Investigación en **NEUROCIENCIAS** *y sistemas complejos*

SILVIA KOCHEN, LUCIANA D'ALESSIO Y PAULA N. GONZÁLEZ
Compiladoras

CUADERNOS DE INVESTIGACIÓN



Universidad Nacional ARTURO JAURETCHE


Universidad Nacional
ARTURO JAURETCHE

Kochen, Silvia
Investigación en neurociencias y sistemas complejos / Silvia Kochen ;
compilado por Luciana D´Alessio ; Paula González N. - 2a ed . - Florencio Varela :
Universidad Nacional Arturo Jauretche, 2018.
Libro digital, PDF - (Cuadernos de Investigación)

Archivo Digital: descarga y online
ISBN 978-987-3679-23-0

1. Neurociencias. I. D´Alessio, Luciana, comp. II. González N., Paula, comp. III. Título.
CDD 616.89

Universidad Nacional
ARTURO JAURETCHE

Universidad Nacional Arturo Jauretche
Rector: **Lic. Ernesto Fernando Villanueva**

Directora del Centro de Política Educativa: Lic. María Gabriela Peirano
Coordinadora de la Unidad de Gestión de la Investigación: Mg. Dolores Chiappe

Coordinación editorial: Gabriela Ruiz
Diseño de tapa y maquetación: Editorial UNAJ
Correctora: Victoria Piñera

© 2018, UNAJ
Av. Calchaquí 6200 (CP1888)
Florencio Varela Buenos Aires, Argentina
Tel: +54 11 4275-6100
editorial@unaj.edu.ar
www.unaj.edu.ar

Este libro fue seleccionado, con referato externo, en la Convocatoria
de Publicaciones de Obras inéditas 2017, realizada por la UNAJ.

Queda hecho el depósito que marca la Ley 11.723
Impreso en argentina

Universidad Nacional Arturo Jauretche

Investigación en **NEUROCIENCIAS** *y sistemas complejos*

SILVIA KOCHEN,
LUCIANA D'ALESSIO
PAULA N. GONZÁLEZ
Compiladoras


CUADERNOS DE
INVESTIGACIÓN

ÍNDICE

Presentación **9**

Introducción **11**

Capítulo 1. La influencia de la nutrición sobre el desarrollo del cerebro: apuntes de una investigación basada en modelos experimentales y neuroimágenes. *Jimena Barbeito Andrés, Paula N. González y Valeria Bernal* **25**

Capítulo 2. Mejorando nuestras memorias durante la vigilia y el sueño. *Cecilia Forcato y Julia Carbone* **41**

Capítulo 3. Reconocimiento emocional auditivo y visual en pacientes con epilepsia: protocolo de estudio y resultados preliminares en una población normal autóctona. *Mónica Fernández Lima, Laura Scévola, Silvia Oddo, Brenda Giagante, PatriciaSolís, Silvia Kochen, Luciana D'Alessio* **61**

Capítulo 4. Correlatos neuronales de la percepción y la memoria visual. Registro de neuronas individuales corticales en humanos. *Belén Gori, Hernán Rey, Santiago Collavini, Claudia Múnera, Fernando Chaure, Mónica Fernandez Lima, Pablo Seoane, Eduardo Seoane, Rodrigo Quian Quiroga y Silvia Kochen* **81**

Capítulo 5. Plasticidad cerebral en epilepsia: ¿Qué podemos aprender mediante el estudio del procesamiento de la prosodia emocional? *Lucía Alba-Ferrara, Luciana D'Alessio y Silvia Kochen* **101**

Capítulo 6. Procesamiento del lenguaje en el hemisferio derecho. Análisis del discurso en epilepsia del lóbulo temporal. *Carolina Lomlomdjian, Verónica Terpiluk, Romina Prestupa, Claudia Múnera, Patricia Solís y Silvia Kochen* **119**

Capítulo 7. Envejecimiento y cognición. Diagnóstico precoz orientado a la prevención del deterioro cognitivo. *Julieta Lisso, Zulma Sevillano, Nancy Medel, Patricia Solís y Silvia Kochen* **139**

Bibliografía **148**

Anexo I **150**

Anexo II **157**

Sobre los autores **168**

CAPÍTULO 4

Correlatos neuronales de la percepción y la memoria visual. Registro de neuronas individuales corticales en humanos

BELÉN GORI, HERNÁN REY, SANTIAGO COLLAVINI, CLAUDIA MÚNERA, FERNANDO CHAURE, MÓNICA FERNANDEZ LIMA, PABLO SEOANE, EDUARDO SEOANE, RODRIGO QUIAN QUIROGA Y SILVIA KOCHEN

Resumen

En el 2005, se anunció un descubrimiento de enorme repercusión: neuronas que representan conceptos y participan de la formación de memorias, llamadas "neuronas de Jennifer Aniston", porque en el experimento se utilizaron imágenes de la actriz. En los pacientes con epilepsia refractaria a fármacos, está indicado el tratamiento quirúrgico, situación que ofrece una excepcional oportunidad para investigar las funciones cognitivas en el cerebro humano y, al mismo tiempo, estudiar cómo influye el proceso epileptógeno sobre dichas funciones.

A continuación, se evalúa el modo en el cual la percepción y la memoria visual son procesadas por poblaciones de neuronas individuales a nivel de la corteza cerebral. Empleando microelectrodos intracerebrales implantados en pacientes candidatos a cirugía de epilepsia, se registra la actividad eléctrica de múltiples neuronas individuales (NI) en forma simultánea a los potenciales de campo locales (LFP) durante tareas de percepción visual y memoria. Esta oportunidad única de registrar múltiples neuronas individuales permite investigar cómo están representados por poblaciones de neuronas en el cerebro, tanto el procesamiento de la información como la conducta, ya que el humano puede dar detalles de su experiencia y comportamiento. Estas condiciones privilegiadas resultan un valioso recurso para resolver algunas de las controversias de la

neurociencia cognitiva sobre el procesamiento de la información visual por las neuronas en el cerebro humano, principalmente comprender el sustrato neurofisiológico del aprendizaje, la memoria y su importancia para el comportamiento.

Palabras clave: neurona individual, memoria, percepción visual, redes neuronales

Introducción

Desde hace décadas, el cerebro ha sido objeto de estudio de un gran número de científicos en todo el mundo. Resulta interesante, sin duda, saber más acerca de cómo funciona nuestro cerebro, cómo pensamos, cómo recordamos lo que nos pasa, cómo es que nos emocionamos y, sobretodo, entender por qué ocurren y cómo combatir, enfermedades neurológicas como el alzheimer, el párkinson y la epilepsia, entre otras. De ese interés, surgen los numerosos estudios que hoy en día se llevan a cabo tanto en modelos animales como así también estudiando directamente el cerebro de personas conscientes.

En la década del 90, ya se realizaban diversas técnicas para el estudio de la epilepsia. Entre ellas, el electroencefalograma (EEG), donde los electrodos se colocan sobre el cuero cabelludo y detectan la actividad general de miles de neuronas a la vez. Cuando los pacientes con epilepsia son refractarios a fármacos, es decir, las drogas ya no tienen éxito en el control de sus crisis, dichos pacientes requieren de una cirugía para extirpar la zona de inicio de las crisis y aspirar a la cura de su epilepsia. En este último caso, debe realizarse un estudio de EEG intracerebral (EEGi), en el que los electrodos se colocan dentro del cerebro detectando la actividad de cientos de neuronas (una escala menor que el EEG) para registrar la actividad eléctrica con mayor exactitud espacial y temporal, y así poder detectar y delimitar la zona de inicio de crisis que luego deberá ser extraída en el quirófano.

A finales de la década del 90, se desarrolló una técnica especial para el

registro de la actividad cerebral en humanos conscientes (Fried, MacDonald y Wilson, 1997). Esta técnica permite junto al EEGi, el registro de múltiples neuronas individuales en forma simultánea (Fried, MacDonald y Wilson, 1997) y de los potenciales de campo locales (LFP) con alta resolución espacial y temporal, utilizando microelectrodos que forman parte del electrodo intracerebral, y solo se realiza en pacientes con epilepsia refractaria a fármacos que requieren del EEGi como estudio diagnóstico. Poder registrar y aislar la actividad de neuronas individuales y tener la oportunidad de poder investigar y conocer cómo y para qué funcionan por separado estas neuronas fue realmente novedoso para la época e, incluso, lo sigue siendo aún hoy. Esta técnica, a la que llamamos "registro de neurona individual" (RNI), se realiza en pocos centros del mundo, entre los cuales se destaca la Universidad de Los Ángeles (Estados Unidos), la Universidad de Bonn (Alemania), el Centro de Epilepsia del King's College Hospital (Inglaterra), y nuestro centro, la Unidad Ejecutora de Estudios en Neurociencias y Sistemas Complejos (ENyS), es el único en Argentina, y el primero en Latinoamérica, en llevar a cabo, desde el 2012, esta sofisticada técnica de registro neuronal. Este marco proporciona una excepcional oportunidad para investigar el sustrato neurofisiológico de la percepción y la memoria visual en seres humanos conscientes que pueden informar de su experiencia.

Procesamiento de estímulos visuales y su relación con la memoria

Un objetivo fundamental de la neurociencia cognitiva es comprender el sustrato neurofisiológico del aprendizaje y la memoria. Esta oportunidad única, de registrar múltiples neuronas individuales, permite investigar cómo están representados por poblaciones de neuronas en el cerebro, tanto el procesamiento de la información como la conducta, ya que el humano puede dar detalles de su experiencia y comportamiento. Estas condiciones privilegiadas resultan un valioso recurso para resolver algunas de las controversias en neurociencia sobre el procesamiento de la información visual por las neuronas en el cerebro (Quian Quiroga et al.,

2009; Quian Quiroga et al., 2008; Quian Quiroga et al, 2005; Reddy y Kanwisher, 2006). Las neuronas del lóbulo temporal mesial (LTM) estarían situadas en la confluencia de la transformación de las percepciones en conceptos/ideas que pueden ser recordadas conscientemente. Estas células responderían al "significado" de los estímulos, ya sea visuales o auditivos, en lugar de a la información detallada que llega a la retina, respondiendo a un concepto particular. Asumiendo esta hipótesis, su actividad reflejaría la transformación completa a la cual se somete la información visual a través de la vía visual ventral. Estudios con EEGi de las vías ventrales en los seres humanos mostraron que las señales neuronales provocadas por estímulos visuales se propagan desde la región occipito-temporal hacia las estructuras del LTM (Quian Quirogaet al., 2005; Reddy y Kanwisher, 2006; Mukamel y Fried, 2012). A lo largo de esta vía, la representación neural se vuelve cada vez más selectiva a determinadas categorías e invariable ante diferentes representaciones de un mismo estímulo. El aumento de la tasa de descarga de neuronas individuales en regiones del LTM se correlaciona con la percepción consciente del estímulo (Reddy et al., 2005; Mukamel y Fried, 2012). El hecho de que el LTM represente la información abstracta consciente en forma dispersa e invariante es consistente con su papel destacado en la consolidación de la memoria a largo plazo (Quian Quirogaet al., 2005). Si bien la percepción visual y la memoria confluyen en el LTM, otras áreas extratemporales como el área parieto-occipital (Meeren et al., 2013) y fronto-orbitaria (Schnider et al., 2013; Kumfor, 2013) poseen conexiones importantes con la corteza límbica, y estarían involucradas en la percepción visual (Blatt, Andersen y Stoner, 1990) y en la consolidación de las memorias (Sacchetti, Baldi y Bucherelli, 2003), lo cual las convierte en áreas relevantes para el estudio de dichas funciones. Los resultados obtenidos por (Fried, MacDonald y Wilson, 1997) indican que las neuronas del LTM estarían involucradas en el proceso de la codificación (percepción) y del recuerdo (memoria). Durante el recuerdo del estímulo, están comprometidas las mismas redes neuronales selectivas. De este modo, el hipocampo y la corteza entorrinal parecen ser los nodos importantes en la transformación de la información sensorial en conceptos que pueden ser conscientemente recordados, como también en la habilidad para distinguir entre estímulos novedosos y aquellos observados con anterioridad.

Las células de concepto (inicialmente, llamada "neurona de Jennifer Aniston") son neuronas de hipocampo y amígdala, que se activan de manera selectiva, invariante y multimodalante un concepto en particular (Quian Quiroga et al., 2009; Quian Quiroga et al., 2008; Quian Quiroga et al., 2007; Quian Quiroga et al., 2005). Estas neuronas, o mejor dicho su función, fueron descubiertas por el Dr. Rodrigo Quian Quiroga, un físico argentino, que comenzó sus investigaciones en la Universidad de California en Los Ángeles (UCLA) (Estados Unidos) desarrollando el algoritmo matemático utilizado hasta el día de hoy para aislar y clasificar la actividad de neuronas individuales de entre un mar de neuronas (Quian Quiroga et al., 2004). Actualmente, el Dr. Quian Quiroga trabaja en el Departamento de Ingeniería de la Universidad de Leicester (Inglaterra) y en el Centro de Epilepsia del King's College Hospital (Inglaterra) y continúa investigando las funciones de estas neuronas tan particulares.

Numerosos estudios han demostrado que estas neuronas son la base de la formación de las asociaciones y memorias (De Falco et al., 2016; Ison, Quian Quiroga y Fried, 2015; Quian Quiroga et al., 2009; Quian Quiroga et al., 2008; Quian Quiroga et al, 2005; Rey et al., 2015). Cuando decimos que la respuesta de estas neuronas es selectiva, nos referimos a que responden de manera específica a un concepto en particular; por ejemplo, a Jennifer Aniston, y no responde a ninguno de los otros 99 conceptos presentados. Asimismo, al afirmar que su respuesta es invariante, hacemos referencia a que la misma neurona responde a diversas fotos del concepto, generalmente lo más distintas posible. Incluso en algunos casos, se ha observado como una neurona que respondía a distintas fotografías de la actriz de Hollywood Halle Berry (cada una con un *look* diferente), también respondía a un dibujo del rostro de la actriz. Hasta aquí, el reconocimiento de los conceptos ocurre a través de la observación de fotografías mediante la vía visual (Quian Quiroga et al., 2005).

Ahora bien, cuando decimos que la respuesta es multimodal, nos referimos a que esas neuronas también responden al nombre del concepto, ya sea escrito en la pantalla de la computadora con la que está

trabajando el paciente o al oír el nombre del concepto sintetizado por una voz de computadora (Quian Quiroga et al., 2009; Quian Quiroga et al., 2008; Quian Quiroga et al., 2005). El adjetivo "multimodal" se refiere a que estas células de concepto procesan y reconocen un concepto, ya sea por la vía visual, reconociendo una imagen o un nombre escrito, como así también por la vía auditiva, al oír el nombre del concepto. Estos descubrimientos sugieren que existe una codificación consistente, explícita y dispersa, que transforma representaciones visuales complejas en memorias abstractas de largo término. Así mismo, se observó que estas neuronas pueden ser manipuladas para que respondan a un concepto al que no respondían con anterioridad sin dejar de responder al concepto original, revelando el mecanismo por el cual serían la base de la formación de asociaciones y memorias episódicas (Ison, Quian Quiroga y Fried, 2015). Cuando estas neuronas responden a más de un concepto, esos suelen estar fuertemente asociados (De Falco et al., 2016).

Las células de concepto son parte de lo que en neurociencia se llama "*cell assemblies*", pequeños conjuntos de células o redes de neuronas conectadas entre sí, que codifican un concepto en particular (Quian Quiroga, 2012). Cada una de las neuronas que forman parte de una red puede formar parte al mismo tiempo de otra red o "*assembly*" diferente, que responde a otro concepto asociado al primero. De esta manera, la activación de la red neuronal de Jennifer Aniston, luego de observar su foto, podrá lanzarla activación de otros conceptos asociados, tales como Lisa Kudrow (coactriz de la serie *Friends*) o de Brad Pitt (pareja famosa de Aniston), mediante la tasa de disparo de las neuronas con una representación solapada. Tal representación parcialmente solapada podría ser la base de la codificación y el aprendizaje de asociaciones y memorias episódicas. Por lo tanto, sería interesante determinar cómo las neuronas que codifican el mismo concepto se comunican entre sí. También, sería interesante estudiar cómo el disparo de un conjunto de células dado puede conducir al disparo de otro que codifica un concepto asociado. Para intentar responder estos interrogantes, una posibilidad es estudiar las diferencias en las características de la tasa de disparo de las neuronas que codifican un concepto en particular y compararlas con

las características de la tasa de disparo de las neuronas que codifican conceptos asociados. Una hipótesis podría ser que cuanto más asociados están los conceptos para el paciente, más solapadas estarían las redes neuronales de ambos y, por lo tanto, las características de la tasa de disparo ante ambos deberían ser más similares (Quian Quiroga, 2012; Quian Quiroga et al., 2005; Quian Quiroga et al., 2009; Quian Quiroga et al., 2008; Quian Quiroga, Nadasdy y Ben-Shaul, 2004).

El lóbulo temporal medial y, en particular, el hipocampo está implicado en funciones referentes a la memoria episódica en humanos. El registro con microelectrodos en pacientes candidatos a cirugía de la epilepsia es una gran oportunidad para estudiar la neurofisiología subyacente a la memoria episódica, ya que esta solo puede ser evaluada en humanos conscientes que pueden informar de su experiencia.

El objetivo principal de este proyecto es estudiar el modo en el cual la percepción y la memoria visual son procesadas por poblaciones de neuronas en el cerebro humano. Nuestra hipótesis se basa en que son procesadas por un grupo reducido de neuronas que responden a estímulos determinados, localizado en áreas específicas de la corteza. Esta información puede ser objetivada a través del registro de las neuronas individuales y de los potenciales de campo local (LFP) en pacientes con epilepsia.

Metodología

Como se mencionó anteriormente, el tratamiento quirúrgico está indicado para los pacientes con epilepsia refractaria a fármacos. Para acceder a dicho tratamiento, los pacientes deben ser evaluados por médicos neurólogos y epileptólogos, quienes plantean la estrategia de colocación de electrodos intracerebrales, conduciendo al estudio diagnóstico de la zona epiletógena (SEEG), en el cual mediante el protocolo habitual de estimulación cerebral a partir del registro del electroencefalograma intracerebral (EEGi), se consigue determinar la zona epileptógena para una posible resección quirúrgica. Esta situación ofrece una excepcional oportunidad para investigar las funciones cognitivas en el cerebro hu-

mano y, al mismo tiempo, estudiar cómo influye el proceso epileptógeno sobre dichas funciones.

Los pacientes candidatos al estudio de SEEG son evaluados por el grupo de profesionales médicos del CE mediante evaluación neuropsicológica general (Oddo et al., 2003; 2012; Lomlomdjian et al., 2011; Múnera et al., 2012), video-Electroencefalografía (video-EEG) de superficie de 5 días de registro, resonancia magnética (Princich et al., 2012) y evaluación psiquiátrica (D'Alessio et al., 2009). A partir de la población de pacientes candidatos a SEEG, solo aquellos pacientes que presentaron como hipótesis de zona epileptógena el hipocampo o la amígdala son estudiados en este proyecto. Por supuesto, para participar de este estudio, los pacientes deben firmar un consentimiento informado aprobado por el Comité de Ética en Investigación del Hospital General de Agudos "José María Ramos Mejía" y del Comité de Ética en Investigación del Hospital El Cruce "Dr. Néstor Kirchner".

Una vez incluidos en el estudio, se entrevista a cada paciente con el fin de conocer sus gustos e intereses ante diferentes conceptosde distintas categorías y determinar así qué tipos de estímulos les serían presentados durante el paradigma.

Los pacientes se implantan con electrodos clínicos y microelectrodos intracerebrales (Fig. 1A). Una vez finalizada la cirugía de implante, se corrobora la posición anatómica de los electrodos mediante el corregistro de imágenes de resonancia magnética y tomografía computada en cada uno de los pacientes. Es importante aclarar que la localización de los electrodos se basa exclusivamente en criterios clínicos y será verificada mediante resonancia magnética por los especialistas del CE (Fig. 1B) (Princich et al., 2012). Los pacientes permanecen internados un promedio de 7 a 10 días. Durante este período, se registra la actividad eléctrica proveniente tanto de los electrodos clínicos como de los microelectrodos durante las 24 horas del día con el objetivo principal de registrar crisis epilépticas que permitan localizar fehacientemente la zona epileptógena a resecar en una posible cirugía.

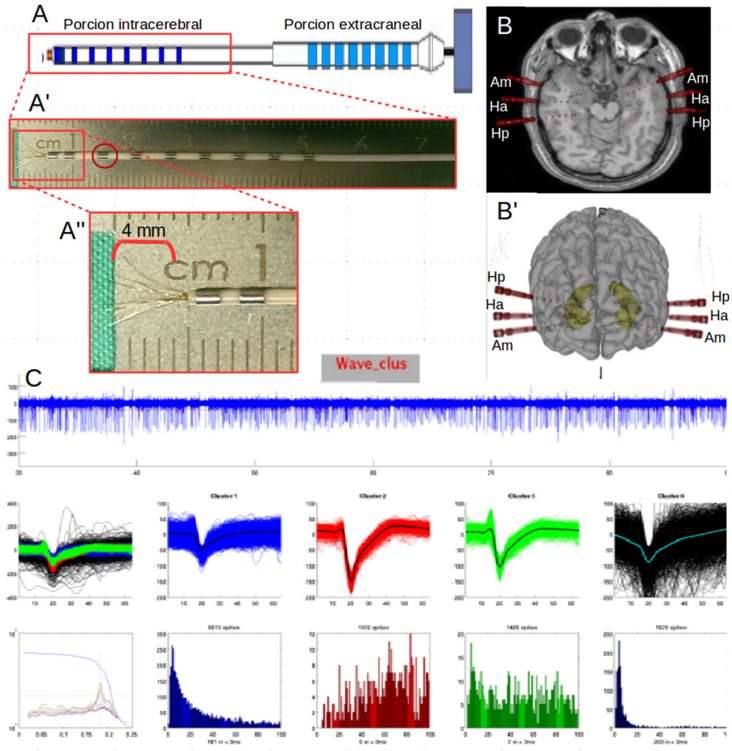


Figura 1. A) Esquema de un electrodo clínico y de investigación. Se maximiza la porción intracerebral del electrodo en **A'**, señalando uno de los 9 contactos de platino (círculo rojo: contactos clínicos). **A''**) Microelectrodos de registro (AdTech, Estados Unidos), los cuales detectan la actividad de LFP y NI. Se colocan 9 cables de 40 µm de diámetro (8 electrodos y 1 referencia) por dentro del electrodo clínico, extendiéndose 3-4mm desde el extremo. **B)** Localización de los electrodos a partir del corregistro de resonancia magnética (RM) y tomografía axial computada (TAC) de uno de los pacientes con electrodos implantados en amígdala bilateral (Am), hipocampo anterior bilateral (Ha) e hipocampo posterior bilateral (Hp). **B')** Reconstrucción 3D de la RM y TAC expuesta en **B**. Se muestra un único paciente a modo de ejemplo. Se realizó la corroboración de la localización de los electrodos a todos los pacientes. **C)** Clasificación de espigas neuronales, tanto unidad múltiple como unidad simple. Todos los registros adquiridos desde los microelectrodos se analizan offline y se clasifica la actividad de los diferentes clústeres (grupos) de neuronas de cada canal por medio del algoritmo de Wave_clus [3] (MATLAB). La imagen muestra una unidad múltiple (clúster azul) y dos unidades simples (clústeres rojo y verde). El cuadro del extremo derecho (clúster negro) muestra el ruido eléctrico y la actividad que no corresponde a ningún tipo de neurona y, por lo tanto, se elimina del análisis. *Fuente: Elaboración propia.*

Tareas de percepción y memoria visual

Una vez que el paciente se encuentra recuperado de la cirugía y en condiciones de colaborar, se realiza una sesión de *screening* (Quian Quiroga et al., 2005; Quian Quiroga et al., 2009; Quian Quiroga et al., 2008), donde se le presentan por medio de una computadora portátil, cuatro categorías de imágenes:

i) personas famosas, personal médico y técnico, familiares;
ii) lugares conocidos;
iii) objetos cotidianos;
iv) animales (incluidas las propias mascotas)
todos ellos obtenidos a partir de la entrevista con el paciente (100-150 imágenes).

Cada imagen se repite 6 veces (Fig. 2A). Inmediatamente finalizada la sesión, se identifica cuáles de los estímulos presentados provocaron espigas, es decir, cuales provocaron la respuesta de una neurona en particular, analizando la señal obtenida de cada microelectrodo (Fig. 1A) con el objetivo de detectar y categorizar las espigas de cada neurona individual en respuesta a los estímulos visuales presentados (Fig. 1C).

La respuesta a un estímulo se definirá como el número medio de espigas obtenidas en los ensayos entre 300 y 1000 milisegundos después del inicio del estímulo. La actividad basal será el promedio de espigas registradas para todas las imágenes en una ventana de tiempo de 700 milisegundosantes del inicio del estímulo (Quian Quiroga et al., 2005; Quian Quiroga et al., 2009; Quian Quiroga et al., 2008). Por lo tanto, una unidad se considerará selectiva para, al menos, un estímulo, si la actividad cumple tres criterios:

1) El número promedio de espigas es mayor que el número promedio de espigas de la línea basal más 5 desvíos estándar.
2) El número medio de espigas es mayor o igual a dos.
3) Un t-test pareado comparando si el período basal y el período de respuesta, para un estímulo en particular, muestra una diferencia sig-

nificativa usando como nivel de significancia $\alpha=0.05$.

Se implementa el procesamiento mediante el algoritmo de clasificación de espigas (*spike sorting*) del sistema Wave_clus[4](Fig. 1C) (Quian Quiroga, Nadasdy y Ben-Shaul, 2004). Una vez detectados los estímulos que provocaron respuestas en la sesión de *screening*, se seleccionan rápidamente tres imágenes diferentes del concepto que obtuvo respuestas (diferente ropa, frente-perfil, color de pelo, diferente fondo, etc.), agregándose la denominación escrita del estímulo, y el audio del nombre del concepto a través de una voz sintetizada por computadora (Fig. 2B) (Quian Quiroga et al., 2005; Quian Quiroga et al., 2009; Quian Quiroga et al., 2008). Cada uno de los estímulos se presenta 30 veces, para observar cambios en el patrón de respuesta debidos a la habituación. Para reforzar la atención a los estímulos, se instruye a los pacientes para que respondan si la imagen, el texto o el audio corresponden o no a un individuo presionando la tecla "S" o "N", respectivamente (Fig. 1B) (Quian Quiroga et al., 2005; Quian Quiroga et al., 2009; Quian Quiroga et al., 2008). De esta manera, intentamos determinar si las neuronas responden de manera invariante, a las distintas versiones del mismo concepto.

Luego de la sesión de codificación/percepción, se analiza la actividad eléctrica registrada durante la sesión midiéndose el tiempo y magnitud de las espigas, su duración, y la presencia de patrones temporales en los trenes de espigas para cada uno de los estímulos presentados. Una vez agrupadas las espigas en diferentes grupos, se las clasifica entre unidad individual (espigas provenientes de una neurona) y unidad múltiple (espigas provenientes de varias neuronas que no pueden ser separadas por presentar una baja relación señal-ruido), basándose en los siguientes criterios:

i) la forma de la espiga y su varianza;
ii) la relación entre el valor del pico de la espiga y el nivel de ruido;
iii) la distribución de intervalos entre espigas de cada grupo;

4 Disponible en <www.le.ac.uk/neuroengineering>.

iv) la presencia de un período refractario para las unidades individuales (es decir, la existencia de un período refractario de al menos 3 milisegundos entre espigas diferencia a una unidad individual de una unidad múltiple, ya que si se registrara más de una espiga dentro de un intervalo menor a 3 milisegundos, esto representaría a un solapamiento de las descargas de más de una neurona).

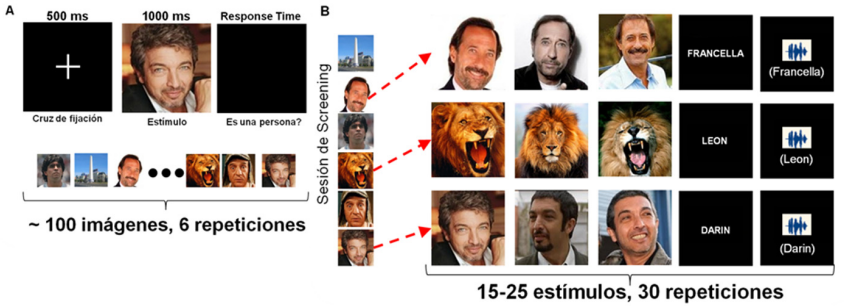


Figura 2.A) Sesión de detección-screening. Se presentan 100-150 imágenes de diferentes conceptos durante un segundo (6 repeticiones cada concepto) luego de una cruz de fijación. Al desaparecer la imagen de la pantalla el paciente debe responder presionando una tecla u otra si fue una persona o no la imagen anterior. **B)** Sesión de percepción-codificación. Luego de detectar cuales conceptos provocaron respuesta neuronal se presentan 5 versiones diferentes del mismo concepto, durante un segundo cada estímulo (30 repeticiones cada uno de los estímulos) luego de una cruz de fijación. Al desaparecer el estímulo de la pantalla, el paciente debe responder presionando una tecla u otra si fue una persona o no.
Fuente: Elaboración propia.

Resultados preliminares

Los resultados obtenidos hasta el momento corresponden a un análisis preliminar de los datos adquiridos para determinar si las neuronas de hipocampo y amígdala responden de manera específica e invariante a un concepto abstracto. Estos resultados son prometedores, ya que demostraron cumplir la hipótesis y los objetivos planteados para el presente proyecto.

De acuerdo con estudios previos (Quian Quiroga, 2012; Quian Quiroga et al., 2005; Quian Quiroga et al., 2009; Quian Quiroga et al., 2008; Quian Quiroga, Nadasdy y Ben-Shaul, 2004; Quian Quiroga et al., 2007), el análisis preliminar de los datos adquiridos hasta el momento ha demostrado que las NI, tanto de hipocampo como de amígdala, responderían de manera selectiva e invariante a conceptos específicos (Fig. 3). Dichos resultados preliminares han sido presentados en el 1er Congreso de Neurociencia Cognitiva (Gori et al., 2015a) y ha sido distinguido con el premio a "Mejor Póster", de entre 132 trabajos evaluados (premio compartido con otros 7 trabajos).

Las principales preguntas que quedan por responder mediante el análisis exhaustivo de los datos son:

a) Si las neuronas que responden a conceptos de manera selectiva (es decir, que responden a un único concepto de entre los 100-150 estímulos diferentes presentados durante la sesión de *screening*) responden de manera invariante a los diferentes estímulos de dicho concepto presentados en la siguiente sesión del paradigma.
b) Si las neuronas que responden de manera invariante a los diferentes estímulos de dicho concepto lo hacen con la misma intensidad a cada uno de ellos.
c) Si las neuronas que responden de manera invariante a los diferentes estímulos de dicho concepto lo hacen con la misma latencia a cada uno de ellos.

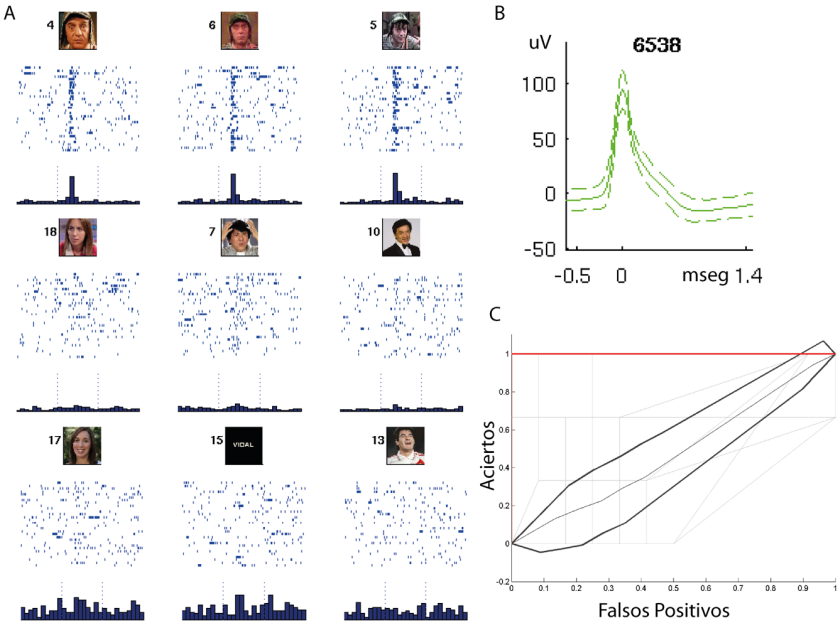


Figura 3. Neurona individual del hipocampo anterior izquierdo se activa exclusivamente ante diferentes imágenes del Chavo del Ocho. **A)** Se muestran las respuestas de la neurona individual a 3 de las 25 imágenes presentadas. Cada una de las 25 imágenes se presentó 30 veces durante 1 segundo en orden pseudoaleatorio. Para cada imagen, se detalla el correspondiente raster plot (cada punto azul corresponde a una espiga y las filas respresentan los 30 trials; el orden de los trials se representa de arriba hacia abajo) y el histograma de respuesta temporal (las líneas punteadas verticales marcan el inicio y fin del estímulo). En las imágenes 4, 5 y 6 (correspondientes al concepto Chavo), se observa un aumento significativo de la tasa de disparo de la neurona individual aproximadamente a los 300 milisegundos de presentada la imagen, mientras que este cambio no se observa ante las imágenes de políticos, deportistas y otros actores presentadas en la misma sesión. No hubo respuestas estadísticamente significativas a las otras 22 imágenes (solo se muestran las respuestas a 6 imágenes de las 22 restantes). **B)** Se representan las 6538 espigas detectadas durante el paradigma, pertenecientes a una neurona individual. La clasificación de dichas espigas se realizó mediante Wave_clus. C) Se muestra la curva ROC asociada a las imágenes 4, 5 y 6 (línea roja), para testear la hipótesis de que la neurona responde de manera invariante a las 3 imágenes presentadas del Chavo (aciertos), pero no a las otras imágenes (falsos positivos). Las líneas grises corresponden al mismo análisis ROC para 99 sets de surrogados de 7 imágenes seleccionadas al azar sobre el total de las imágenes ($p<0.01$). Las líneas grises oscuras representan el promedio de los surrogados. El área bajo la curva roja es 1.00. *Fuente: Elaboración propia.*

Análisis de los Potenciales de Campo Locales (LFP) durante las crisis epilépticas

El registro continuo de NI en pacientes con epilepsia, también nos ofrece la oportunidad de analizar su actividad, además de durante las funciones cognitivas, durante las crisis epilépticas de dichos pacientes. En el ENyS nos encontramos trabajando en esta línea de investigación con el objetivo de comprender de mejor manera cómo se organiza la red epileptógena y así poder, quizás, poseer una herramienta más que aporte información relevante al diagnóstico clínico (Kochen, Gori, Granado y Blenkmann, 2015; Gori, Galardi, Battaglia y Kochen, 2015b).

Con este mismo objetivo de conocer como se desarrolla la red epileptógena, llevamos adelante una línea de investigación sobre el estudio de la epileptogénesis a través del registro de neuronas individuales en un modelo experimental de epilepsia (Gori, Galardi, Battaglia y Kochen, 2015c). Nuestro laboratorio ha desarrollado un modelo de epilepsia animal (utilizando ratas de la cepa Wistar), que se denomina "*kindling*rápido", el cual genera epilepsia temporal a través de sucesivas estimulaciones eléctricas en el hipocampo de animales previamente sanos (Toibaro et al., 2012; Gori et al., 2013). El *kindling* rápido es una variante del modelo de *kindling* convencional, que produce epilepsia de manera más rápida (3 días) que el tradicional (30 días). Esta rapidez nos permite estudiar qué ocurre con la actividad de las NI durante este proceso de epileptogénesis, ya que este registro suele ser poco estable a medida que transcurre el tiempo, y un protocolo de epilepsia temporal extenso imposibilitaría la combinación de ambas herramientas. A su vez, debido a que el *kindling*rápido es un modelo de epilepsia temporal mesial muy similar a la epilepsia temporal mesial humana, se lo considera una herramienta muy importante, ya que podría permitir comparar los datos sobre la actividad de NI durante el proceso epileptógeno y las crisis observados, tanto en animales como en humanos.

Dichos estudios están aún en proceso; sin embargo, el registro de NI durante las crisis epilépticas podría ser un recurso muy interesante para desarrollar eventualmente estrategias de predicción de crisis y, así, colaborar para la mejora de la calidad de vida de los pacientes epilépticos.

Conclusión

A pesar de que los resultados preliminares son prometedores, aún es necesario el análisis en profundidad de la actividad de las diferentes NI registradas y de la actividad de los LFP, además del aumento de la cantidad de muestras, para comprender con mayor claridad cómo las neuronas del cerebro humano procesan conceptos específicos. Esta información permitiría, eventualmente, resolver algunas de las controversias de la neurociencia cognitiva, particularmente, comprender el sustrato neurofisiológico del aprendizaje, la memoria y su importancia para el comportamiento.

BIBLIOGRAFÍA

Blatt, G. J.; Andersen, R. A. y Stoner G. R. (1990). "Visual receptive field organization and cortico-cortical connections of the lateral intraparietal area (area LIP) in the macaque". *The Journal of Comparative Neurology,* 299(4), pp. 421-45.

D'Alessio, L.; Giagante, B.; Papayannis, C.; Oddo, S.; Silva, W.; Solis, P.; Donnoli, V.; Kauffman, M.; Consalvo, D.; Zieher, L. M. y Kochen, S. (2009). "Psychotic disorders in Argentine patients with refractory temporal lobe epilepsy: A case–control study". *Epilepsy & Behavior,* 14(4), pp. 604–609.

De Falco, E.; Ison, M. J.; Fried, I. y Quian Quiroga, R. (2016)."Long-term coding of personal and universal associations underlying the memory web in the human brain". *Nat Commun*, 13408.

Fried, I.; MacDonald, K. A. y Wilson, C. L. (1997). "Single neuron activity in human hippocampus and amygdala during recognition of faces and objects". Neuron, 18, pp. 753-65.

Gori, B.; Granado, M.; Blenkmann, A.; Collavini, S. y Kochen S. (2015). "Analysis of local field potential and single-unit firing patterns during spontaneous seizures in humans". *XXX Congreso Anual de la Sociedad Argentina de Investigación en Neurociencias* (SAN), 27 de septiembre - 1 de octubre, Buenos Aires, Argentina.

Gori, M. B.; Pereyra, M.; Toibaro, L,; Brescacin, C.; Battaglia, G.; Pastorino, J.; Smigliani, A.; Galardi, M. M. y Kochen S. (2013). "Hippocampal high-frequency stimulation inhibits the progression of rapid kindling-induced seizure in rats". *Neuroscience and Medicine*, 4(2), pp. 71-76.

Gori, M. B.; Galardi, M. M.; Battaglia, G. y Kochen, S. (2014). "Single-cell recordings of hippocampus in an experimental epilepsy model". *Epileptic Disorders,* 16,p. 83. VIII Congreso Latinoamericano de Epilepsia, Buenos Aires, Argentina, septiembre.

Gori, B.; Galardi, M.; Battaglia, G. y Kochen S. (2015a)."Effect of rapid kindling on hippocampal single-unit recordings". *Brain Stimulation*, 8(2), pp. 430. *1st International Brain Stimulation Conference, Singapur.*

Gori, M. B.; Galardi, M. M.; Granado, M.; Blenkmann, A.; Collavini, S.; Battaglia , G. y Kochen, S. (2015b). "Hippocampal single-unit firing patterns on an experimental epilepsy model". *9th World Congress International Brain Research Organization* . Río de Janeiro, Brasil.

Gori, B.; Blenkmann, A.; Múnera, C.; Podestá, M.; Collavini, S.; Fernández Lima, M.; Seoane, P.; Seoane, E. y Kochen S. (2015)."Correlatos neuronales de la percepción y la memoria visual. Registros de neuronas individuales del lóbulo temporal en humanos". *1er Congreso de Neurociencia Cognitiva "NeuroCog 2015"*. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (FCEyN), Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, mayo.

Ison, M. J.; Quian Quiroga Ry Fried, I. (2015)."Rapid encoding of new memories by individual neurons in the human brain". *Neuron*, 87(1), pp.220-230.

Kumfor, F.; Irish, M.; Hodges, J. R. y Piguet, O. (2013). "The orbitofrontal cortex is involved in emotional enhancement of memory: evidence from the dementias". *Brain,* 136(10), pp. 2992-3003.

Kochen, S.; Gori, B.; Granado, M.; Blenkmann, A. (2015). "Single-Unit Activities and Local Field Potentials during Spontaneous Seizures in the Human Hippocampus and Insular Cortex". *Society for Neuroscience*(SfN), Chicago, Estados Unidos, octubre.

Mukamel, R. y Fried, I. (2012)."Human intracranial recordings and

cognitive neuroscience". *Annual Review of Clinical Psychology*, 63, pp. 511-37.

Lomlomdjian, C.; Solis, P.; Medel, N. y Kochen, S. (2011). "A study of word finding difficulties in Spanish speakers with temporal lobe epilepsy". *Epilepsy Research*, 97(1-2), pp. 37-44.

Meeren, H. K.; De Gelder, B.; Ahlfors, S. P.; Hämäläinen, M. S. y Hadjikhani, N. (2013) "Different cortical dynamics in face and body perception: an MEG study". *PLoS One,* 8(9): e71408.

Múnera, C. P.; Lomlomdjian, C.; Solís, P.; Medel, N. y Kochen, S. (2012). "Crossed aphasia after right anterior temporal lobectomy. A case report". *Epilepsy & Behavior*, 25(1), pp. 125-8.

Oddo, S.; Solís, P.; Consalvo, D.; Giagante, B.; Silva, W.; D'Alessio, L.; Centurión, E.; Saidón, P. y Kochen S. (2003). "Mesial temporal lobe epilepsy and hippocampal sclerosis: cognitive function assessment in hispanic patients". *Epilepsy &Behavior,* 4(6), pp. 717-22.

Oddo, S.; Solis, P.; Consalvo, D.; Seoane, E.; Giagante, B.; D'Alessio, L. y Kochen, S. (2012). "Postoperative neuropsychological outcome in patients with mesial temporal lobe epilepsy in Argentina". *Epilepsy Research and Treatment*.

Princich, J. P.; Consalvo, D.; Kauffman, M.; Seifer, G. y Blenkmann, A. y Kochen, S. (2012). "Contribution of diffusion tensor magnetic resonance imaging to the diagnosis of focal cortical dysplasias". *Rev Neurol*, 54(8), pp. 453-60.

Quian Quiroga, R. (2012). "Concept cells: the building blocks of declarative memory functions". *Nature Reviews Neuroscience* 13(8), pp. 587–597

Quian Quiroga, R.; Kraskov, A.; Koch, C.; Fried, I. (2009). "Explicit encoding of multimodal percepts by single neurons in the human brain". *Current Biology*, 19, pp. 1308-13.

Quian Quiroga, R.; Kreiman, G.; Koch, C. y Fried, I. (2008) "Sparse but not 'Grandmother-cell' coding in the medial temporal lobe". *Cell Press*, 12(3), pp. 87-91.

Quian Quiroga, R.; Nadasdy, Z.; Ben-Shaul, Y. (2004) "Unsupervised spike detection and sorting with wavelets and superparamagnetic clustering". *Neural Computation*, 16, pp. 1661-87.

Quian Quiroga, R; Reddy, L.; Koch, C. y Fried, I. (2007). "Decoding visual inputs from multiple neurons in the human temporal lobe". *Journal of Neurophysiology*, 98, pp. 1997-2007.

Quian Quiroga, R.; Reddy, L.; Kreiman, G.; Koch, C. y Fried I. (2005)."Invariant visual representation by single neurons in the human brain". Nature, 435, pp. 1102-07.

Reddy, L. y Kanwisher, N. (2006). "Coding of visual objects in the ventral stream". *Current Opinion in Neurobiology*, 16, pp. 1-7.

Rey, H. G.; Ison, H. G.; Pedreira, C,; Valentin, A.; Alarcon, G.; Selway, R.; Richardson, M. P. y Quian Quiroga, R. (2015)."Single-cell recordings in the human medial temporal lobe". *Journal of Anatomy*, 227(4), pp. 394-408.

Sacchetti, B.; Baldi, E.; Lorenzini, C. A. y Bucherelli, C. (2003)."Role of the neocortex in consolidation of fear conditioning memories in rats". *Experimental Brain Research*, 152(3), pp. 323-8.

Schnider, A. (2013). "Orbitofrontal reality filtering". *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 7, pp. 67.

Toibaro, L.; Pereyra, M.; Pastorino, J.; Smigliani, A.; Ocariz, F.; Ortmann G.; Galardi, M. M.; Gori, M. B. y Kochen, S. (2012). "Effect of unilateral low-frequency stimulation of hippocampus on rapid kindling - induced seizure development in rats". *Neuroscience and Medicine*, 3(2), pp. 174-180.