados. Por esto, propone tener en cuenta para futuros trabajos que las correlaciones no son estáticas y, de esta forma, generar protocolos donde se modifique controladamente tanto el nivel de iluminación como el nivel de correlación del estímulo a lo largo del registro, de tal manera de poder estudiar la relación entre la evolución del estímulo y la evolución de las correlaciones entre las CGR.

5 CONCLUSIONES

- La modulación espaciotemporal del estímulo evoca tanto mayores tasas de disparo como mayores niveles de correlación global. Especialmente, la diversidad de características del estímulo película natural evoca la mayor tasa de disparo en todos los tipos de CGR como también los mayores niveles de correlación global.
- Gran parte de las correlaciones y sus cambios frente a diferentes condiciones de estimulación se deben a las tasas de disparo y los cambios de ellas, es decir, del nivel de excitación global de la retina. Sin embargo, las señales que saldrían del nervio óptico hacia el cerebro estarán más correlacionadas bajo un estímulo natural que bajo los estímulos sintéticos probados.
- A pesar de que las correlaciones dependan probabilísticamente de las tasas de disparo, existe un rango donde las correlaciones son independientes de las tasas de disparo. Es decir, la conectividad funcional puede variar independiente del nivel global de excitación de la red. El rango donde esto puede ocurrir no fue investigado aquí y se propone como nueva pregunta para futuras investigaciones.
- El estímulo película natural evoca la mayor extensión espacial de las correlaciones al compararlo con los otros estímulos utilizado, exhibiendo valores de correlación significativa más allá del solapamiento entre los campo receptivo de las CGR para todos los tipos de interacción.
- La extensión espacial de las correlaciones más allá del solapamiento entre campo receptivo bajo película natural estaría dada mayormente por mecanismos independientes de la tasa de disparo, probablemente, mediada por amacrinas acopladas eléctricamente a las CGR.
- Se sugiere que las interacciones dentro de la supoblación OFF están dadas mayormente por acoplamiento eléctrico entre las CGR (i.e. correlaciones recíprocas), mientras que las interacciones dentro de la subpoblación ON están dadas mayormente por sinápsis químicas (i.e. correlaciones divergentes), al igual que la interacción entre estas poblaciones.
- Bajo estímulos sintéticos se observa mayor segregación funcional entre la subpoblación ON y OFF, mientras que bajo película natural dicha segregación funcional disminuye, es decir, la fuerza de la interacción entre ambas subpoblaciones aumenta.

- Las correlaciones no son estáticas durante una sesión de registro, así como tampoco lo es la extensión espacial de estas. Esto podría estar relacionado con fluctuaciones en los niveles de iluminación ambiental, lo que también se propone como futura línea de investigación.
- Finalmente, la conectividad funcional entre CGR depende tanto del tipo de interacción, de la separación física entre ellas, de las propiedades estadísticas del estímulo y del tiempo.

6 Bibliografía

- [Ala-Laurila et al., 2011] Ala-Laurila, P., Greschner, M., Chichilnisky, E. J., and Rieke, F. (2011). Cone photoreceptor contributions to noise and correlations in the retinal output. *Nat. Neurosci.*, 14(10):1309–16.
- [Averbeck et al., 2006] Averbeck, B. B., Latham, P. E., and Pouget, A. (2006). Neural correlations, population coding and computation. *Nat. Rev. Neurosci.*, 7(5):358–66.
- [Bloomfield and Völgyi, 2009] Bloomfield, S. a. and Völgyi, B. (2009). The diverse functional roles and regulation of neuronal gap junctions in the retina. *Nat. Rev. Neurosci.*, 10(7):495–506.
- [Brivanlou et al., 1998] Brivanlou, I. H., Warland, D. K., and Meister, M. (1998). Mechanisms of concerted firing among retinal ganglion cells. *Neuron*, 20:527–539.
- [Bu et al., 2014] Bu, J. Y., Li, H., Gong, H. Q., Liang, P. J., and Zhang, P. M. (2014). Gap junction permeability modulated by dopamine exerts effects on spatial and temporal correlation of retinal ganglion cells' firing activities. *J. Comput. Neurosci.*, 36:67–79.
- [Chichilnisky, 2001] Chichilnisky, E. J. (2001). A simple white noise analysis of neuronal light responses. *Network-computation Neural Syst.*, 12:199–213.
- [Chichilnisky and Kalmar, 2002] Chichilnisky, E. J. and Kalmar, R. S. (2002). Functional asymmetries in ON and OFF ganglion cells of primate retina. *J. Neurosci.*, 22(7):2737–47.
- [Connaughton, 2005] Connaughton, V. (2005). Glutamate and Glutamate Receptors in the Vertebrate Retina. *Webvision Organ. Retin. Vis. Syst.*

- [de la Rocha et al., 2007] de la Rocha, J., Doiron, B., Shea-Brown, E., Josić, K., and Reyes, A. (2007). Correlation between neural spike trains increases with firing rate. *Nature*, 448(7155):802–6.
- [Demb, 2008] Demb, J. B. (2008). Functional circuitry of visual adaptation in the retina. *J. Physiol.*, 586:4377–4384.
- [DeVries, 1999] DeVries, S. (1999). Correlated firing in rabbit retinal ganglion cells. *J. Neurophysiol.*, 81:908–920.
- [Eero P Simoncelli, 2001] Eero P Simoncelli, B. A. O. (2001). NATURAL IMAGE STATISTICS AND NEURAL REPRESENTATION Eero. *Annu. Rev. Neurosci.*
- [Euler et al., 2014] Euler, T., Haverkamp, S., Schubert, T., and Baden, T. (2014). Retinal bipolar cells: elementary building blocks of vision. *Nat. Rev. Neurosci.*, 15(8):507–19.
- [Ferrea et al., 2012] Ferrea, E., Maccione, a., Medrihan, L., Nieuws, T., Ghezzi, D., Baldelli, P., Benfenati, F., and Berdondini, L. (2012). Large-scale, high-resolution electrophysiological imaging of field potentials in brain slices with microelectronic multielectrode arrays. *Front. Neural Circuits*, 6(November):80.
- [Friston, 1994] Friston, K. J. (1994). Functional and effective connectivity in neuroimaging: A synthesis. *Hum. Brain Mapp.*, 2:56–78.
- [Geffen et al., 2007] Geffen, M. N., de Vries, S. E. J., and Meister, M. (2007). Retinal Ganglion Cells Can Rapidly Change Polarity from Off to On. *PLoS Biol.*, 5(3):e65.
- [Gollisch and Meister, 2010] Gollisch, T. and Meister, M. (2010). Eye smarter than scientists believed: neural computations in circuits of the retina. *Neuron*, 65(2):150–64.
- [Greschner et al., 2011] Greschner, M., Shlens, J., Bakolitsa, C., Field, G. D., Gauthier, J. L., Jepson, L. H., Sher, A., Litke, A. M., and Chichilnisky, E. J. (2011). Correlated firing among major ganglion cell types in primate retina. *J. Physiol.*, 589(Pt 1):75–86.
- [Hagmann et al., 2008] Hagmann, P., Cammoun, L., Gigandet, X., Meuli, R., Honey, C. J., Van Wassenhove, J., and Sporns, O. (2008). Mapping the structural core of human cerebral cortex. *PLoS Biol.*, 6(7):1479–1493.

- [Hebb, 1949] Hebb, D. O. (1949). The Organization of Behaviour. *Organization*, page 62.
- [Hoggarth et al., 2015] Hoggarth, A., McLaughlin, A., Ronellenfitch, K., Trenholm, S., Vasandani, R., Sethuramanujam, S., Schwab, D., Briggman, K., and Awatramani, G. (2015). Specific Wiring of Distinct Amacrine Cells in the Directionally Selective Retinal Circuit Permits Independent Coding of Direction and Size. *Neuron*, pages 1–16.
- [Hopfield, 1982] Hopfield, J. J. (1982). Computational Abilities. *Biophysics (Oxf)*., 79(April):2554–2558.
- [Jacobs et al., 2003] Jacobs, G. H., Calderone, J. B., Fenwick, J. a., Krogh, K., and Williams, G. a. (2003). Visual adaptations in a diurnal rodent, *Octodon degus*. *J. Comp. Physiol. A. Neuroethol. Sens. Neural. Behav. Physiol.*, 189(5):347–61.
- [Jadzinsky and Baccus, 2013] Jadzinsky, P. D. and Baccus, S. a. (2013). Transformation of visual signals by inhibitory interneurons in retinal circuits. *Annu. Rev. Neurosci.*, 36(May):403–28.
- [Kao and Sterling, 2006] Kao, Y.-H. and Sterling, P. (2006). Displaced GAD65 amacrine cells of the guinea pig retina are morphologically diverse. *Vis. Neurosci.*, 23:931–939.
- [Kenneth S. Ginsburg, James A. Johnsen, Levine, 1984] Kenneth S. Ginsburg, James A. Johnsen, Levine, M. W. (1984). Common noise in the firing of neighbouring ganglion cells in goldfish retina. *J. Physiol.*, pages 433–450.
- [Lesica et al., 2008] Lesica, N. a., Ishii, T., Stanley, G. B., and Hosoya, T. (2008). Estimating receptive fields from responses to natural stimuli with asymmetric intensity distributions. *PLoS One*, 3(8):e3060.
- [Linberg et al., 2001] Linberg, K., Cuenca, N., Ahnelt, P., Fisher, S., and Kolb, H. (2001). Comparative anatomy of major retinal pathways in the eyes of nocturnal and diurnal mammals. *Prog. Brain Res.*, 131(1959):27–52.
- [Manookin et al., 2015] Manookin, M. B., Puller, C., Rieke, F., Neitz, J., Neitz, M., Newman, P., Cunningham, S., Huang, J., Angueyra, J., and Sinha, R. (2015). Distinctive receptive field and physiological properties of a wide-field amacrine cell in the macaque monkey retina. *J. Neurophysiol.*

- [Masland, 2012] Masland, R. H. (2012). The neuronal organization of the retina. *Neuron*, 76(2):266–80.
- [Mastrorarde, 1989] Mastrorarde, D. N. (1989). Correlated firing of retinal ganglion cells. *Trends Neurosci.*, 12(1975):75–80.
- [McCulloch and Pitts, 1943] McCulloch, W. S. and Pitts, W. (1943). A logical calculus of the ideas immanent in nervous activity. *Bull. Math. Biophys.*, 5:115–133.
- [McFarland et al., 2013] McFarland, J. M., Cui, Y., and Butts, D. a. (2013). Inferring nonlinear neuronal computation based on physiologically plausible inputs. *PLoS Comput. Biol.*, 9(7):e1003143.
- [Meytlis et al., 2012] Meytlis, M., Nichols, Z., and Nirenberg, S. (2012). Determining the role of correlated firing in large populations of neurons using white noise and natural scene stimuli. *Vision Res.*, 70:44–53.
- [Mora and Marre, 2015] Mora, T. and Marre, O. (2015). Dynamical criticality in the collective activity of a population of retinal neurons. pages 1–13.
- [Nirenberg et al., 2001] Nirenberg, S., Carcieri, S. M., Jacobs, a. L., and Latham, P. E. (2001). Retinal ganglion cells act largely as independent encoders. *Nature*, 411(6838):698–701.
- [Palacios-Munoz et al., 2014] Palacios-Munoz, A., Escobar, M., Vielma, A., Araya, J., Astudillo, A., Valdivia, G., Garcia, I., Hurtado, J., Schmachtenberg, O., Martinez, A., and Palacios, A. (2014). Role of connexin channels in the retinal light response of a diurnal rodent. *Front. Cell. Neurosci.*, 8(August):1–13.
- [Pandarinath et al., 2010] Pandarinath, C., Victor, J. D., and Nirenberg, S. (2010). Symmetry breakdown in the ON and OFF pathways of the retina at night: functional implications. *J. Neurosci.*, 30(30):10006–14.
- [Park and Pillow, 2011] Park, M. and Pillow, J. W. (2011). Receptive field inference with localized priors. *PLoS Comput. Biol.*, 7(10):e1002219.
- [Puchalla et al., 2005] Puchalla, J. L., Schneidman, E., Harris, R. a., and Berry, M. J. (2005). Redundancy in the population code of the retina. *Neuron*, 46(3):493–504.

- [Purves D,] Purves D, Augustine GJ, F. D. Functional specialization of the rod and cone systems. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK10850/>. Accessed: 2015-10-15.
- [Ratliff et al., 2010] Ratliff, C. P., Borghuis, B. G., Kao, Y.-H., Sterling, P., and Balasubramanian, V. (2010). Retina is structured to process an excess of darkness in natural scenes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 107:17368–17373.
- [Rubinov and Sporns, 2010] Rubinov, M. and Sporns, O. (2010). Complex network measures of brain connectivity: Uses and interpretations. *Neuroimage*, 52(3):1059–1069.
- [Samengo and Gollisch, 2013] Samengo, I. and Gollisch, T. (2013). Spike-triggered covariance: geometric proof, symmetry properties, and extension beyond Gaussian stimuli. *J. Comput. Neurosci.*, 34(1):137–61.
- [Schneidman et al., 2006] Schneidman, E., Berry, M. J., Segev, R., and Bialek, W. (2006). Weak pairwise correlations imply strongly correlated network states in a neural population. *Nature*, 440(7087):1007–12.
- [Schwartz et al., 2012] Schwartz, G. W., Okawa, H., Dunn, F. a., Morgan, J. L., Kerschensteiner, D., Wong, R. O., and Rieke, F. (2012). The spatial structure of a nonlinear receptive field. *Nat. Neurosci.*, 15(11):1572–80.
- [Schwartz et al., 2006] Schwartz, O., Pillow, J. W., Rust, N. C., and Simoncelli, E. P. (2006). Spike-triggered neural characterization. *J. Vis.*, 6(4):484–507.
- [Segev et al., 2004] Segev, R., Goodhouse, J., Puchalla, J., and Berry, M. J. (2004). Recording spikes from a large fraction of the ganglion cells in a retinal patch. *Nat. Neurosci.*, 7(10):1154–61.
- [Sharpee, 2013] Sharpee, T. O. (2013). Computational identification of receptive fields. *Annu. Rev. Neurosci.*, 36:103–20.
- [Shatz, 1996] Shatz, C. J. (1996). Emergence of order in visual system development. *J. Physiol. Paris*, 90(January):141–150.
- [Shlens et al., 2009] Shlens, J., Field, G. D., Gauthier, J. L., Greschner, M., Sher, A., Litke, A. M., and Chichilnisky, E. J. (2009). The structure of large-scale synchronized firing in primate retina. *J. Neurosci.*, 29(15):5022–31.

- [Shlens et al., 2006] Shlens, J., Field, G. D., Gauthier, J. L., Grivich, M. I., Petrusca, D., Sher, A., Litke, A. M., and Chichilnisky, E. J. (2006). The structure of multi-neuron firing patterns in primate retina. *J. Neurosci.*, 26(32):8254–66.
- [Shlens et al., 2008] Shlens, J., Rieke, F., and Chichilnisky, E. J. (2008). Synchronized firing in the retina. *Curr. Opin. Neurobiol.*, 18:396–402.
- [Simmons et al., 2013] Simmons, K. D., Prentice, J. S., Tkacik, G., Homann, J., Yee, H. K., Palmer, S. E., Nelson, P. C., and Balasubramanian, V. (2013). Transformation of stimulus correlations by the retina. *PLoS Comput. Biol.*, 9(12):e1003344.
- [Sporns et al., 2004] Sporns, O., Chialvo, D. R., Kaiser, M., and Hilgetag, C. C. (2004). Organization, development and function of complex brain networks. *Trends Cogn. Sci.*, 8(9):418–425.
- [Sporns et al., 2005] Sporns, O., Tononi, G., and Kötter, R. (2005). The human connectome: A structural description of the human brain. *PLoS Comput. Biol.*, 1(4):0245–0251.
- [Takeshita and Gollisch, 2014] Takeshita, D. and Gollisch, T. (2014). Nonlinear spatial integration in the receptive field surround of retinal ganglion cells. *J. Neurosci.*, 34(22):7548–61.
- [Thakur and Rao, 2014] Thakur, S. and Rao, S. N. (2014). An excitatory amacrine cell detects object motion and provides feature-selective input to ganglion cells in the mouse retina. *Igarss 2014*, (May):1–5.
- [Tikidji-Hamburyan et al., 2014] Tikidji-Hamburyan, A., Reinhard, K., Seitter, H., Hovhannisyan, A., Procyk, C. a., Allen, A. E., Schenk, M., Lucas, R. J., and Münch, T. a. (2014). Retinal output changes qualitatively with every change in ambient illuminance. *Nat. Neurosci.*, 18(December):66–74.
- [Tkacik et al., 2014] Tkacik, G., Marre, O., Amodei, D., Schneidman, E., Bialek, W., and Berry, M. J. (2014). Searching for collective behavior in a large network of sensory neurons. *PLoS Comput. Biol.*, 10(1):e1003408.
- [Tkacik et al., 2010] Tkacik, G., Prentice, J. S., Balasubramanian, V., and Schneidman, E. (2010). Optimal population coding by noisy spiking neurons. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 107:14419–14424.

- [Torre et al., 2013] Torre, E., Picado-Muñoz, D., Denker, M., Borgelt, C., and Grün, S. (2013). Statistical evaluation of synchronous spike patterns extracted by frequent item set mining. *Front. Comput. Neurosci.*, 7:132.
- [Trenholm et al., 2014] Trenholm, S., Mclaughlin, A. J., Schwab, D. J., Turner, M. H., Smith, R. G., Rieke, F., and Awatramani, G. B. (2014). Nonlinear dendritic integration of electrical and chemical synaptic inputs drives fine-scale correlations. *Nat. Publ. Gr.*, 17(12):1759–1766.
- [Trong and Rieke, 2008] Trong, P. K. and Rieke, F. (2008). Origin of correlated activity between parasol retinal ganglion cells. *Nat. Neurosci.*, 11(11):1343–1351.
- [Vasquez et al., 2012] Vasquez, J. C., Marre, O., Palacios, a. G., Berry, M. J., and Cessac, B. (2012). Gibbs distribution analysis of temporal correlations structure in retina ganglion cells. *J. Physiol. Paris*, 106(3-4):120–7.
- [Vega-Zuniga et al., 2013] Vega-Zuniga, T., Medina, F. S., Fredes, F., Zuniga, C., Severín, D., Palacios, A. G., Karten, H. J., and Mpodozis, J. (2013). Does nocturnality drive binocular vision? Octodontine rodents as a case study. *PLoS One*, 8(12):e84199.
- [Vidne et al., 2012] Vidne, M., Ahmadian, Y., Shlens, J., Pillow, J. W., Kulkarni, J., Litke, A. M., Chichilnisky, E. J., Simoncelli, E., and Paninski, L. (2012). Modeling the impact of common noise inputs on the network activity of retinal ganglion cells. *J. Comput. Neurosci.*, 33(1):97–121.
- [Völgyi et al., 2013] Völgyi, B., Pan, F., Paul, D. L., Wang, J. T., Huberman, A. D., and Bloomfield, S. a. (2013). Gap Junctions Are Essential for Generating the Correlated Spike Activity of Neighboring Retinal Ganglion Cells. *PLoS One*, 8(7).
- [Widrow and Hoff, 1960] Widrow, B. and Hoff, M. (1960). Adaptive switching circuits.
- [Zaghloul et al., 2003] Zaghloul, K. a., Boahen, K., and Demb, J. B. (2003). Different circuits for ON and OFF retinal ganglion cells cause different contrast sensitivities. *J. Neurosci.*, 23(7):2645–54.