

Propuesta de Tesis

Título

Métodos de Aprendizaje Automático para decodificar información contenida en potenciales de acción neuronales

Autor

Matías Leonel Egea

Tutor

Dr. Ing. Sergio Lew

Antecedentes y estado del arte

El mecanismo por el cual la información es codificada y transmitida en el sistema nervioso de diferentes especies (desde *C. Elegans* hasta el cerebro primate) es el potencial de acción. Entender la manera en que la acerca de estímulos externos y de posibles respuestas que un animal decide realizar en base a su entorno forma parte del estudio del *código neuronal*. Desde hace ya varias décadas, el registro simultáneo de la actividad neuronas de múltiples neuronas permite acercarse a lo que este código neuronal puede estar diciendo. Varias aproximaciones se realizaron para lograr una decodificación aceptable. La utilidad inmediata de contar con técnicas eficientes de decodificación es un aplicación a la neuroprostética, a través de las Interfaces Cerebro Computadora (Brain Machine Interfaces BCI)¹

Actualmente, el avance en el implante de micro-electrodos crónicos para el registro extracelular permitió conectar cerebros de roedores, primates no humanos y humanos a diferentes sistemas robóticos. Tal vez el trabajo más impactante de los últimos 5 años sea el que conecta dos cerebros, se realizó en ratas demostrando que se puede extraer la información táctil (vibrisas) proveniente de la corteza de barriles, decodificarla y re-inyectarla por medio de estimulación eléctrica a otro animal, creando así la primera interfaz cerebro a cerebro (Brain To Brain Interface BTBI)².

Sin embargo, cuando se implantan electrodos profundos en el cerebro, el sistema inmune reacciona de diferentes maneras. La manera clásica es rechazando el cuerpo extraño. La otra es creando alrededor de los electrodos tejido degenerado que contiene a las neuronas originales y que perturba el modo de disparo. Así, la opción de implantar miles de electrodos para acercarse a una estimación precisa de la información informada no parece ser una opción que a largo plazo pueda subsistir en un cerebro. Por lo tanto, es necesario mejorar los métodos de decodificación con el fin de minimizar los electrodos implantados.

La aplicación de métodos estadísticos para el análisis de potenciales de acción brinda buenos resultados para pares neuronales pudiéndose extender a la aplicación en poblaciones neuronales, aunque la matemática actual no posibilite una forma cerrada [3]. Por este motivo es que se utilizan herramientas de Aprendizaje de Máquinas para entender la codificación neuronal.

En el Grupo de Redes Neuronales (GRN) del Instituto de Ingeniería Biomédica se estudia la interacción de dos áreas cerebrales fuertemente involucradas en el aprendizaje y en la aparición de enfermedades psiquiátricas (como la esquizofrenia), el Area Tegmental Ventral (VTA) y la corteza PreFrontal (PFC). Recientemente otro laboratorio logró registrar simultáneamente estas dos áreas en ratas y su participación en procesos de memoria de corto plazo y memoria de trabajo⁵.

En el experimento realizado en el GRN se registró actividad de 4 animales que fueron entrenados para realizar una tarea de discriminación auditiva en un paradigma GO-NOGO, durante 30 sesiones. Así, el set de datos que se utilizará en esta tesis corresponde al registro

de los spikes neuronales de VTA correspondientes a cuatro ratas macho adulto Long Evans. Las mismas fueron sometidas a dos estímulos auditivos de frecuencias diferentes 1 KHz y 8 KHz, registrando la actividad neuronal de 153 neuronas de VTA y 95 de PFC del animal en el segundo posterior a la presentación del estímulo.

Esta actividad neuronal remanente es lo que habitualmente se considera memoria de corto plazo o memoria de trabajo según el tipo de paradigma conductual utilizado⁵.

Las 153 neuronas de VTA fueron extraídas del registro continuo por medio de un proceso de *clustering* conocido como *spike sorting*.⁶

Luego de someter al animal al estímulo, si el tono se trataba de la frecuencia asociada a GO, debía sacar la lengua, si lo hacía correctamente recibiría una gota de agua. Si, por el contrario, el tono se trataba de la frecuencia asociada a NOGO el animal debía esconder la lengua.

Con el objetivo de evitar sesgo con respecto al tono, para dos de los animales la frecuencia GO es 1KHz y la NOGO es 8KHz. En contraste para los otros dos la frecuencia GO es 8KHz y la NOGO es 1KHz.

Los trials (repeticiones de la presentación del tono y ejecución de la respuesta) de cada sesión se dividieron de acuerdo a la respuesta que el animal tuvo que realizar y a si esta respuesta fue o no correcta:

GOc: trial GO correcto, el animal tuvo que sacar la lengua una vez (lick) y recibió agua

GOi: trial GO incorrecto, el animal tuvo que sacar la lengua una vez (lick) y no lo hizo.

NOGOc: trial NOGO correcto, el animal tuvo que esconder la lengua durante 1 segundo (no-lick) y así lo hizo.

NOGOi: trial NOGO incorrecto, el animal tuvo que esconder la lengua durante 1 segundo (no-lick) y sin embargo la sacó.

Como cada tipo de trial tiene unívocamente asociado un estímulo auditivo determinado, la relación estímulo-respuesta es unívoca. Por este motivo hablar de trial GOc en el procesamiento de datos es equivalente a hablar de un estímulo auditivo determinado, presentado durante ese trial.

Se adjuntan mas detalles sobre el experimento del cual se obtuvieron los datos en el Apéndice.

Objetivo

Se pretende estudiar cuánta información es posible capturar en la contenida en los trenes de *spikes* provenientes de las neuronas de VTA. De esta manera se podrá determinar si existe información del estímulo auditivo almacenado en esta área del cerebro, antes, durante y después de la presentación del estímulo.

En el caso de tener éxito, esta información podría permitir predecir el comportamiento del animal conociendo solamente su actividad neuronal.

A su vez se pretende concluir cuáles de los métodos estadísticos empleados permiten extraer mayor información, trabajando con *spikes* neuronales.

Como objetivo secundario, y con el fin de minimizar el procedimiento invasivo, se intentará descubrir cual es el menor número de neuronas que nos permiten clasificar los *spikes*.

Los principales aportes científicos al área de estudio serán:

- Entender cuánta información por neurona puede ser extraída de un área subcortical dopaminérgica (VTA).
- Medir la performance de los algoritmos de aprendizaje automático, y definir cual es más adecuado teniendo en cuenta que en un futuro muy cercano la decodificación debe ser realizada de manera *on-line* en electrónica portátil, si es posible, implantable.

Descripción del Proyecto

Se utilizarán diferentes algoritmos estadísticos de aprendizaje automático⁷ para intentar clasificar los datos obtenidos en los ensayos. Si se demuestra que con los datos recopilados de la actividad neuronal, se puede predecir la respuesta del animal, entonces quedaría demostrado que existe información relevante al estímulo auditivo almacenada en las neuronas VTA del cerebro de la rata.

Algunos de los algoritmos que se pretende estudiar son: LDA⁸, Perceptron multicapa⁹, Bayes Naive¹⁰, Decision Tree¹¹, SVM¹², Random Forest⁹, entre otros posibles candidatos.

Se confía en el éxito del proyecto ya que se cuenta con un set de datos con 153 neuronas del área tegmental ventral registradas. Esta cantidad de información debería ser suficiente para que un buen algoritmo estadístico pueda tener la oportunidad de descifrar el código neuronal asociado a la respuesta conductual del animal.

Para lograr el objetivo se debe realizar un trabajo exhaustivo de entendimiento, preparación y minería de los datos. Será un trabajo iterativo e investigativo donde se intentarán respetar las etapas de la metodología elegida.

Metodología

Se utilizará la metodología CRISP¹⁴, la cual cuenta con las siguientes etapas:

- ☐ Compresión del negocio
- ☐ Compresión de los datos
- ☐ Preparación de los datos
- ☐ Modelado
- ☐ Evaluación
- ☐ Desarrollo

El detalle de las mismas se encuentra en la referencia [10].

Cronograma

	ene-14	feb-14	mar-14	abr-14	may-14	jun-14	jul-14	ago-14	sep-14	oct-14	nov-14	dic-14	ene-15	feb-15	mar-15
Análisis de la Bibliografía	x	x	x	x											
Compresión del negocio		x	x	x											
Compresión de los datos			x	x	x	x	x								
Preparación de los datos				x	x	x	x	x	x						
Modelado					x	x	x	x	x	x	x				
Evaluación								x	x	x	x	x	x		
Desarrollo - Informe Final												x	x	x	x

Dado que todas las materias de la carrera se encuentran aprobadas, se destinarán 15 horas hombre semanales, acumulando 60 horas mensuales y totalizando un estimado de 1300 horas para la finalización de la tesis.

Plan de Cursado

Se encuentran aprobadas todas las materias obligatorias, todas las propias de la orientación de Sistemas de Producción y las optativas cumpliendo con todos los créditos necesarios para recibirse una vez finalizada la tesis. Se cursó la materia Redes Neuronales (66.63) como oyente, con el objetivo de aprender métodos de clasificación a utilizarse en esta tesis.

Curriculum Autor y Tutor

Se adjunta a este documento el Currículum del autor y del tutor.

Apéndice Antecedentes

Procedimientos experimentales

Todos los protocolos animales utilizados en este estudio fueron aprobados por el Comité de Ética y Cuidado Animal del Instituto de Biología y Medicina Experimental - Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (IBYME - CONICET) , y fueron realizados de acuerdo con la Guía para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio del Instituto Nacional de Salud (NIH)

Animales

Todas las ratas utilizadas en este experimento fueron ratas macho adultas Long Evans , proporcionadas por el IBYME -CONICET y mantenidas en ciclos de 12 h de oscuridad / luz. Los animales fueron alojados en jaulas individuales con agua y comida ad libitum. Su peso se mantuvo entre 270g y 330g.

Manipulación Pre-quirúrgica

La manipulación Pre-quirúrgica comenzó dos semanas antes de la cirugía para que los animales consiguieran habituarse al operador. Los animales fueron levantados por el operador, primero por un corto tiempo (30 s), aumentando gradualmente hasta 10 min. Fueron puestos en libertad sólo cuando estaban calmos y quietos , teniendo especial cuidado de no liberarlos mientras intentaran escapar de la contención.

Dispositivos de fijación a la cabeza

Los dispositivos de fijación eran piezas de aluminio (2 gramos) en forma de cruz fabricados a partir de una chapa de aluminio de 2 mm de espesor. Los cuatro extremos del dispositivo fueron atornillados a dos adaptadores de plástico, que a su vez estaban colocados a los titulares de la barra del oído de un aparato estereotáxico Kopf .

Cirugía

Los animales fueron anestesiados usando ketamina/xilazina (75mg/kg, 10 mg/kg, respectivamente). El estado adecuado de la anestesia fue probado mediante la observación de la ausencia del reflejo de la pata. A lo largo de la cirugía , los ojos se cubrieron de ungüento para evitar la desecación . La temperatura corporal se midió mediante una sonda rectal y se mantuvo constante a 37 °C, utilizando una almohadilla controlada.

La piel de la cabeza fue afeitada y el cráneo limpiado y desinfectado (H₂O₂ , 3%) . Una vez que el cráneo estaba expuesto , se perforaron dos agujeros de 2 mm de diámetro sobre las

áreas PFC y VTA (PFC coordenadas : AP = + 2,7 mm , L = 2 mm , DV = 2 mm, VTA coordenadas : AP = -4,8 mm, L = 1 mm , DV = 8 mm; Bregma como cero) . Se colocó alrededor de cada agujero una cámara de grabación plástica cilíndrica de 3 mm de diámetro por 4 mm de profundidad. Se colocaron dos tornillos de acero inoxidable en cada uno de los huesos parietales (4 tornillos en total) , después de ser desinfectados en etanol al 70%. Finalmente, el dispositivo de fijación fue mantenido en su lugar , y fijado a los tornillos y las cámaras de grabación con acrílico dental. Las cámaras de grabación se llenaron con solución antibiótica (neomicina 3,5 mg/ml, polimixina B 5000 UI, gramicidina USP 0.025 mg; OFTAL 3, Holliday - Scott, AR), y sellado con un tapón de algodón.

Inmediatamente después de la cirugía las ratas fueron inyectadas subcutáneamente con 1 mg/kg del analgésico meloxicam (Mobic, Boehringer Ingelheim, AR). Durante el post-operatorio, las ratas fueron tratadas con antibióticos (enrofloxacin en el agua potable a 0,05 mg/ml; Floxacin, Afford, AR) y analgésicos (3 gotas de Tramadol 5% por cada 100 ml de agua potable; Calmador, Finadiet ,AR) durante al menos 5 días.

Electrodos y adquisición de los datos

El registro extracelular se obtuvo utilizando tetrodos hechos en el siguiente procedimiento[15]. En pocas palabras, consisten en cuatro alambres enrollados de nychrome de 12 μm de diámetro (Kantal, Palm Coast). A continuación, cada tetrodo se introdujo dentro de una cánula de acero inoxidable de 230 μm de diámetro externo. Cada alambre se aisló con una funda de poliamida , y su impedancia (a 1 KHz) se ajustó entre 0,5-0,8 M Ω por electrodeposición de oro en la punta.

Los haces de electrodos fueron contruidos juntando tres cánulas con cianoacrilato en una configuración de triángulo con una separación entre ellas de 250 μm . Un cable conectado a la cánula de cada conjunto de tetrodos fue utilizado como tierra. Las señales fueron pre-amplificadas x10 y amplificadas x1000. Los datos fueron adquiridos con un dispositivo de National Instruments a una frecuencia de muestreo de 30 KHz .

Referencias

- [1] Lebedev, M. A., & Nicolelis, M. A. (2006). Brain-machine interfaces: past, present and future. *TRENDS in Neurosciences*, 29(9), 536-546.
- [2] Brown, E. N., Kass, R. E., & Mitra, P. P. (2004). Multiple neural spike train data analysis: state-of-the-art and future challenges. *Nature neuroscience*, 7(5), 456-461.
- [3] Pais-Vieira, M., Lebedev, M., Kunicki, C., Wang, J., & Nicolelis, M. A. (2013). A brain-to-brain interface for real-time sharing of sensorimotor information. *Scientific reports*, 3.
- [4] Fujisawa, S., & Buzsáki, G. (2011). A 4 Hz oscillation adaptively synchronizes prefrontal, VTA, and hippocampal activities. *Neuron*, 72(1), 153-165.
- [5] Funahashi S, Chafee MV, Goldman-Rakic PS. Prefrontal neuronal activity in rhesus monkeys performing a delayed anti-saccade task. *Nature*. 1993 Oct 21;365(6448):753-6.
- [6] R. Quiñero, Z. Nadasdy and Y. Ben-Shaul. Unsupervised spike sorting with wavelets and superparamagnetic clustering. *Neural Computation*, 16: 1661-1687; 2004.
- [7] Duda RO, Hart PE. *Pattern Classification and Scene Analysis*, Wiley-Interscience, New York, 1973.
- [8] Fisher, Ronald A. "The use of multiple measurements in taxonomic problems." *Annals of eugenics* 7.2 (1936): 179-188.
- [9] Pal, Sankar K., and Sushmita Mitra. "Multilayer perceptron, fuzzy sets, and classification." *IEEE Transactions on Neural Networks* 3.5 (1992): 683-697.
- [10] Kononenko, Igor. "Successive naive Bayesian classifier." *Informatica* 17 (1993): 167-74.
- [11] Quinlan, J. Ross. "Induction of decision trees." *Machine learning* 1.1 (1986): 81-106.
- [12] Cortes, Corinna, and Vladimir Vapnik. "Support-vector networks." *Machine learning* 20.3 (1995): 273-297.
- [13] Breiman, Leo. "Random forests." *Machine learning* 45.1 (2001): 5-32.
- [14] Chapman, Pete, Julian Clinton, Randy Kerber, Thomas Khabaza, Thomas Reinartz, Colin Shearer, and Rudiger Wirth. "CRISP-DM 1.0 Step-by-step data mining guide." (2000).
- [15] Gray, C. M., Maldonado, P. E., Wilson, M. & McNaughton, B. Tetrodes markedly improve the reliability and yield of multiple single-unit isolation from multi-unit recordings in cat striate cortex. *J. Neurosci. Methods* 63, 43–54 (1995).