



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE INGENIERÍA

**Clasificación de subpoblaciones
neuronales en registros
electrofisiológicos optogenéticos
utilizando aprendizaje no supervisado**

TESIS

Que para obtener el título de

Ingeniero Mecatrónico

P R E S E N T A

Yéshua Eliezer González Jiménez

DIRECTOR DE TESIS

Ing. Aidán Alejandro Ortega García



Ciudad Universitaria, Cd. Mx., 2025

Agradecimientos

A mi familia, les agradezco profundamente su amor incondicional y su apoyo constante. Su fe en mí ha sido el motor que me permitió completar este camino. Sus palabras de aliento, presencia y cariño, gracias por ser mi pilar en los momentos difíciles.

A mi tutor de tesis, el Ing. Aidán Alejandro Ortega García, cuya experiencia, paciencia y apoyo constante fueron fundamentales para la realización de este trabajo. Su guía no solo me proporcionó claridad académica, sino también motivación en momentos de duda. Su confianza en mí me impulsó a seguir adelante y superar los desafíos.

A la Universidad Nacional Autónoma de México, gracias por brindarme la oportunidad de crecer académica y profesionalmente.

Agradecimientos académicos

Al Dr. José Bargas Díaz y a la Dra. María Elvira Galarraga Palacio por brindarme la oportunidad de integrarme a sus laboratorios para la realización de mi servicio social y el desarrollo de mi trabajo de tesis.

A los técnicos académicos Juan Antonio Laville Conde y Dagoberto Tapia Ramírez, de los laboratorios BL-103 y BL-101 respectivamente, por su invaluable apoyo en la implementación de los proyectos y su constante disposición para colaborar en las actividades del laboratorio.

Al Dr. Román Rossi Pool, así como a sus colaboradores, el Dr. Sergio Parra Sánchez y el Lic. Sebastián Pujalte, por su orientación y acompañamiento durante el desarrollo de este trabajo.

Al Dr. Fatuel Tecuapetla Aguilar, por su valioso apoyo y orientación durante la implementación del protocolo de estimulación optogenético.

A la Dra. Montserrat Padilla Orozco, a la cDra. Yohana Parrado Quintana y a la cDra. Alejandra Fuentes Serrano por su apoyo en el manejo, mantenimiento y generación de los modelos animales transgénicos empleados en este proyecto.

Finalmente, agradezco a los doctores Claudia Rivera Cerecedo, Héctor Alfonso Malagón Rivero y Ariadna Aparicio Juárez, así como al equipo responsable del cuidado y manejo de los animales en el bioterio del Instituto de Fisiología Celular.

Índice

Introducción.....	5
Marco Teórico.....	7
Las células del sistema nervioso.....	7
Microcircuitos neuronales.....	14
Microcircuito estriatal.....	19
Optogenética.....	22
Electrofisiología.....	24
Procesamiento de señales neuronales.....	27
Representación y análisis de formas de onda neuronales.....	31
Algoritmos de aprendizaje no supervisado.....	36
Algoritmos de reducción dimensional.....	39
Algoritmos de agrupamiento.....	43
Patrón de diseño Modelo-Vista-Controlador.....	45
Planteamiento del Problema.....	48
Justificación.....	49
Objetivos.....	50
Objetivo general.....	50
Objetivos específicos.....	50
Metodología.....	51
Estrategia experimental.....	51
Extracción de potenciales de acción.....	55
Análisis.....	59
Resultados.....	61
Detección y limpieza de potenciales de acción extracelular.....	61
Reducción dimensional.....	64
Generación de Plantillas.....	70
Validación del funcionamiento.....	72
Conclusiones.....	74
Perspectivas.....	76
Referencias.....	77
Anexos.....	86
Anexo A. Estructura y uso del programa para visualización y limpieza de grupos.....	86

Introducción

El sistema nervioso central está formado por una vasta red de neuronas interconectadas que procesan y transmiten información mediante impulsos eléctricos y señales químicas. Dentro de esta red, las neuronas no actúan de forma aislada, sino que se organizan en microcircuitos: unidades funcionales locales que integran y modulan la actividad neuronal. Comprender el funcionamiento de estos microcircuitos es esencial para desentrañar los mecanismos que sustentan la percepción, el movimiento, la memoria y otras funciones cognitivas.

El núcleo estriado es una estructura clave de los ganglios basales, implicada tanto en la selección y ejecución de acciones motoras como en el aprendizaje por refuerzo. Recibe información masiva de la corteza y el tálamo, y la integra con modulaciones dopaminérgicas para guiar la conducta. En él existe uno de los microcircuitos de mayor importancia en la neurociencia. Su población celular está dominada por las neuronas espinosas medianas (MSNs), que constituyen alrededor del 95% de sus células. El restante 5% está compuesto por interneuronas especializadas que ejercen un control modulador sobre las MSNs y contribuyen a la dinámica del microcircuito.

En la última década, el desarrollo de tecnologías como la optogenética y los arreglos de multielectrodos (MEAs) ha revolucionado el estudio de microcircuitos neuronales. Los MEAs permiten registrar simultáneamente la actividad de decenas o cientos de neuronas, ofreciendo una visión panorámica de la dinámica de red. Sin embargo, presentan una limitación importante: no permiten identificar visualmente el tipo celular registrado, como sí ocurre con técnicas de imagen de calcio o morfología en *patch-clamp*. La optogenética ofrece una solución a este problema, ya que posibilita la activación selectiva de subpoblaciones neuronales definidas genéticamente, permitiendo vincular la señal eléctrica con la identidad celular.

Trabajos previos del laboratorio BL-103 del Instituto de Fisiología Celular han demostrado la importancia de entender la dinámica de ciertas poblaciones neuronales dentro de redes neuronales, como lo es el trabajo de Serrano-Reyes y colaboradores en 2020. Asimismo, se ha resaltado que la manipulación de ciertas poblaciones puede reconfigurar de forma rápida y reversible la composición de los ensambles neuronales, mostrado por Duhne y colaboradores en el mismo año.(Duhne et al., 2020)

El presente trabajo busca sentar las bases para atender esta necesidad mediante el desarrollo de un software que combine: i) registros poblacionales extracelulares pareados con optogenética y, ii) algoritmos de aprendizaje no supervisado para la reducción de dimensionalidad y el agrupamiento de formas de onda. Con ello, se busca establecer una conexión directa entre el trazo de la señal eléctrica registrada y la identidad celular, proporcionando un recurso útil en el análisis de ensambles neuronales y redes funcionales, contribuyendo así a un entendimiento más completo de los microcircuitos neuronales.

Marco Teórico

Las células del sistema nervioso

Las neuronas son células especializadas que forman la unidad básica del cerebro. Su principal característica es la capacidad de disparar potenciales de acción. El cerebro humano tiene un número de neuronas en el orden de 10^{11} , clasificadas en al menos mil tipos distintos. Cada neurona se organiza en cuatro regiones principales: soma o cuerpo celular, dendritas, axón y terminales presinápticas, cada parte cumple una función específica en la comunicación y el procesamiento de señales (Kandel, 2013).

Las neuronas presentan tres propiedades que las distinguen de otros tipos celulares:

- **Excitabilidad:** pueden generar respuestas eléctricas según la información que reciban y propagarlas a lo largo de su proceso (axón y dendritas). Esta respuesta eléctrica se debe a un conjunto de proteínas en su membrana plasmática que forman “canales iónicos”, los cuales permiten el paso selectivo de iones.
- **Secreción de neurotransmisores:** un neurotransmisor permite la comunicación química entre neuronas. Su liberación ocurre en áreas llamadas sinapsis, el cual es liberado en el espacio extracelular. La liberación está focalizada solo en áreas de comunicación.
- **Permanencia:** la mayoría de las neuronas son células postmitóticas, por lo que no se pueden reemplazar tras una lesión. Sin embargo, a lo largo de su vida renuevan sus componentes, para ser más exacto involucran la orientación precisa de ARN mensajero específico y proteínas a un dominio citoplasmático particular en un área de la membrana (Hammond, 2015).

El potencial de acción, una señal eléctrica de las neuronas, se origina en el segmento inicial del axón y avanza hasta alcanzar el área de sinapsis, donde una neurona establece comunicación con otra. Las ramas de un único axón pueden formar sinapsis con hasta mil neuronas diferentes, cuyas señales son recibidas en sitios como las dendritas y el cuerpo celular (Kandel, 2013).

Este potencial de acción se basa en una redistribución, o balanceo, de cargas eléctricas a través de la membrana neuronal. Durante la fase de despolarización el interior de la célula se vuelve menos negativo, ocasionado por la entrada de iones de sodio. Por otro lado, en la fase de repolarización ocurre un proceso inverso caracterizado por la salida de iones de potasio.

Este mecanismo depende de tres tipos de moléculas proteicas que regulan el movimiento de iones y mantienen el gradiente necesario para el funcionamiento neuronal:

- Bombas de sodio-potasio que expulsa tres iones de sodio e introducen dos de potasio por cada ciclo.
- Canales de potasio, facilita la salida de iones de potasio
- Canales de sodio, permiten que los iones de sodio con carga positiva entren a la célula.

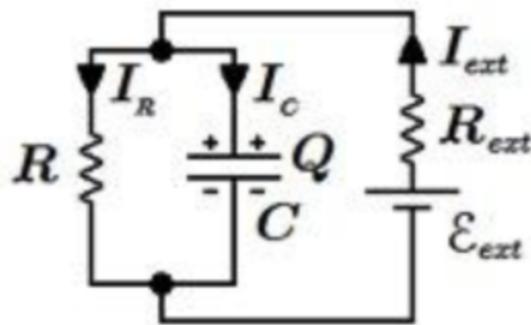
La acción coordinada de estas moléculas establecen un gradiente de concentración base, que mantiene un potencial de membrana alrededor de -80[mV] , lo que asegura así las condiciones para la transmisión de impulsos eléctricos (Bear *et al.*, 2016).

Una forma de explicar este fenómeno es comparando a la membrana con un capacitor. En un circuito, este componente posee dos regiones conductoras separadas por un dieléctrico (aislante) que al acumular carga genera un campo eléctrico. De forma análoga, en la neurona las soluciones intra y extracelulares actúan como regiones conductoras, mientras que la membrana celular funciona como el dieléctrico.

La interacción de la membrana puede ser descrita con un circuito RC como se muestra en la Figura 1, donde la resistencia es homóloga a los canales iónicos que facilitan el flujo de cargas a través de la membrana. Cuantos más canales se abren, menor es la resistencia. Al mismo tiempo, los mecanismos que mantienen el gradiente de concentración, responsables de la diferencia de potencial, actúan como una batería. Esta relación se expresa con la ley de Ohm: $I = V/R$, donde I representa la corriente (flujo de iones), V el voltaje (gradiente iónico) y R la resistencia (canales iónicos) (Dabrowski *et al.*, 2013).

Figura 1

Modelo de la neurona como un capacitor



Nota. Adaptado de Figure 1 de Dabrowski et al, 2013, Basic neuron model electrical equivalent circuit: an undergraduate laboratory exercise.

Gracias al flujo selectivo de iones, la neurona puede establecer una diferencia de potencial entre el interior y el exterior de su membrana y crear corrientes dependiendo de los gradientes de concentración. El potencial de membrana es el voltaje en la membrana celular. El voltaje de reposo de una neurona típica es de -65 [mV], el cual establece las condiciones necesarias para el funcionamiento del sistema nervioso (Bear *et al.*, 2016).

Aunque un estímulo alcance la membrana neuronal éste no desencadenará un potencial acción en la neurona si el estímulo no supera el umbral de excitación. Cuando dicho umbral es

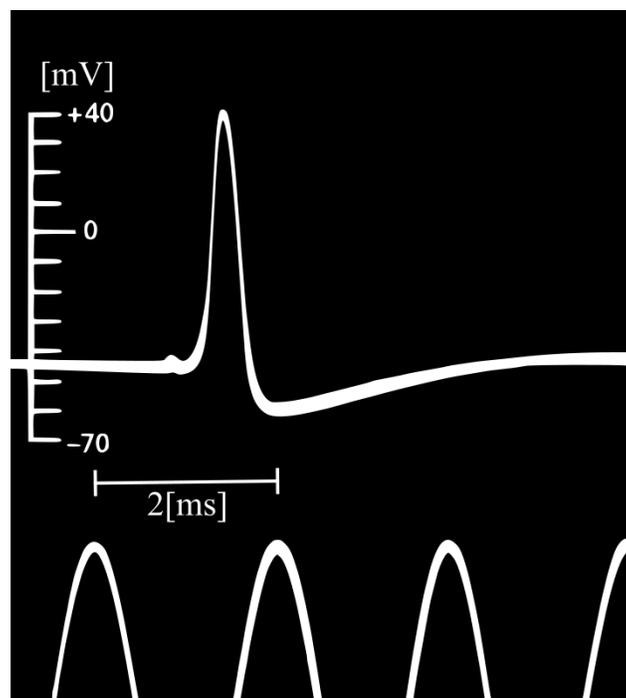
superado, se activan señales de la misma amplitud y duración, sin importar las variaciones en la intensidad o duración del estímulo.

A diferencia de los potenciales sinápticos y receptores, que se propagan pasivamente y disminuyen en amplitud, el potencial de acción mantiene su intensidad en un trayecto de hasta 2 [m] gracias a que el impulso se regenera a intervalos regulares en los nodos de Ranvier. Esta señal es capaz de desplazarse a una velocidad de hasta 100 [m/s] (Kandel, 2013).

A través de los potenciales de acción (ejemplo en Figura 2), el cerebro analiza, codifica y transmite la información que recibe por estímulos externos diversos como la luz, el contacto mecánico, olores, entre otros. La codificación de esta información no depende de la forma de onda, sino del camino que la señal recorre en el cerebro.

Figura 2

Registro de un potencial de acción intracelular



Nota. Adaptado de Figure 2-2 This historic tracing is the first published intracellular recording of an action potential de Hodgkin and Huxley, 1939, Principles of neural science.

El cerebro analiza los patrones y las rutas de cada señal eléctrica para construir las percepciones sensoriales como la vista, el tacto, el olfato y el sonido (Kandel, 2013).

Durante un potencial de acción, el interior de la neurona adquiere una carga positiva respecto con el exterior y tanto la frecuencia como el patrón de disparo codifican y transfieren información a través de las redes neuronales. Estos disparos comparten características similares entre distintas especies, esto se debe a las propiedades comunes de los axones.

Bear y colaboradores afirman que “la despolarización que provoca los potenciales de acción se produce de diferentes maneras en las distintas neuronas” (Bear *et al.*, 2016). En algunas, son causadas por la apertura de canales de sodio sensibles al estiramiento de la membrana, mientras que en las interneuronas depende de canales de sodio sensibles al neurotransmisor liberado por otras neuronas (Bear *et al.*, 2016).

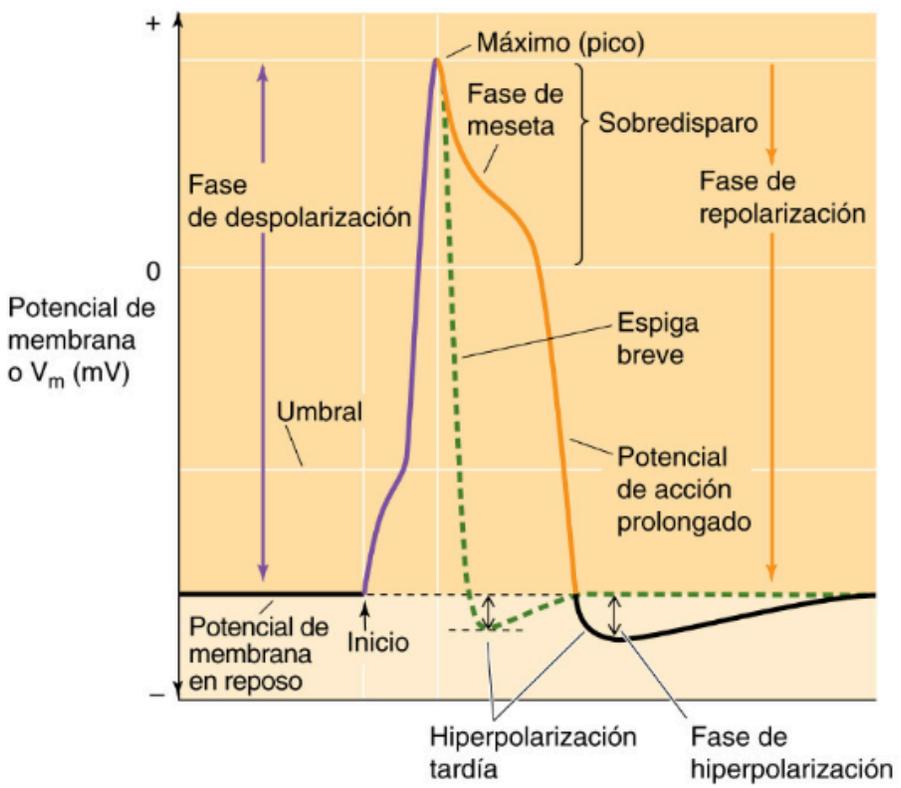
En un registro típico de potencial de acción intracelular, se distinguen varias fases, confróntese Figura 3:

- Fase inicial de despolarización, donde el voltaje se vuelve más positivo por un incremento rápido y homogéneo del potencial de membrana desde el potencial de reposo hasta un valor positivo máximo entre de 10 a 40[mV].
- Sobredisparo (*overshoot*) es la porción del potencial que se sitúa por encima de los 0[mV].
- Fase de repolarización, más lenta y varía considerablemente en los diferentes tejidos y células excitables.
- Hiperpolarización (*undershoot*), aquí el voltaje cae hasta el potencial de reposo o más abajo antes de estabilizarse.

El umbral, la amplitud y la duración de estas fases dependen de factores como las propiedades de apertura y cierre de los canales iónicos; las concentraciones intra y extracelulares de los iones que atraviesan la membrana; así como propiedades (capacitancia y resistencia) y geometría de la célula.

Figura 3

Partes de un potencial de acción intracelular



Nota. Adaptado de Figura 7-1 Potencial de acción de Boron et. al, 2017, Fisiología médica.

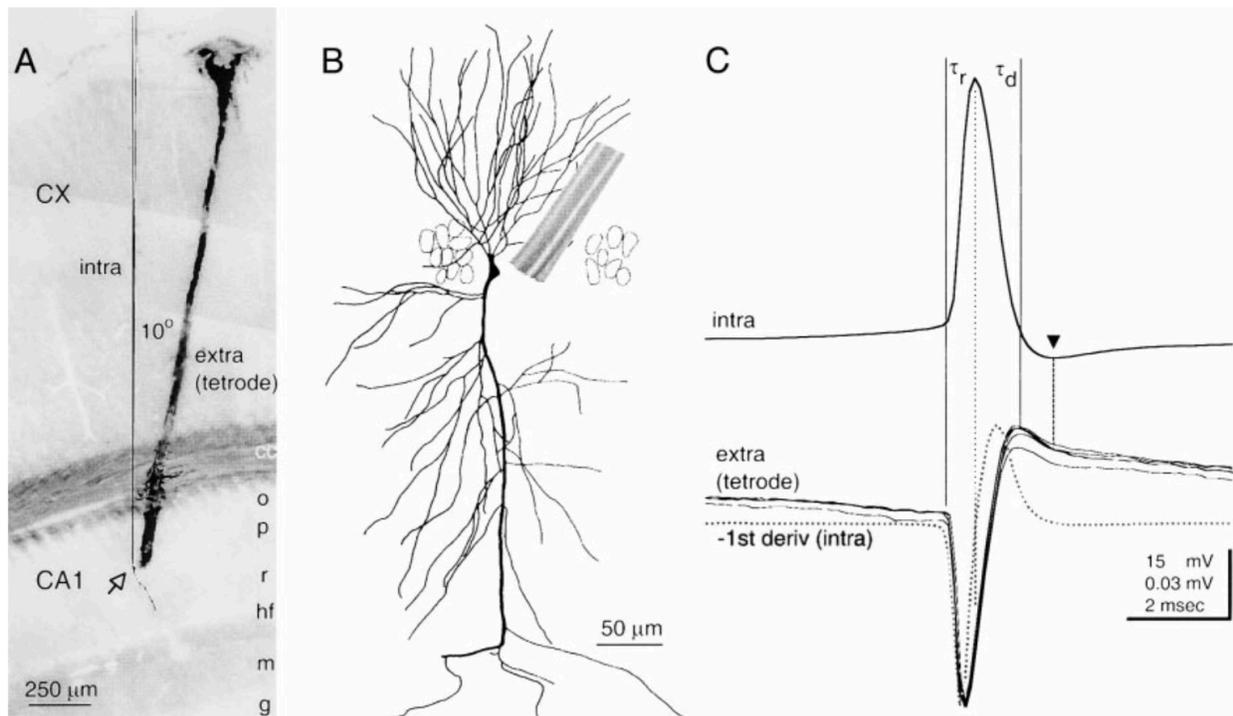
Como explican Boron y Boulpaep, “la forma del potencial de acción en una célula concreta refleja funciones especializadas de dicha célula”. Si los potenciales de acción son breves se asocia con señalizaciones de nervios, mientras que los potenciales de acción prolongados y repetitivos corresponden a células cardíacas (Boron & Boulpaep, 2017).

Como se mencionó con anterioridad, el potencial de acción ocasiona una redistribución de cargas eléctricas, ocasionando un efecto inverso en el medio celular conocido como potencial de acción extracelular. En la Figura 4 se presenta un registro simultáneo intra y extracelular: en los incisos A y B se ilustra la ubicación de los electrodos y en el inciso C se destacan los instantes del inicio del incremento de voltaje (τ_r) y la caída (τ_d) en el registro intracelular. Estos momentos corresponden a eventos clave en el registro extracelular: τ_r se asocia con la caída del voltaje, mientras que τ_d representa el punto de máximo valor en toda la forma de onda.

Además se puede ver como la espiga extracelular es muy parecida en forma a la primer derivada (marcada con la línea punteada) del registro intracelular (Henze et al., 2000).

Figura 4

Comparación de un potencial de acción intra y extracelular



Nota. Adaptado de FIG. 1. Simultaneous intracellular and extracellular recording from a CA1 pyramidal cell de Henze et al., 2000, Intracellular Features Predicted by Extracellular Recordings in the Hippocampus In Vivo.

El registro de los potenciales de acción extracelular representa una herramienta clave para estudiar la actividad del cerebro intacto, tejido o cultivos celulares. Tecnologías como las matrices multielectrodo (*multi-electrode array*, MEA por su siglas en inglés) pueden registrar de manera confiable la actividad de cientos de neuronas en un solo experimento. Estos registros identifican cuándo las neuronas generan potenciales de acción y las características de la forma de onda de cada potencial de acción pueden emplearse para identificar distintos tipos neuronales.

Si bien los registros extracelulares se usan principalmente para detectar disparos, también pueden utilizarse, en teoría, para inferir propiedades intracelulares de los potenciales de acción. No obstante, la forma de onda extracelular puede verse afectada por la posición del electrodo respecto al cuerpo neuronal donde se toma el registro, la variabilidad de la forma de onda queda evidenciada en la Figura 5 (Gold *et al.*, 2006).

De los resultados de las simulaciones y registros extracelulares del artículo “On the Origin of the Extracellular Action Potential Waveform: A Modeling Study” sabemos que las dendritas proximales y el soma presentan aproximadamente el mismo comportamiento. Además que la amplitud de la forma de onda es máxima cuanto más cerca del soma se encuentra el electrodo.

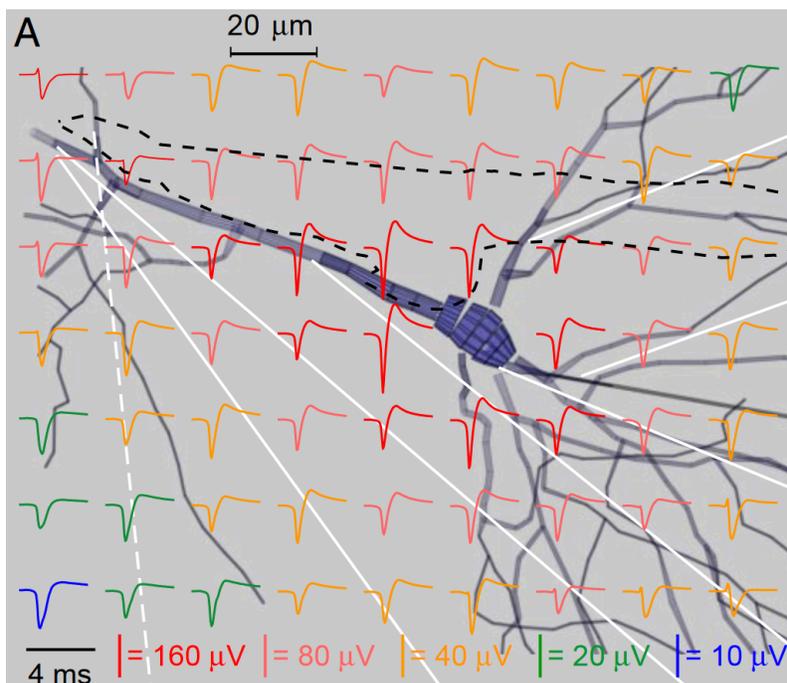
Microcircuitos neuronales

Los microcircuitos se definen como conexiones entre las neuronas principales e interneuronas dentro de una región cerebral. Estos circuitos participan en funciones específicas, como el control de la respiración o el movimiento. La interacción de las colaterales axónicas de las neuronas principales y de los axones de las interneuronas con las dendritas dentro de dicha región da lugar a la formación de circuitos procesadores específicos. Esta interrelación recuerda

al funcionamiento de los chips y microcircuitos físicos de una computadora (Shepherd & Grillner, 2018).

Figura 5

Cambio en la forma dependiendo de la posición del electrodo.



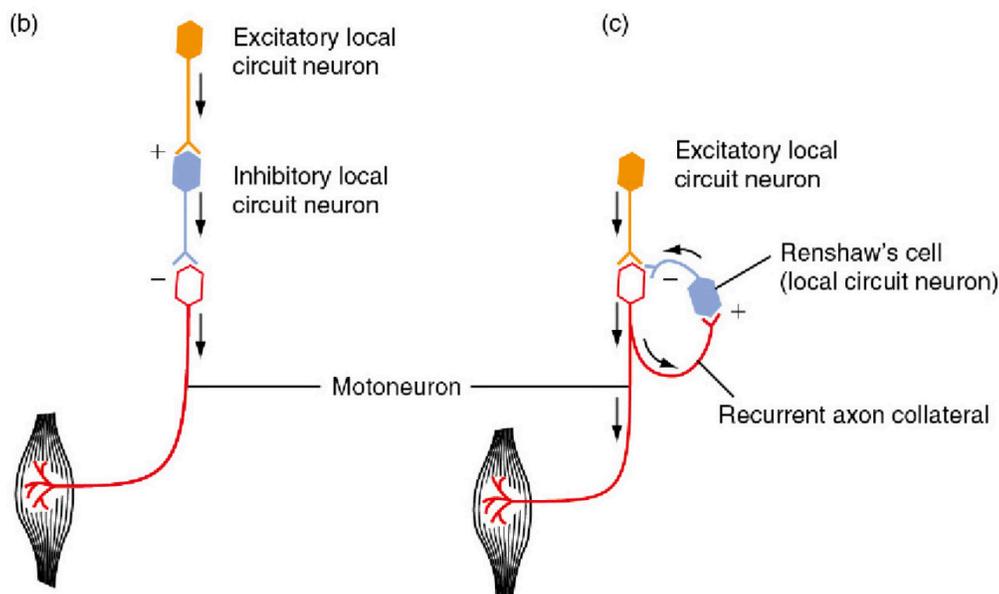
Nota. A) potenciales de acción extracelulares en la sección transversal que contiene el soma y la punta del electrodo (línea punteada). Adaptado de FIG. 1. Recording and Simulation de Gold Carl *et al.*, 2006, On the Origin of the Extracellular Action Potential Waveform: A Modeling Study.

Cutsuridis y colaboradores, por otro lado, describen a los microcircuitos como “módulos funcionales que actúan como unidades elementales de procesamiento, tendiendo un puente entre la actividad unicelular, la actividad en red y la función cerebral global” (Cutsuridis *et al.*, 2018). Esta definición resalta también su arquitectura compleja de los microcircuitos, conformada por diversos tipos neuronales organizados en bucles de retroalimentación y avance como se muestran en la Figura 6. Su identificación resulta crucial, ya que constituye la base para comprender comportamientos más complejos. Conocer el papel específico que desempeña cada tipo neuronal dentro del microcircuito permite el desarrollo de modelos más precisos del funcionamiento

cerebral.¹ La información sensorial —como la vista, la propiocepción, el oído, el tacto y el olfato— sigue trayectos bien definidos hacia el cerebro, donde es procesada. Estos caminos permiten rastrear el flujo de señales.²

Figura 6

Ejemplos de microcircuitos



Nota. Se muestra un ejemplo de un microcircuito de inhibición anterógrada inciso (b) que consiste en una inhibición anticipada, donde una neurona inhibe a otra mediante la activación de una interneurona inhibidora, y una inhibición recurrente (c) que es un mecanismo de inhibición por retroalimentación, en otras palabras, una neurona inhibe su propia actividad mediante una conexión recurrente de su propio axón el cual establece sinapsis en una interneurona inhibidora, permitiendo el cese rápido de la actividad de la motoneurona. Adaptado de Figure 1.13 Withdrawal medullary reflex pathway de Hammond C., 2015, Cellular and molecular neurophysiology.

El estudio de los microcircuitos permite identificar cómo un estímulo puede tener múltiples destinos, como el procesamiento del dolor, que incluyen tanto grupos musculares como regiones cerebrales especializadas (Grillner & Graybiel, 2006).

¹ Asimismo, este conocimiento ofrece aplicaciones clínicas relevantes para la identificación del origen de determinadas patologías y, en consecuencia, permite diseñar estrategias para frenar su progresión una vez establecida la causa subyacente.

² El procesamiento del dolor constituye un modelo paradigmático para el estudio de estos circuitos, debido al amplio interés que despierta en los campos médico y farmacéutico. Por tanto, el procesamiento del dolor ofrece una perspectiva de la dinámica funcional de los microcircuitos.

Enfocándonos en la ejecución de movimientos en los microcircuitos, se tomará como ejemplo a la lamprea, un vertebrado primitivo del que se han descrito en detalle sus diferentes redes neuronales, así como la interacción de dichas redes a nivel celular.

Tanto en vertebrados como en invertebrados, existen redes neuronales básicas que crean patrones de movimiento. La red de células nerviosas puede activar varias motoneuronas con la secuencia temporal e intensidad adecuadas para producir patrones de movimiento, los cuales se llaman generadores de patrones centrales (*Central Pattern Generator*, CPG por sus siglas en inglés). Algunos ejemplos de comportamiento mediados por CPG incluyen reflejos protectores, la acción de tragar, toser o la respiración.

Además de la ventaja de contar con un amplio conocimiento sobre el sistema nervioso de la lamprea, el modelo permite extrapolar funciones a sistemas nerviosos más complejos, como los de los mamíferos. Su menor número de neuronas facilita el análisis funcional y su preparación experimental permite registrar patrones motores *in vivo* (Grillner, 2003).

Pero cabe preguntarse: ¿qué conclusiones se pueden extraer de los estudios al explicar los mecanismos generales utilizados para generar actividad motora?

En primer lugar, además de las neuronas responsables de la respuesta de los músculos, los microcircuitos motores incluyen grupos neuronales con funciones opuestas, los cuales están conectados como inhibición recíproca entre músculos antagonistas. Este mecanismo asegura la coordinación entre dichos músculos: mientras un músculo se contrae, su antagonista se relaja, evitando una activación simultánea que bloquearía el movimiento.

Asimismo, las neuronas con funciones similares tienden a excitarse mutuamente o a estar conectadas mediante uniones comunicantes que se activan siguiendo una secuencia. Este patrón

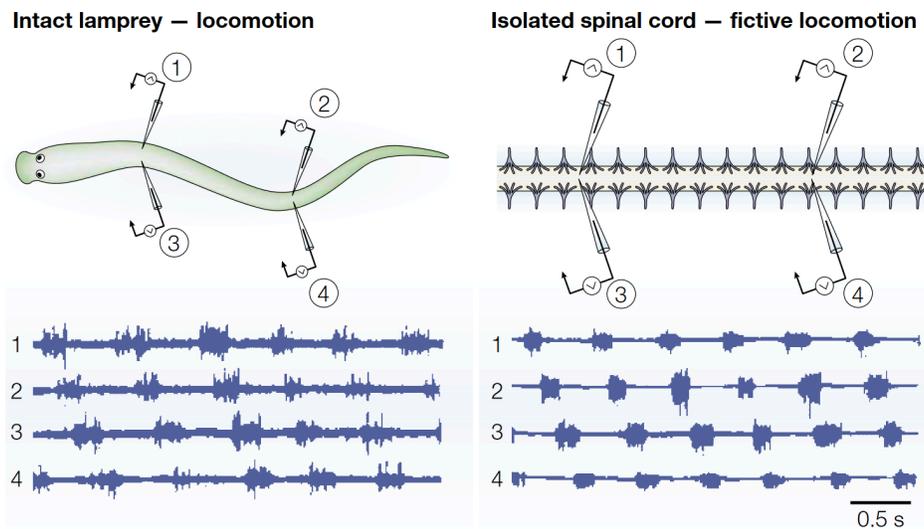
secuencial, garantiza que el movimiento se ejecute de manera fluida y precisa, como se observa en la Figura 6 donde se observa la propagación ordenada de los potenciales de acción.

Finalmente, los microcircuitos motores exhiben una organización modular, lo que les permite operar de manera independiente o se integren en acciones coordinadas. Evidencias de esta modularidad nos permiten que durante actividades complejas, como correr, sea posible mantener el control simultáneo de otras partes del cuerpo.

La alternancia en los microcircuitos se puede apreciar de mejor manera en la Figura 7 en ambas gráficas de la parte inferior. Los intervalos del incremento de la actividad eléctrica en cada electrodo es secuencial, podemos ver que tanto en el registro electromiográfico y el registro directo de la médula aislada siguen la secuencia 1, 2, 3 y 4. (Grillner, 2003)

Figura 7

Registro de movimiento de lamprea



Nota. Adaptado de Figure 2 Similarities of locomotor pattern generation in an intact lamprey and an isolated spinal cord de Grillner Sten, 2003, The motor infrastructure: from ion channels to neuronal networks

Microcircuito estriatal

El estriado es la principal estructura de entrada de los ganglios basales y desempeña un papel central en la integración de información cortical, talámica y dopaminérgica para modular la ejecución de programas motores y funciones cognitivas asociadas (Alexander & Crutcher, 1990; Gerfen & Surmeier, 2011). Su función atribuida se relaciona con el control del movimiento voluntario, la selección de acciones y el aprendizaje por refuerzo, integrando señales excitadoras, inhibitorias y moduladoras en un microcircuito altamente especializado (Graybiel, 2005).

La población neuronal del estriado está dominada por las neuronas espinosas medianas (*medium spiny neurons*, MSNs), que representan aproximadamente el 95% de las neuronas estriatales (Graveland & DiFiglia, 1985). Estas neuronas son gabaérgicas y se dividen en dos subpoblaciones de acuerdo con la expresión de receptores de dopamina:

- MSNs de la vía directa (D1R), que proyectan principalmente al globo pálido interno y la sustancia negra reticulata.
- MSNs de la vía indirecta (D2R), que proyectan al globo pálido externo como paso previo a su influencia sobre la misma vía de salida (Gerfen *et al.*, 1990).

El restante 5% está compuesto por interneuronas gabaérgicas y colinérgicas, que juegan un papel crucial en la modulación de la actividad de las MSNs y en la regulación de la dinámica del microcircuito estriatal (Kawaguchi *et al.*, 1995; Tepper *et al.*, 2010). Dentro de estas, destacan:

- Interneuronas parvalbumínicas (PV+): gabaérgicas de disparo rápido (fast-spiking), capaces de controlar la salida de las MSNs mediante inhibición perisomática (Koós & Tepper, 1999).

- Interneuronas somatostatinérgicas (SOM+): gabaérgicas, con proyecciones más difusas que contactan preferentemente dendritas distales de las MSNs, modulando su integración sináptica (Ibáñez-Sandoval *et al.*, 2011; Kawaguchi, 1993).
- Interneuronas colinérgicas (ChAT+): liberan acetilcolina y ejercen una modulación difusa sobre las MSNs e interneuronas, influyendo en la plasticidad sináptica y el filtrado de la información entrante (Aosaki *et al.*, 1994; Goldberg & Reynolds, 2011).

El estriado también contiene otras poblaciones de interneuronas menos abundantes, como las que expresan calretinina, neuropéptido Y o tirosina hidroxilasa (Kawaguchi *et al.*, 1995; Tepper *et al.*, 2010). Aunque su estudio ha recibido menos atención, estas células contribuyen a la diversidad funcional del microcircuito.

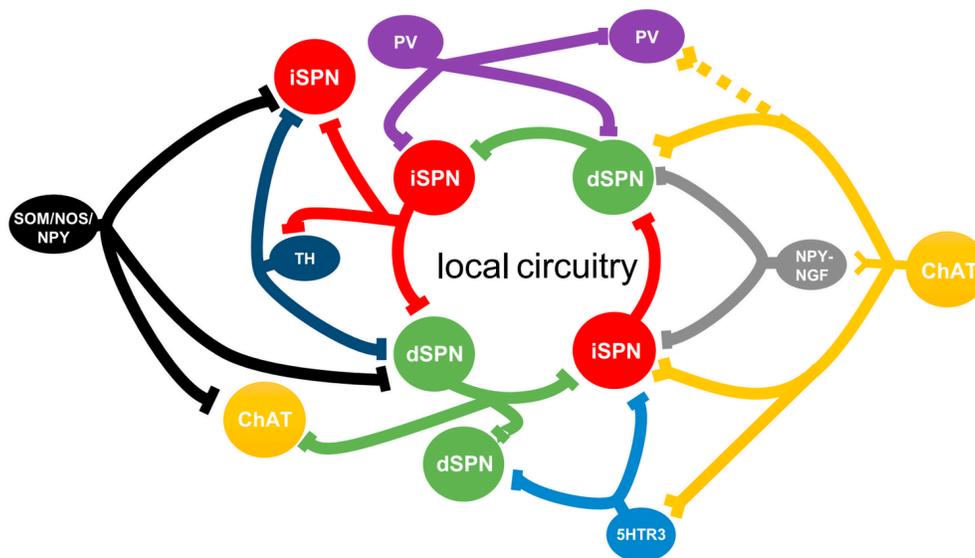
La conectividad del microcircuito estriatal es altamente organizada (Figura 8). Las MSNs reciben una densa convergencia de aferencias glutamatérgicas de la corteza y el tálamo, así como modulaciones dopaminérgicas desde la sustancia negra compacta (Bolam *et al.*, 2000). Entre ellas existe una inhibición recíproca débil, pero funcional, mediada por colaterales axónicas (Taverna *et al.*, 2004).

Las interneuronas PV+ proporcionan inhibición rápida y potente sobre las MSNs (Koós & Tepper, 1999), mientras que las SOM+ ejercen una modulación más lenta sobre zonas dendríticas (Kawaguchi, 1993). Las ChAT+, por su parte, modulan tanto a las MSNs como a otras interneuronas, ajustando el balance excitatorio-inhibitorio en función del estado conductual (Aosaki *et al.*, 1994; Goldberg & Reynolds, 2011).

En conjunto, estas interacciones permiten que el estriado actúe como un nodo de selección de acciones, filtrando y modulando la actividad neuronal antes de transmitirla a las estructuras de salida de los ganglios basales.(Burke *et al.*, 2017)

Figura 8

Principales conexiones sinápticas identificadas dentro de las neuronas estriatales locales



Nota. Adaptado de Figure 3. Main Identified Synaptic Connections between Local Striatal Neurons de Deniss A. Burke, 2017, *Striatal Local Circuitry: A New Framework for Lateral Inhibition*.

Optogenética

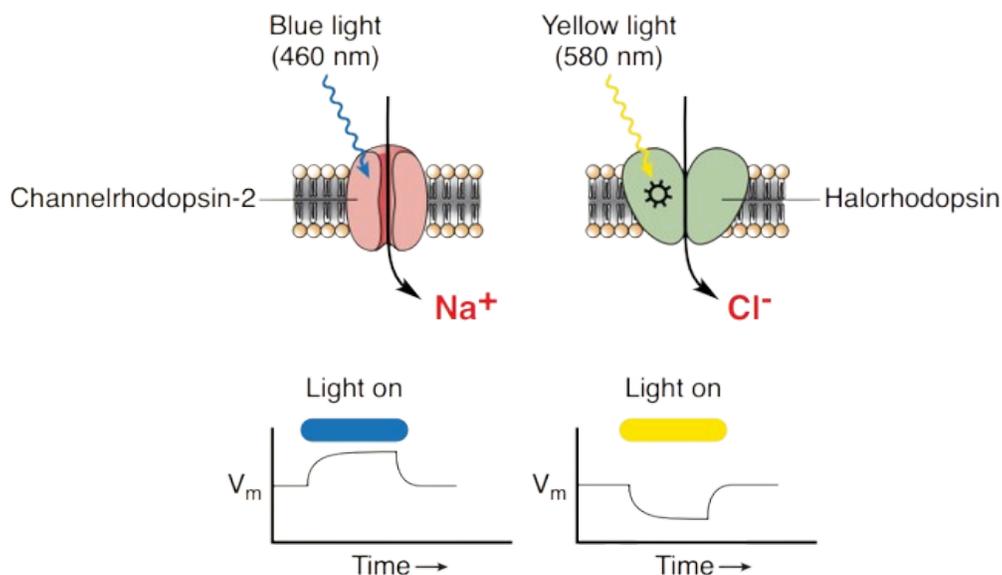
La optogenética es una técnica desarrollada en neurociencias como una herramienta para la investigación que permite controlar o provocar la actividad neuronal con estímulos lumínicos. Esto se logra a través de la introducción genética de proteínas fotosensibles, conocidas como activadores optogenéticos. En este sistema, la luz actúa como el estímulo desencadenante, ofreciendo la ventaja de una alta resolución tanto temporal como espacial, con la posibilidad de emplearse en diferentes longitudes de onda y en zonas cerebrales diferentes y proporciona un control preciso sobre un tipo específico de neurona estimulada.

El comienzo de esta técnica se remonta al descubrimiento de la "*bacteriorhodopsin*" descubierta en 1971 por Oesterhelt y Stoeckenius, una proteína similar a la "rodopsina" en la

bacteria *Halobacterium halobium*, capaz de bombear protones en respuesta a la luz. Este hallazgo abrió paso a la identificación de otras proteínas sensibles a la luz, pertenecientes a la familia de las opsinas. El mayor avance se alcanzó cuando se logró la expresión del gen de opsina microbiana en neuronas (canalrodopsina en 2002), confiriéndoles fotosensibilidad. Actualmente, la optogenética posibilita la manipulación selectiva de células neuronales en una amplia variedad de tejidos (Duebel et al., 2015). Entre los activadores epigenéticos más empleados se incluyen channelrhodopsin (ChR), halorhodopsin (npHR), y archaerhodopsin (Arch).

Figura 9

Ejemplo de opsina



Nota. Adaptado de *Figure A Schematic drawings of channelrhodopsin-2 and halorhodopsin in the plasma membrane. Below, the effect of blue and yellow light on membrane potential, mediated by channelrhodopsin-2 and halorhodopsin, respectively.* de Bear et al., 2016, *Neuroscience: exploring the brain*.

Los potenciales de acción generados por las neuronas se originan a partir de la despolarización, la cual se produce cuando se supera un umbral de voltaje. Este proceso ocurre mediante la apertura de canales iónicos que permiten el ingreso de iones Na⁺ a través de la

membrana. Para controlar artificialmente la frecuencia de disparo, se utilizaban microelectrodos que inyectaban una corriente eléctrica; no obstante, esta técnica presentaba una limitación significativa, ya que estimulaba de forma no selectiva a todas las neuronas circundantes al electrodo. En contraste, la introducción de opsinas superó esta limitación. Por ejemplo, al usar canalrodopsina (ChR2) en neuronas de mamífero hay una codificación de un canal catiónico sensible a la luz permeable a Na^+ y Ca^{2+} . Este canal se activa al ser expuesto a la luz azul, lo que ocasiona la entrada de suficientes cationes para inducir una despolarización que supera el umbral y desencadena un potencial de acción.

Al usar herramientas optogenéticas es importante conocer los mecanismos de los potenciales de acción y su propagación (Bear *et al.*, 2016).

Para lograr la expresión de la opsina en una región anatómica específica es necesario realizar inyecciones estereotáxicas de vectores virales que codifican estas proteínas. Además de la especificidad anatómica, se puede apuntar a un tipo celular específico bajo el uso de la Cre-recombinasa. Cre-recombinasa es una enzima que cataliza la recombinación específica entre dos sitios LoxP, los vectores virales modernos impulsados por Cre se construyen con genes “doblemente flojado” que codifican la opsina, lo que provoca la expresión génica solo en las células que contienen Cre.

También se codifica una etiqueta fluorescente en la construcción viral, lo que permite la confirmación histológica post mortem de la expresión génica en el tipo de célula y la región cerebral objetivo.

Tras la administración estereotáxica del virus, es recomendable esperar un mínimo de tres semanas antes de realizar los experimentos con el fin de permitir la expresión de la opsina en las células infectadas.

Cada opsina se activa mediante longitudes de onda específicas de luz, por lo que es imprescindible utilizar la longitud de onda apropiada para modular la opsina seleccionada. Asimismo, se deben ajustar tres parámetros críticos de los pulsos de luz: duración, frecuencia e intensidad. Para la activación neuronal, es conveniente utilizar frecuencias y patrones de disparo que imiten la neurofisiología natural de las neuronas objetivo (“Optogenetics and Chemogenetics”, 2018).

Electrofisiología

Las matrices de multielectrodos (MEA) son electrodos distribuidos en una superficie pequeña, diseñados para inducir y/o registrar potenciales de acción extracelular, con el fin de investigar cambios electroquímicos en células individuales o en redes neuronales. Esta tecnología también registra potenciales de campo (*Multi-Electrode Array Electrophysiology*, s/f).

Las matrices de multielectrodos están formadas por diminutos electrodos que registran señales eléctricas o aplican estímulos en múltiples células, o bien, en regiones específicas de tejido, de manera simultánea. Durante su uso, la rejilla de electrodos se coloca en contacto directo con el tejido o las células en estudio, donde registra señales y aplica estímulos localizados en electrodos específicos. La posibilidad de una estimulación puntual facilita la obtención de información de las respuestas celulares y su comunicación dentro de la red.

El uso de matrices de multielectrodos ofrece diversas ventajas frente a otras:

- No invasivo; no daña las células y preserva su comportamiento natural.
- Fácil configuración; su uso es sencillo y rápido en comparación con métodos más complejos, como el *patch clamping*.

- Alto rendimiento; graban docenas o incluso cientos de localizaciones simultáneamente con una resolución temporal de entre 10[kHz] y 50[kHz], comparado con la imagenología de calcio, otra técnica para registrar actividad neuronal que también tiene capacidad para registrar múltiples neuronas, que tiene una tasa de adquisición típica alrededor de 10 [Hz], aunque configuraciones especiales que sacrifican resolución espacial y relación señal ruido pueden alcanzar los 2[kHz](Martens et al., 2014).
- Monitoreo en tiempo real; proporciona una observación dinámica y continua del comportamiento celular.
- Fácil integración; puede combinarse su uso con otras tecnologías, como sistemas de imágenes ópticas.

Gracias a estas características, las matrices de multielectrodos (MEA) se han aplicado en múltiples áreas de investigación biomédica. En neurociencias, se emplean para estudiar la comunicación neuronal, el comportamiento de red y la actividad neuronal anómala. También las hace una herramienta clave para el desarrollo de interfaces cerebro-máquina, ya que facilitan la interacción entre tejido neuronal vivo y sistemas robóticos. Esta conexión tecnológica abre la posibilidad de aplicaciones en prótesis controladas por la actividad cerebral.

Asimismo, en investigaciones cardíacas, las MEA permiten analizar las propiedades eléctricas de las células cardíacas y evaluar los efectos de nuevos fármacos sobre la función cardíaca. En el ámbito de la farmacología y pruebas de drogas, facilitan la selección de medicamentos gracias a la observación de sus efectos en las células. En toxicología y seguridad farmacológica, su uso resulta clave para la identificación de problemas asociados al uso de medicamentos, como el bloque del canal hERG o la prolongación del intervalo QT (*What Is an MEA [Multielectrode Array or Microelectrode Array], s/f*).

No obstante, la implementación de las MEA en combinación con técnicas de optogenética presenta ciertas limitaciones, entre ellas los artefactos fotoeléctricos. Estos artefactos son perturbaciones en la señal del voltaje que se producen cuando superficies metálicas reciben iluminación, y afecta la calidad de los estímulos luminosos sobre las células situadas bajo el electrodo (Cho *et al.*, 2022).

Esta deficiencia se evidencia en el artículo “Ultra-Low Cost, Facile Fabrication of Transparent Neural Electrode Array for Electrocorticography with Photoelectric Artifact-Free Optogenetics”. En la Figura 10.c) y 3.d), se observa cómo el efecto fotoeléctrico afecta a los electrodos de oro expuesto a iluminación controlada, en comparación con electrodos transparentes. En la sección derecha del inciso 3.c) de la imagen, se aprecia que el incremento de los artefactos fotoeléctrico es proporcional a la intensidad de luz recibida, mientras que el inciso 3.d) concluye que el ruido provocado por la iluminación interfiere con el registro electrofisiológico, dificultando la interpretación de los resultados (Cho *et al.*, 2022). Otros estudios han reportado la variabilidad de los efectos fotoeléctricos de los fotones sobre distintos materiales (Kozai & Vazquez, 2015).

La cantidad de información procedente del uso de tecnologías como las MEA incrementa proporcionalmente con el tiempo de cada experimento. Dependiendo de la actividad neuronal se pueden registrar muchos disparos de muchas neuronas. Esto nos lleva a la necesidad de usar algoritmos de análisis diseñados para lidiar con grandes cantidades de datos.

Procesamiento de señales neuronales

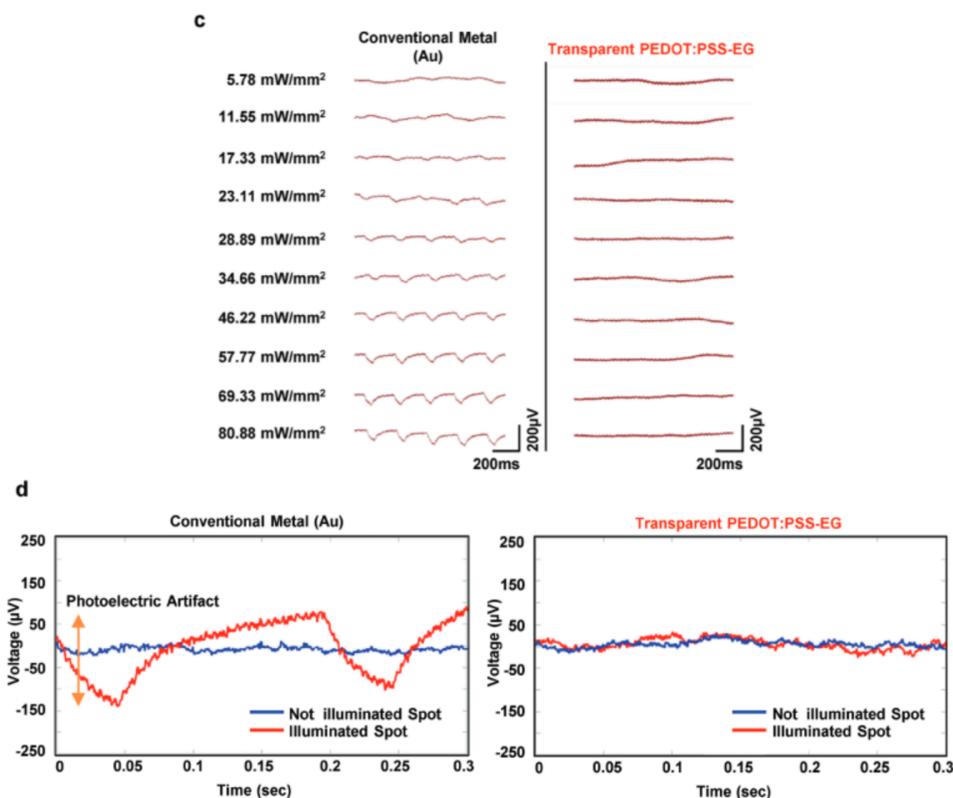
La clasificación de disparos implica un procesamiento complejo a partir de registros extracelulares que busca extraer la actividad individual de las neuronas. A medida que aumenta

el número de canales registrados, crece la probabilidad de aislar neuronas de forma precisa; sin embargo, también se incrementa la probabilidad de obtener disparos superpuestos en tiempo o espacio. Además, la cantidad de datos generados por los registros electrofisiológicos crece a medida que se tienen más canales y una mayor resolución temporal (Buccino *et al.*, 2022).

Para lidiar con las adversidades abordadas, se requiere de un procesamiento confiable de los registros electrofisiológicos crudos.

Figura 10

Efectos fotoeléctrico en electrodos metálicos



Nota. c) Artefactos fotoeléctricos para el electrodo de oro (izquierda) y el electrodo transparente PEDOT:PSS-EG (derecha) a diversas densidades de luz. d) Comparación entre los artefactos fotoeléctricos para áreas iluminadas (rojo) y no iluminadas (azul). La matriz de electrodos de oro (izquierda) presentó artefactos fotoeléctricos con una amplitud de aproximadamente 200 [μV], mientras que la matriz de electrodos transparentes (derecha) presentó señales eléctricas sin artefactos. Adaptado de Figure 3. In vitro light-induced artifact evaluation de Cho *et al.*, 2022, Ultra-Low Cost, Facile Fabrication of Transparent Neural Electrode Array for Electrocortigraphy with Photoelectric Artifact-Free Optogenetics.

- Filtrado: inicialmente, las señales se filtran para eliminar componentes de baja frecuencia, como el potencial local de campo (*Local Field Potential*).
- Detección: se detectan los posibles disparos y se registra cuándo se supera cierto umbral
- Alineación: después se tiene una etapa de alineación de los segmentos que se consideran disparos; los segmentos detectados como disparos se ajustan a un punto como una función de toda la forma de onda.
- Reducción dimensional y agrupamiento: donde se proyectan los disparos en un espacio de menor dimensión con el objetivo de identificar grupos. Los segmentos que comparten características similares se agrupan, y dichas similitudes dependen de la técnica empleada para la reducción dimensional.
- Obtención de plantillas: finalmente, se reconstruyen formas de cada tipo de disparo a lo largo del tiempo (Buccino *et al.*, 2022).

Para obtener los segmentos que conforman las formas de los potenciales de acción, los datos analógicos deben ser previamente filtrados y digitalizados. Un parámetro determinante en esta etapa es la frecuencia de muestreo, ya que debe ser lo suficientemente elevada para capturar los cambios rápidos de voltaje durante un disparo.

El cambio de potencial asociado a la entrada de sodio en la fase de despolarización dura aproximadamente 200[μ s] a temperatura fisiológica, lo que sugiere una tasa mínima de 5[kHz]. Sin embargo, debido a que los disparos neuronales contienen componentes significativos en frecuencias cercanas a 8[kHz], el teorema de Nyquist establece que la frecuencia mínima requerida es de aproximadamente 16[kHz]. En la práctica, se emplean valores de 20[kHz] a 30[kHz], superando el valor mínimo permitiendo obtener formas de onda más definidas (Mitra & Bokil, 2007).

Para la etapa de filtrado, el uso de filtros digitales proporciona una mayor precisión y fiabilidad en el procesamiento de señales. La función principal de los filtros digitales es eliminar las frecuencias en secciones determinadas y mejorar parámetros como la magnitud, fase o retardo en el espectro de la señal. Originalmente, los filtros físicos, dependiendo si son activos o pasivos, se diseñan con inductores, condensadores, transformadores y resistores, donde estos últimos representaban tanto la carga como la resistencia interna de la fuente.

Los filtros digitales presentan diversas características como las que se incluyen a continuación:

- Bandas de transición mucho más pequeñas que las obtenidas con filtros analógicos.
- Respuesta impulsiva de duración finita y filtros con fase lineal.
- Ancho de banda del orden de 5 Hz, o incluso menor, lo cual es especialmente relevante para procesar señales biomédicas o sísmicas.
- Filtros programables, filtros multivelocidad, filtros multidimensionales y filtros adaptativos (Shenoi, 2006).

Entre los diferentes filtros que hay, Salas y Campos destacan al filtro de Butterworth “por su diseño básico, orientado a producir la respuesta más plana que sea posible hasta la frecuencia de corte. En otras palabras, su salida permanece prácticamente constante hasta la frecuencia de corte, a partir de la cual disminuye a razón de $20n$ dB por década, donde n representa el número de polos del filtro. Además su construcción es sencilla, los valores de los componentes son más prácticos que la mayoría y las variaciones de estos son menos críticas. Es, asimismo, el único filtro que conserva su forma para órdenes mayores, presentando únicamente una pendiente más pronunciada” (Salas & Campos, 2014).

Determinar el umbral de detección de los disparos es un paso importante, ya que si la señal supera este umbral se considerará como una forma de onda, este parámetro debe ser dependiente de la señal, generalmente este límite se establece en función de algunas medidas de dispersión, por ejemplo, la desviación absoluta media o la desviación estándar (Buccino *et al.*, 2022).

El umbral debe ser adecuado para descartar variaciones debido al ruido, y además conservar la mayor cantidad de disparos posibles. Si el umbral es muy bajo la limpieza de cada electrodo se dificulta y se llegan a filtrar artefactos provocados por el efecto fotoeléctrico.

Otra fuente de distorsión del disparo, puede ser funcional: si se utiliza un fármaco, o si se fuerza a las neuronas a disparar de una forma no fisiológica (por ejemplo con optogenética). Es probable que tales perturbaciones externas cambien las plantillas (Buccino *et al.*, 2022).

Representación y análisis de formas de onda neuronales

Estudios *in vitro* han demostrado que neuronas piramidales y GABAérgicas, identificadas morfológicamente, presentan patrones de disparo y formas de potencial de acción diferenciados. Las células piramidales muestran una frecuencia de disparo lenta y regular con formas de onda amplias, mientras que neuronas inhibitorias presentan frecuencias de disparo significativamente más altas y formas de onda más estrecha. En principio, estas propiedades intracelulares se correlacionan con las características extracelulares registradas *in vivo* (Trainito *et al.*, 2019).

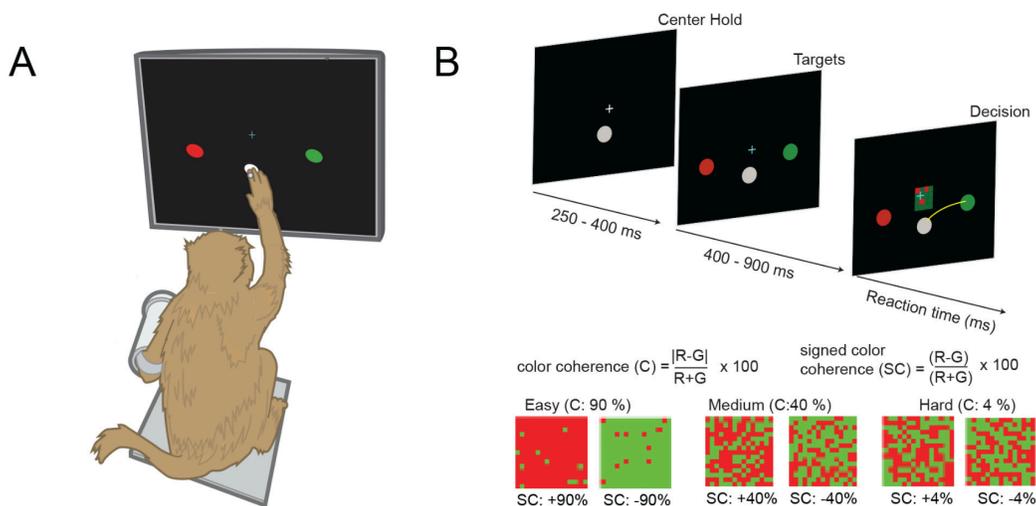
En “*Non-linear dimensionality reduction on extracellular waveforms reveals cell type diversity in premotor cortex*” se estudiaron los procesos neurológicos/neurofisiológicos implicados en la toma de decisiones dentro de la corteza premotora. Dicha porción cerebral participa en funciones como el procesamiento de la evidencia sensorial, la preparación y

ejecución de movimientos. El objetivo principal del estudio fue comprender cómo se originan estas dinámicas en relación con la toma de decisiones entre distintos tipos de neuronas (Lee *et al.*, 2021).

Para alcanzar el objetivo, se realizaron experimentos en monos entrenados para identificar el color predominante (rojo o verde) en un tablero central estático e informar su elección mediante un movimiento lateral del brazo hacia el color correspondiente como se muestra en la Figura 11. Los registros obtenidos fueron potenciales de acción extracelular, los cuales se analizaron mediante técnicas de reducción dimensional aplicadas a las formas de onda, con el fin de identificar clases celulares putativas y caracterizar sus propiedades fisiológicas, funcionales y su distribución en corteza mamífera (Lee *et al.*, 2021).

Figura 11

Diseño experimental



Nota. A) Ilustración de la configuración conductual en la tarea de decisión. El mono estaba sentado con un brazo libre y otro sujeto suavemente en un tubo de plástico mediante un arnés de tela. En el dedo índice de la mano libre se pegó una perla reflectora de infrarrojos (IR) que se utilizó para seguir los movimientos del brazo. Esto nos proporcionó una lectura de la posición de la mano y nos permitió imitar una pantalla táctil. B) Cronología de la tarea de toma de decisiones (arriba). En la parte inferior se define la parametrización de la dificultad en la tarea en términos de coherencia de color y coherencia de color con signo (SC). Adaptado de Figura 1 de Lee *et al.*, 2021, Non-linear dimensionality reduction on extracellular waveforms reveals cell type diversity in premotor cortex.

Para experimentos *in vivo* como el de este artículo las características más importantes de los potenciales de acción, son: duración, ancho, velocidad de disparo, duración entre el valle y el pico, tiempo de repolarización, etc. Además, estos experimentos introdujeron el concepto de neuronas de disparo ancho y estrecho.

En estudios *in vivo* como este, las características más relevantes de los potenciales de acción incluyen parámetros como ancho, duración, velocidad de disparo, intervalo entre valle y pico, y tiempo de repolarización. A partir de los resultados, se ha introducido el concepto de neuronas de disparo ancho y de disparo estrecho. Evidencia proveniente de experimentos en conejillos de indias (McCormick *et al.*, 1985) ayuda a instituir la teoría de que las formas de onda anchas están asociadas a células excitatorias, mientras que las formas estrechas corresponden a células inhibitorias.

Sin embargo, la diversidad de las formas de onda dificulta la identificación sistemática de tipos neuronales. Distintos estudios han empleado conjuntos de características distintas para la clasificación celular, unos de los más mencionados por con el artículo “*Non-linear dimensionality reduction on extracellular waveforms ...*” son: Trainito *et al.*, 2019; Viskontas *et al.*, 2007; Katai *et al.*, 2010. Lo cual ha derivado en diferentes clases celulares inferidas. Esto dificulta la comparación de las neuronas putativas o un tipo neuronal específico entre diferentes estudios, e incluso algunos trabajos, Weir *et al.*, 2015, señalan que no existe un conjunto de características que permita identificar un tipo neuronal de manera confiable.

Una estrategia para abordarlo es la reducción dimensional, las cuales permiten encontrar patrones en las formas de onda provenientes de registros electrofisiológicos. Entre estas técnicas se encuentran el Análisis de Componentes Principales (*Principal Component Analysis*, PCA), el Escalamiento Multidimensional, Isomapas, y la Incrustación Estocástica de Vecinos con

Distribución t (*t-distributed Stochastic Neighbor Embedding*, t-SNE). En el presente estudio, se explorará el método de Aproximación Uniforme Múltiple y Proyección para Reducción Dimensional (*Uniform Manifold Approximation and Projection for Dimension Reduction*, UMAP por sus siglas en inglés; (Lee et al., 2021).

En el artículo “*A striatal SOM-driven ChAT-iMSN loop generates beta oscillations and produces motor deficits*” se habla de la relación directa entre los ritmos beta (12-35[Hz]) y déficits motores, los ritmos beta son detectados en la red neuronal corticobasal ganglio-talámica (CBT), típicamente se conceptualiza que esta red tiene 3 canales de información: motora, límbica y asociativa.

Los déficits motores tratados en este artículo son deterioros en la locomoción como síntomas hipocinéticos en enfermedades motoras, por ejemplo, la enfermedad de Parkinson (Brazhnik *et al.*, 2016; Brown, 2007; Leblois *et al.*, 2007; Willard *et al.*, 2019)

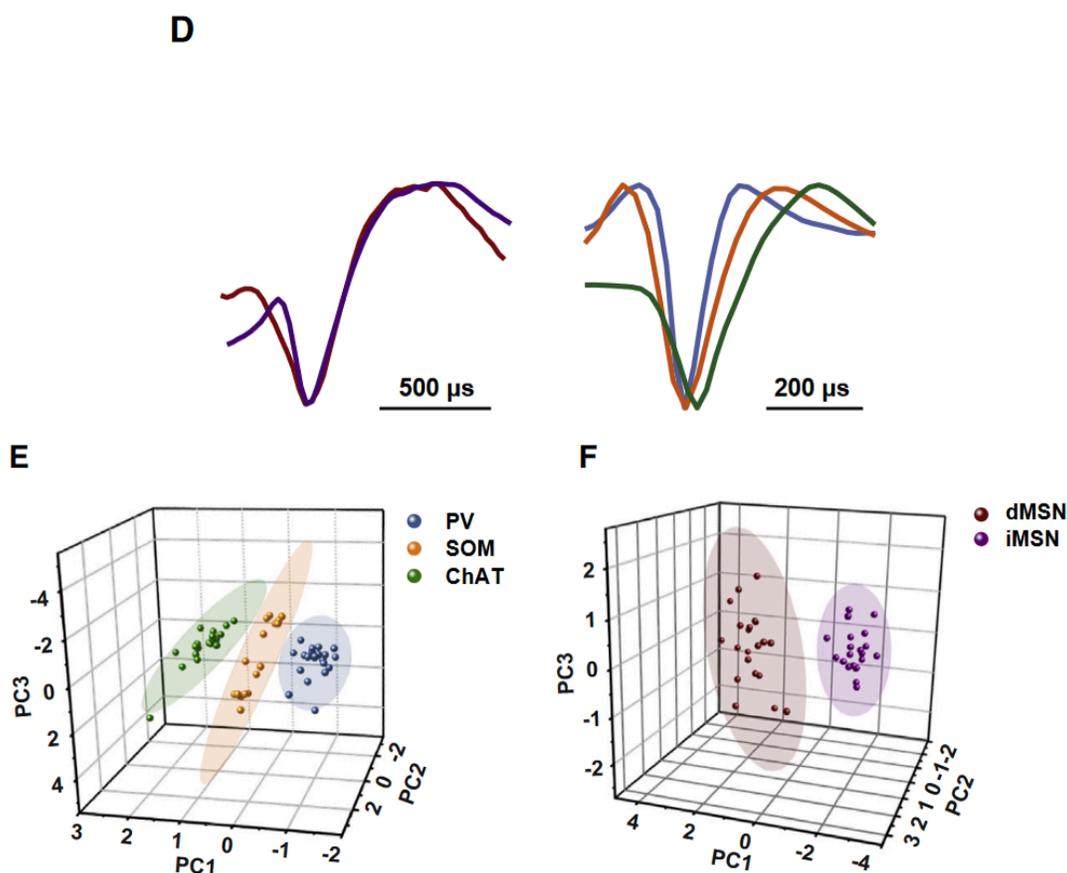
Para comprender la relación entre las oscilaciones beta y los síntomas motores, los autores identificaron qué tipos de neuronas estriatales participan en la red neuronal CBT. En este estudio se reportaron dos tipos de neuronas gabaérgicas, las neuronas espinosas medianas (MSNs, por sus siglas en inglés) de la vía directa (dMSNs) y de la vía indirecta (iMSNs), así como tres tipos de interneuronas: colinérgicas (ChAT+), somatostatinas (SOM+) y parvalbumínicas (PV+) (Qian *et al.*, 2022).

Los registros de potenciales de acción se hicieron *in vivo* en ratones que se movían libremente con electrodos implantados junto con un fibra óptica apuntando al estriado dorsal. Se utilizaron ratones SOM-Cre, ChAT-Cre, PV-Cre, Drd2-Cre y Drd1a-Cre para la expresión específica del tipo celular de proteínas fluorescentes y opsinas fotoactivadas (ChR2 o ChETA).

Se realizó un análisis exhaustivo para extraer las características de las formas de onda. Como se puede apreciar en la Figura 12, durante la reducción dimensional y la separación en grupos se pudieron dar cuenta que el grupo de las MSNs se dividía en dos, aquellas que mostraban una fase positiva más corta (dMSNs) mientras que las iMSNs mostraban una fase inicial corta.

Figura 12

Formas de onda de células putativas en estriado dorsal



Nota. (D) Los trazos superpuestos muestran las distintas formas de onda de los diferentes tipos de neuronas estriatales. (E y F) Separación de subtipos de neuronas estriatales basada en el análisis de componentes principales (PCA) para interneuronas identificadas optogenéticamente (E) o MSN (F). Adaptado de Figura 1 de Qian *et al.*, 2023, A striatal SOM-driven ChAT-iMSN loop generates beta oscillations and produces motor deficits.

En los siguientes experimentos, se diferenciaron los tipos de células putativas basándonos en los rasgos característicos de la forma de onda de los picos espontáneos sin el procedimiento de opto etiquetado.

La conclusión principal de este artículo es que un bucle formado por neuronas ChAT y iMSN es el circuito neuronal, que podría ser impulsado por las SOM, que contribuye a la generación de oscilaciones beta. Esta conclusión se realizó asumiendo tipos de neuronas putativas obtenidos con base en su forma de onda (Qian *et al.*, 2022).

En el artículo “*Relevance of Nonlinear Dimensionality Reduction for Efficient and Robust Spike Sorting*” se propone el uso de la técnica de reducción de dimensionalidad no lineal UMAP, que puede mejorar drásticamente el rendimiento, la eficiencia, la robustez y la escalabilidad de los procedimientos para clasificación de disparos neuronales. UMAP es un algoritmo de aprendizaje profundo no supervisado y matemáticamente fundamentado, que es aplicado en datos no lineales como es el caso de los registros de voltaje extracelulares (Suarez-Barrera *et al.*, 2025).

Algoritmos de aprendizaje no supervisado

El aprendizaje automático es una técnica en la que sistemas informáticos aprenden de los datos sin intervención humana. Dentro del aprendizaje automático se pueden distinguir tres categorías principales de aprendizaje automático: supervisado, no supervisado y semi supervisado.

El aprendizaje no supervisado tiene por objetivo la detección autónoma de patrones sin necesidad de categorización de los datos o de comprobación del modelo de aprendizaje. Aunque los algoritmos supervisados suelen alcanzar mayor exactitud, esta depende en gran medida de la

habilidad de la persona entrenada para reconocer y etiquetar correctamente la información, así como del algoritmo de entrenamiento utilizada.

Algunos ejemplos de algoritmos de aprendizaje no supervisado incluyen ECLAT, agrupamiento con K-medias, y Análisis de componentes principales. Estas técnicas se aplican en el desarrollo de modelos capaces de detectar tendencias en datos históricos; identificar agrupamientos y realizar predicciones a partir de los patrones encontrados. En el presente trabajo, se usarán métodos de agrupamiento y reducción dimensional, ya que algunas ventajas del aprendizaje no supervisado son:

- Realiza una exploración de datos para su clasificación y considera características que pudieron pasarse por alto.
- No se necesita de una persona experta para tener información de calidad, además que se reducen los tiempos del análisis.
- A más datos que trabaje, la topología de la información es más comprensible, a la vez que detecta patrones (Naeem *et al.*, 2023).

Dado que los datos electrofisiológicos provenientes de matrices de multielectrodos (MEA) no cuentan con una categorización inicial que indique a qué tipo neuronal pertenece cada potencial de acción registrado, los datos adquiridos mediante MEAs son adecuados para la aplicación de algoritmos de aprendizaje no supervisado.

Como se muestra en la Figura 13, dentro del aprendizaje no supervisado se distinguen tres categorías principales de algoritmos: reducción dimensional, agrupamiento y asociación. En este trabajo se utilizarán los algoritmos de reducción dimensional (aplicado a los potenciales de acción) y agrupamiento para formar grupos con los resultados de la reducción dimensional.(Dobilas, 2024)

Figura 13

Áreas de estudio en Machine Learning



Nota. Adaptado de Machine Learning algorithm classification de Saul Dobilas, 2021, t-SNE Machine Learning Algorithm — A Great Tool for Dimensionality Reduction in Python.

El registro de potenciales de acción, ya sea extracelular o intracelular, consiste en series de valores de voltaje a lo largo del tiempo. La longitud de cada serie depende de la tasa de adquisición de la señal, pero el número de puntos por serie integran las dimensiones de la

información a analizar. Dado que se busca obtener el mayor número de puntos posibles para preservar los detalles de la forma de onda —lo que aumenta las dimensiones de los datos— es necesario aplicar algoritmos de reducción dimensional. Finalmente, al representar los potenciales de acción en espacios de dos o tres dimensiones, se obtienen nubes de puntos que pueden ser agrupadas. Cada grupo de puntos representará formas de onda que comparten características similares.

Algoritmos de reducción dimensional

Los algoritmos de reducción de dimensionalidad son técnicas utilizadas para representar datos de alta dimensión en espacios de menor dimensión, procurando mantener las relaciones estructurales entre los puntos originales. Los más utilizados son PCA, t-SNE y más recientemente, UMAP, cada uno con características que determinan su aplicación en distintos contextos.

PCA transforma los datos extrayendo la información más relevante del conjunto inicial y minimizando o eliminando problemas como la multicolinealidad y el sobreajuste. La multicolinealidad ocurre cuando dos o más variables independientes están altamente correlacionadas (*Reducing dimensionality with principal component analysis with Python, s/f*). Por su parte, el sobreajuste es un comportamiento no deseado que ocurre al obtener predicciones precisas para los datos de entrenamiento, pero no ocurre igual al probar datos nuevos. (*¿Qué es el sobreajuste?, s/f*)

El objetivo de la reducción de dimensionalidad es conservar la mayor cantidad posible de la estructura significativa de los datos de alta dimensionalidad, proyectándola en un mapa de menor dimensión sin la pérdida de información.

El PCA es una técnica lineal que mantiene alejadas las representaciones de baja dimensionalidad correspondientes a puntos de datos distintos. En contraste, en datos de alta dimensión que se encuentran en o cerca de una variedad no lineal de baja dimensión, resulta prioritario preservar las diferencias entre datos similares. Debido a su naturaleza lineal, el PCA presenta limitaciones para capturar estas sutiles diferencias, lo que puede conducir a una representación menos precisa.

En contraste, el t-SNE es capaz de capturar gran parte de la estructura local de los datos de alta dimensión, al tiempo que revela la estructura global, como la presencia de grupos a varias escalas (Van der Maaten, 2008). A diferencia de SNE, el cual construye visualizaciones oportunas aunque tiene una función de coste difícil de optimizar, el t-SNE introduce dos mejoras clave: (1) utiliza una función de coste simétrica con gradientes más simples y (2) utiliza una distribución t de Student en lugar de una gaussiana para estimar la similitud entre dos puntos en el espacio de baja dimensión.

Por su parte, UMAP es una técnica que comparte con t-SNE la capacidad de reducción de dimensiones para visualizaciones más efectivas, pero con notables ventajas respecto a la velocidad de procesamiento y mejor preservación de la estructura global de sus datos. Su fundamento teórico se apoya en la teoría *manifold* —Un *manifold* es un espacio topológico que es localmente euclidiano lo que significa que parece un espacio plano pero puede tener una forma global compleja— y en el análisis topológico de datos (McInnes et al., 2018).

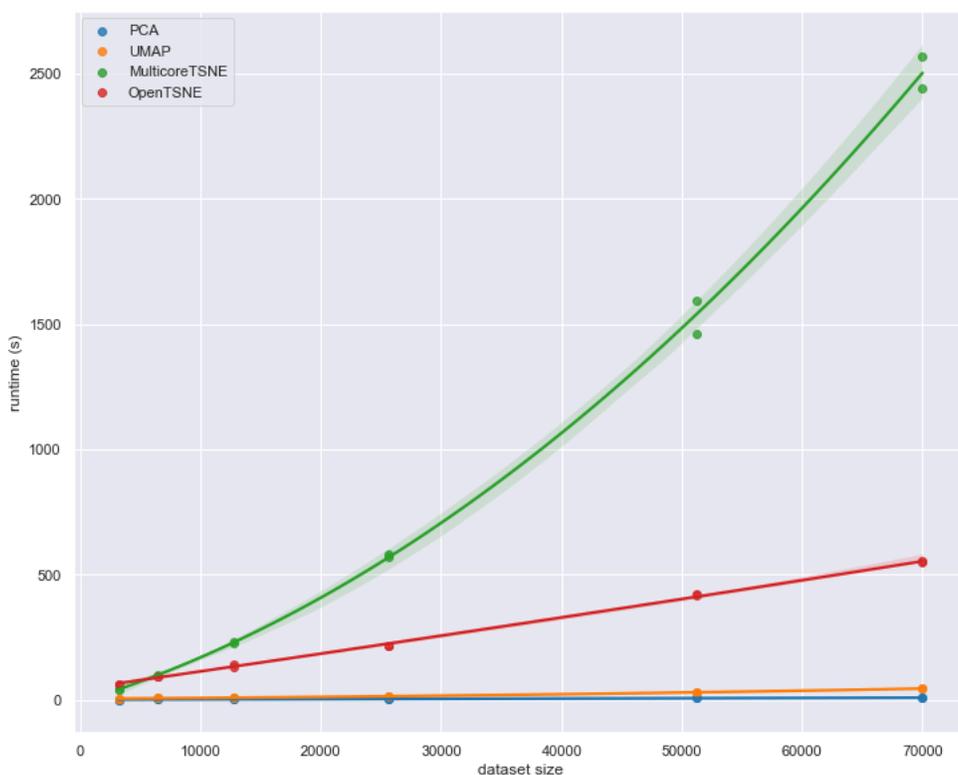
Uno factor clave en el tiempo requerido para efectuar una reducción efectiva de un conjunto de datos terminado es la complejidad computacional del algoritmo. Esta complejidad

depende del diseño del algoritmo y también de la naturaleza de los datos a procesar, especialmente en lo que respecta a su dimensionalidad³.

Como se puede ver en la Figura 14, el tiempo de ejecución está determinado por la complejidad y la cantidad de datos. En particular, el algoritmo *MulticoreTSNE* presenta un comportamiento similar al de una función exponencial, lo que se evidencia en el crecimiento abrupto de la línea verde. En contraste, otros algoritmos muestran un crecimiento más cercano a un comportamiento lineal, donde el tiempo se incrementa de manera moderada con el aumento del tamaño del conjunto de datos. (McInnes, 2018)

Figura 14

Evaluación comparativa de complejidad para algoritmos de reducción dimensional



Nota. Comparación de complejidad entre PCA, UMAP y t-SNE para la reducción dimensional del conjunto de datos conocido como MNIST de Leland McInnes, 2018, Performance Comparison of Dimension Reduction Implementations.

³ Hay conjuntos de datos lineales y no lineales, métodos lineales como PCA no son adecuados para estructuras de datos no lineales.

En la figura anterior se presenta una comparación entre UMAP y el t-SNE. Mientras que UMAP es más lento en comparación con PCA, su rendimiento de escalado es drásticamente superior al de *MulticoreTSNE*. Incluso frente al eficiente rendimiento de escalado de *openTSNE*, UMAP logra superarlo, lo que lo convierte en una alternativa sólida para agrupar datos conservando estructuras locales.⁴

Dentro del contexto de la reducción dimensional aplicada a señales bioeléctricas, UMAP ofrece ventajas a tomar en cuenta:

Preservación topológica: UMAP se distingue por su capacidad para resaltar relaciones topológicas y geométricas finas durante la reducción dimensional. Esta propiedad es crucial para identificar los grupos de formas de onda, lo cual permite discriminar con mayor eficacia neuronas putativas.

Mejor rendimiento y robustez: la clasificación de disparos basada en UMAP ha mostrado un rendimiento significativamente más alto y robusto en comparación con métodos basados en PCA o *Wavelet*. UMAP logra una separación clara de grupos en representaciones bidimensionales, facilitando la visualización de la estructura. Además, es robusto a perturbaciones como *drifting* y *bursting* y al aumento de los niveles de ruido.

Detección de neuronas de baja tasa de disparo: UMAP es particularmente adecuado para identificar y separar formas de onda con poca aparición (de neuronas con bajas tasas de disparo) debido a su robustez. Mientras que los métodos convencionales tienden a ignorar estas neuronas, UMAP mantiene una alta precisión de clasificación incluso con una pérdida

⁴ Para esta comparación se ocupó el conjunto completo de datos de dígitos MNIST, conjunto de datos que contiene 70 mil imágenes de dígitos del 0 al 9 manuscritos, las imágenes están en escala de grises con el fondo en color negro, el tamaño de cada imagen es de 28x28 pixels, contiene dígitos escaneados de 250 personas diferentes.

significativa de picos (hasta el 80% de los datos de un clúster). Esta característica resulta esencial, ya que las neuronas poco activas pueden portar información funcionalmente valiosa.

Mejora del análisis de codificación neuronal: la clasificación de disparos, basado en UMAP, incrementa tanto el número total de células identificadas como la cantidad de información extraída de los datos. Al evitar efectos como el *merging* —fusión de picos de diferentes neuronas—, contribuye a mantener la fidelidad de las tasas de disparo y evitan la pérdida de información.

Robustez espacial en MEA: en grabaciones con MEAs, particularmente, el rendimiento de la clasificación de disparos disminuye gradualmente con conforme incrementa la distancia entre el electrodo y la neurona, lo cual contrasta con métodos como *SpyKING CIRCUS*, cuyo rendimiento se ve afectado de manera abrupta por este mismo factor. UMAP permite identificar picos genuinos incluso a distancias mayores.

Escalabilidad y automatización: UMAP presenta una escala aproximadamente lineal con respecto al tamaño del conjunto de datos. Al combinarse con HDBSCAN, un algoritmo de clustering que no requiere especificar el número de clústeres y que maneja el ruido, se habilita un proceso de clasificación totalmente automatizado (Suarez-Barrera *et al.*, 2025).

Para resumir, la fortaleza UMAP radica en su capacidad para preservar tanto las relaciones locales (entre vecinos cercanos) como las relaciones globales (estructura general del conjunto de datos). Manteniendo estas propiedades topológicas del conjunto de datos de alta dimensión en la proyección de baja dimensión, permite la proyección efectiva de la estructura subyacente a los datos, como la presencia de grupos asociados a diferentes neuronas en el contexto de la clasificación de espigas (Suarez-Barrera *et al.*, 2025).

Algoritmos de agrupamiento

Los algoritmos de agrupamiento son algoritmos de aprendizaje no supervisado que, como su nombre lo indica, agrupan automáticamente observaciones similares entre objetos o puntos de información en subconjuntos denominados clústeres o grupos, basándose en similitudes o patrones sin requerir información previa sobre las categorías presentes en los datos.

Cuando se obtienen las agrupaciones naturales en los datos, es posible inferir la existencia de categorías además de sus características, lo que permite descubrir relaciones subyacentes entre puntos de datos. Este análisis resulta útil para detectar rasgos comunes y para identificar anomalías, es decir, puntos de datos que no están contenidos dentro de un grupo o que presentan una baja afinidad entre ellos.

Dada la amplia variedad existente en algoritmos de agrupamiento, hay múltiples formas de definir un clúster, así como también existen distintos enfoques que se ajustan a los diferentes tipos de modelos. La elegibilidad de cada algoritmo depende de factores como el tamaño de los datos de entrada, el número de dimensiones y el número de clústeres dentro del conjunto de datos. La selección del método adecuado debe basarse en una evaluación cuidadosa de las características del problema específico.

En este estudio, se empleará un enfoque de agrupamiento basado en densidad, el cuál se enfoca en identificar áreas donde se concentran los puntos y donde están separados por áreas vacías o dispersas. A diferencia de los enfoques basados en la detección de un centroide, o algoritmos basados en la distribución; la agrupación basada en la densidad puede detectar grupos con diversas formas. Una utilidad de esta técnica es que puede distinguir entre los puntos de datos que forman parte de un clúster y aquellos que son valores atípicos (*What Is Clustering?*, 2024).

Un ejemplo de este enfoque es HDBSCAN al utilizar un enfoque basado en la densidad para agrupar datos y en la estabilidad de los conglomerados. El área inmediatamente alrededor del centroide se denomina vecindad y HDBSCAN intenta definir vecindades de agrupaciones que tengan la densidad especificada (*Benchmarking Performance and Scaling of Python Clustering Algorithms — hdbscan 0.8.1 documentation, s/f*).

Como podemos ver en la comparación de la Figura 15, HDBSCAN y DBSCAN, aunque tienen una complejidad inferior a $O(n^2)$, no pueden alcanzar $O(n \log(n))$ con esta dimensión del conjunto de datos y comienzan a curvarse hacia arriba de forma precipitada. Si bien K-medias obtiene un mejor resultado que HDBSCAN, este algoritmo busca grupos con forma circular, lo que no es aplicable a datos con la complejidad de los disparos neuronales. (McInnes, 2018)

Figura 15

Evaluación comparativa de complejidad para algoritmos de agrupamiento



Nota. Comparación de complejidad entre K-medias, DBSCAN, HDBSCAN y Fastcluster para el agrupamiento de un conjunto de datos generados con numpy, una librería de python de Leland McInnes, John Healy, Steve Astels 2016, *Benchmarking Performance and Scaling of Python Clustering Algorithms*

Patrón de diseño Modelo-Vista-Controlador

En programación, la arquitectura se refiere a la organización y estructura de un programa. Dicha arquitectura define cómo se dividen los componentes, como interactúan entre sí y cómo se relacionan con el entorno. Para desarrollar el programa de apoyo para inspección de potenciales de acción se utilizó la arquitectura Modelo-Vista-Controlador (MVC), un patrón de diseño fundamental que ha influido profundamente en el panorama del desarrollo de software desde su creación.

La arquitectura MVC fue creada específicamente para interfaces gráficas de usuario de escritorio, aunque ha evolucionado hasta convertirse en un marco de trabajo fundamental que guía el desarrollo de aplicaciones web y móviles. Su diferenciador radica en la división de la lógica de la aplicación en tres componentes interconectados: el modelo, la vista y el controlador, lo cual facilita no solo una mayor reutilización del código, si no también, el desarrollo paralelo entre equipos. Esta arquitectura permite a los desarrolladores gestionar aplicaciones complejas de manera eficiente, al dividirlo en componentes con propósitos específicos (Necula, 2024).

Si bien las aplicaciones con la arquitectura MVC están pensadas para ser escalables y fáciles de mantener, la inversión de tiempo inicial es mayor que el de otras arquitecturas al tener que elaborar un catálogo más amplio de clases en el programa. La MVC se destaca por su capacidad de enfocar cada parte para funciones específicas, lo que simplifica la gestión y las actualizaciones, algo crucial para adaptarse a los requisitos cambiantes a lo largo del tiempo (Necula, 2024).

El primer componente de este patrón de programación es el modelo, que contiene la esencia inmutable de la aplicación. En términos orientados a objetos, consistirá en el conjunto de clases que modelan y representan el problema a resolver. Se encarga de acceder a la base de

datos, realizar cálculos y aplicar las reglas establecidas para atender las necesidades de los usuarios (Deacon, 2009).

Para una situación determinada, en una versión determinada habrá una o más interfaces con el modelo, que llamaremos vista. Entrando en más detalle, las vistas consistirán en conjuntos de clases que proporcionan ventanas al usuario, dejando ver información contenida en el modelo, por ejemplo, interfaces gráficas de usuario (botones, entradas de texto, casillas de verificación, tablas, etc), interfaz de línea de comandos o interfaz de programación de aplicaciones (API por sus siglas en inglés).

El tercer componente, un controlador, es un objeto que permite manipular una vista, en otras palabras, el controlador gestiona la entrada, mientras que la vista gestiona la salida. Funcionando principalmente como un intermediario, el controlador funciona como vínculo bidireccional entre modelo y vista (Deacon, 2009).

Planteamiento del Problema

En la última década, ha cobrado un renovado interés el estudio de los microcircuitos neuronales, los cuales constituyen la base funcional del sistema nervioso y son fundamentales para comprender tanto los mecanismos normales de procesamiento neuronal como las alteraciones que subyacen a diversas enfermedades neurológicas, por ejemplo, la enfermedad de Parkinson.

Dentro de este contexto, el desarrollo y uso de técnicas de registro poblaciones, como microarreglos de electrodos, se ha expandido de manera significativa. Sin embargo, una limitación inherente al registro extracelular es la ausencia de información visual o morfológica directa de las neuronas que rodean a los electrodos. A diferencia de técnicas como la imagen de calcio con reporteros fluorescentes (EGFP, EYFP) o el registro de célula única, en los MEAs no se puede saber con certeza qué tipo de célula está generando un potencial de acción determinado.

En paralelo, en el laboratorio BL103 del Instituto de Fisiología Celular de la Universidad se ha estandarizado el uso de MEAs en estudios centrados en ensamblajes neuronales, redes funcionales y oscilaciones neuronales, incluyendo el análisis de sus dinámicas en respuesta a manipulaciones farmacológicas. No obstante, este tipo de análisis enfrenta una limitación metodológica importante: la incapacidad de clasificar con precisión los tipos neuronales involucrados en la actividad registrada, lo cual dificulta la interpretación funcional de la dinámica de red.

Justificación

La necesidad de desarrollar herramientas computacionales que permitan clasificar subtipos neuronales a partir de sus firmas eléctricas es evidenciada por la problemática descrita. Diversos estudios han demostrado que características como la duración, amplitud y simetría del potencial de acción pueden reflejar propiedades intrínsecas del tipo neuronal que la genera, abriendo la posibilidad de emplearlas como criterio de clasificación.

El avance en técnicas como la optogenética, así como el desarrollo de algoritmos de aprendizaje no supervisado, han hecho posible manipular selectivamente la actividad celular y automatizar procesos de reducción de dimensionalidad y agrupamiento con alta sensibilidad sin requerir etiquetas previas.

La combinación de estos métodos en líneas transgénicas bien caracterizadas permitiría construir un marco de referencia funcional basado en formas de onda clasificadas. Esto facilitaría la integración entre los datos fisiológicos y la identidad celular, fortaleciendo así el vínculo entre dinámica eléctrica registrada y la dinámica de la arquitectura del microcircuito.

Objetivos

Objetivo general

Desarrollar un software para la inspección, filtrado y clasificación de subpoblaciones neuronales a partir de registros electrofisiológicos optogenéticos, utilizando aprendizaje no supervisado para la reducción de dimensionalidad y el agrupamiento de formas de onda.

Objetivos específicos

Implementar un protocolo de activación selectiva de grupos neuronales específicos del estriado dorsolateral de ratones transgénicos utilizando estimulación optogenética sobre un microarreglo de electrodos *in vitro*.

Filtrar los registros crudos para identificar y extraer potenciales de acción neuronal extracelular, eliminando artefactos fotoeléctricos y ruido.

Desarrollar un software para inspeccionar visualmente y clasificar las formas de onda neuronales evocadas por un estimulación luminosa.

Aplicar técnicas de reducción de dimensionalidad y agrupamiento no supervisados para identificar subpoblaciones neuronales con base en las formas de onda neuronales.

Generar plantillas representativas de formas de onda para cada subpoblación neuronal registrada.

Validar el desempeño del enfoque no supervisado, tanto de reducción dimensional como de agrupamiento, comparando los grupos resultantes con las etiquetas conocidas de tipo neuronal, mediante métricas cuantitativas de concordancia.

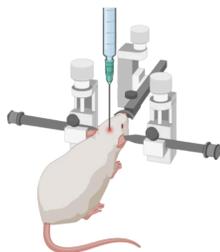
Metodología

Estrategia experimental

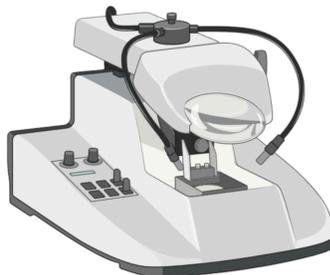
Figura 16

Flujo experimental

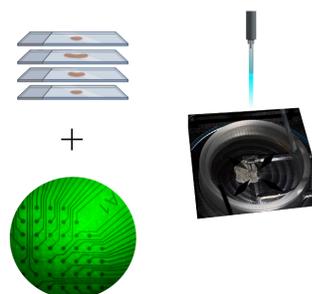
A) Transfección viral



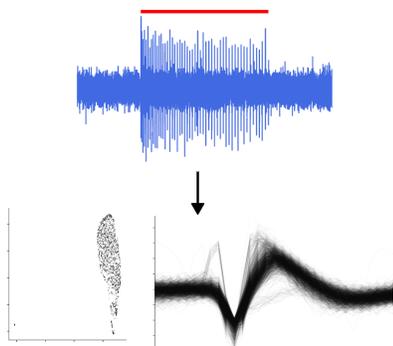
B) Obtención de rebanadas



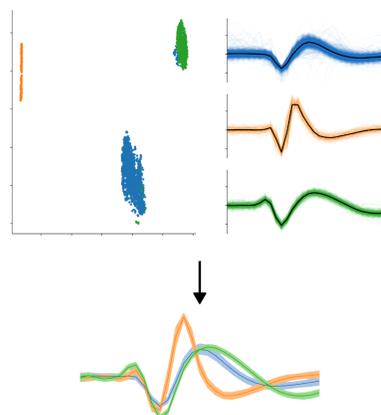
C) Adquisición de registros optogenéticos electrofisiológicos



D) Extracción de potenciales de acción y reducción dimensional



E) Clasificación de formas de onda por grupos y generación de plantillas



Nota. En esta imagen se muestran los principales pasos para obtener las plantillas. En el inciso A) se muestra un ratón al que se le está realizando una cirugía estereotáxica para realizar una transfección viral y que pueda expresar la opsina seleccionada. B) Representa la obtención de rebanadas, la imagen muestra un vibratomo, con el que se obtienen las rebanadas de cerebro. C) Para la adquisición de registros se toman las rebanadas y se colocan en las MEA, a las cuales se les estimula con luz azul para activar. D) De los registros electrofisiológicos obtenidos se deben extraer los potenciales de acción. E) Con los segmentos identificados se comparará si es posible clasificar los tipos neuronales por la forma de su potencial de acción.

El estudio de subpoblaciones neuronales mediante registros electrofisiológicos optogenéticos requirió el diseño de una estrategia experimental integral, que incluyó desde la selección de los animales hasta la preparación de rebanadas cerebrales y su posterior análisis en arreglos multielectrodo.

En primer lugar, la selección de los animales se cumplió según los protocolos experimentales, aprobados por el Comité Interno para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio del Instituto de Fisiología Celular (CICUAL-IFC JBD257-25, NOM-062-Z00-1999). Los ratones utilizados en este estudio se mantuvieron en el Bioterio del Instituto de Fisiología Celular, donde se garantizaron condiciones de ambiente libre de patógenos, temperatura controlada, ciclos de luz-oscuridad de 12 horas y acceso libre a alimento y agua.

Las líneas transgénicas utilizadas para la expresión específica de la opsina excitatoria se presentan en la Tabla 1.

Tabla 1

Información de las líneas de ratones utilizados.

Linaje neuronal	Proteína específica	Línea transgénica	Nombre stock
Neuronas de proyección de la vía indirecta (D2+)	Receptores D2/A2A	AdorA2a-Cre	AdorA2a-Cre (B6.FVB(Cg)-Tg(Adora2a-cre) KG139Gsat/Mmucd
Interneuronas colinérgicas (PV+)	Enzima ChAT	ChAT-IRES-Cre	B6;129S6-Chattm2(cre)Lowl/J
Interneuronas somatostatinérgicas (SOM+)	Enzima SST	SST-IRES-Cre	Sst-IRES-Cre (Ssttm2.1(cre)Zjh/J

Nota. Esta tabla muestra los tres vectores virales usado en los experimentos presentados en este trabajo

Para activar selectivamente la actividad de tipos neuronales específicos, se utilizaron vectores virales dependiendo de la línea transgénica empleada (D2+, PV+ o SOM+).

A los 30 días de vida, los ratones fueron anestesiados con isoflurano (1-2% en oxígeno medicinal, 1.0 [L/min]; Fluriso, VetOne) y montados en un instrumento estereotáxico con cabeza fija (el instrumento se puede ver en el inciso A de la Figura 16) para recibir una inyección

intracraneal de 324 [nL] de canalrodopsina-2 (ChR2, pAAV-EF1a-double floxed-hChR2(H134R)-EYFP-WPRE-HGHpA, Addgene) administrada a una tasa de 0.3 [μ L/min] mediante un instrumento Nanoject (Drummond Scientific) en el estriado dorsolateral (coordenadas: + 0.9 [mm] AP, -1.7 [mm] LM, and -2.8 [mm] DV desde el bregma). La temperatura corporal fue monitoreada durante todo el procedimiento y hasta la completa recuperación del animal. Tras la cirugía, los animales se recuperaron durante dos semanas, periodo en cual se aplicaron medidas de cuidado para minimizar el malestar del animal.

Una vez concluido el tiempo de recuperación, se procedió a la obtención de rebanadas cerebrales, este paso corresponde al inciso B de la Figura 16 donde se muestra un vibratomo. Dos semanas después de la transfección viral, los animales fueron anestesiados por vía intraperitoneal con una mezcla de ketamina/xilacina (85/15 [mg/kg]) y perfundidos transcardíacamente con una solución fría de sacarosa, oxigenada con carbógeno (95 % O₂, 5 % CO₂), compuesta por (en [mM]): 2.5 KCl, 28 NaHCO₃, 0.4 CaCl₂, 7 MgCl₂, 1.44 NaH₂PO₄, 7 dextrosa, 4.5 piruvato, 0.28 ácido ascórbico y 234 sacarosa (300 [mOsm/L], pH 7.4). El cerebro fue extraído cuidadosamente y se obtuvieron rebanadas parasagitales de 250 [μ m] de grosor, con una inclinación de 30 [°C], utilizando un vibratomo (Pelco, Ted Pella).

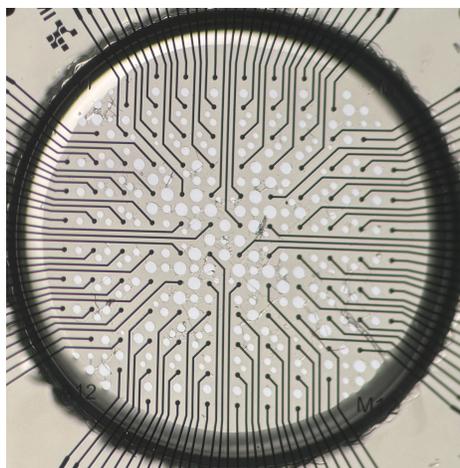
Las rebanadas fueron transferidas a una solución cerebroespinal artificial (aCSF) oxigenada, cuya composición fue (en [mM]): 126 NaCl, 3.5 KCl, 26 NaHCO₃, 1.5 CaCl₂, 1 MgCl₂, 1.2 NaH₂PO₄, 15 dextrosa, 0.2 tiourea y 0.2 ácido ascórbico (300 [mOsm/L], pH 7.4). Las muestras se mantuvieron a temperatura ambiente por al menos una hora antes de iniciar los experimentos.

Dado que las rebanadas contenían neuronas transfectadas con canalrodopsina-2, sensibles a la estimulación óptica, se resguardaron de la exposición directa a la luz durante el periodo de recuperación, a fin de evitar activaciones no deseadas previas al protocolo experimental.

Con las rebanadas preparadas, los registros extracelulares se realizaron utilizando un sistema MEA2100 (*Multichannel Systems*, Alemania), con las rebanadas posicionadas sobre una matriz de electrodos de nitruro de titanio de 12x12, con un total de 120 canales disponibles. Cada electrodo tiene un diámetro de 30 [μm], una separación de 250 [μm] y una impedancia inferior a 100 [$\text{k}\Omega$], vease la Figura 17 a continuación..

Figura 17

MEA



Nota. Fotografía del MEA utilizado en los experimentos. En la Figura se pueden apreciar la ubicación de los 120 electrodos en el centro del MEA.

Durante el registro, la cámara de registro fue perfundida de manera continua con solución cerebroespinal artificial oxigenada, a una tasa de 6 [mL/min], mediante una bomba peristáltica (PPS2, *Multichannel Systems*). La temperatura se mantuvo constante a 36 [$^{\circ}\text{C}$] utilizando un controlador térmico (TC02, *Multichannel Systems*).

La estimulación de las neuronas D2+, ChAT+ o SOM+ se realizó con un led azul de 473 [nm] (*Doric Lenses*), acoplado al sistema de adquisición y sincronizado por pulsos TTL, lo que

permitió la activación precisa de las poblaciones neuronales que expresan canalrodopsina-2. Los datos fueron digitalizados por el sistema a 10[kHz]. El principal pulso TTL fue de 10[s], en el cual los primeros nueve segundos se mantuvieron sin estímulo luminoso, seguidos por un segundo con la luz completamente encendida. El tratamiento de las rebanadas corresponde al inciso C de la Figura 16 que muestra una rebanada colocada en un MEA.

Además del pulso seleccionado, se realizaron experimentos con distintas configuraciones de pulsos TTL. Sin embargo, el patrón que produjo un mayor número de disparos registrados fue aquel de un segundo encendido y nueve apagados. En todo caso, los pulsos iniciaron con un periodo oscuro de nueve segundos, seguidos de una secuencia variable, la cual se detalla en la Tabla 2. En general, la estimulación se aplicó después de este periodo de nueve segundos de descanso.

Extracción de potenciales de acción

Como se mencionó previamente en (Representación y análisis de formas de onda neuronales), la clasificación de disparos implica una serie de pasos de procesamiento para extraer y caracterizar la actividad en un registro extracelular (inciso D Figura 16).

Tabla 2

Estructura de pulsos TTL

Repeticiones	Tiempo encendido [ms]	Tiempo apagado [ms]
1	5	54
5	2	198
5	50	150
5	100	100
20	2	48
20	25	25
40	12	13
60	2	14
60	6	6
60	8	8

Nota. Estructura de las diferentes secuencias probadas en experimentos

En los experimentos, las señales se grabaron en dos frecuencias distintas: 10[kHz] y 20[kHz]. A todas se les aplicó un filtro pasa-bandas Butterworth de 4° orden, con un rango de 300[Hz] a 3000[Hz], específicamente se usó la función `butter` de la librería `scipy.signal`.

La detección de potenciales de acción se realizó usando un umbral de 6.2 veces la desviación estándar del ruido, en línea con prácticas reportadas en la literatura donde se recomienda un rango entre 3 y 7 veces la desviación estándar para asegurar un balance entre sensibilidad y rechazo de ruido (Fried et al., 2014; Marques-Smith et al., 2018; Yger et al., 2018). Este valor, al depender de cada señal, fue calculado individualmente para cada registro, variando según el nivel de ruido presente en cada electrodo. Con ello se buscó eliminar el ruido y preservar la mayor cantidad de disparos posible, aunque no se excluyeron los artefactos provocados por el efecto fotoeléctrico.

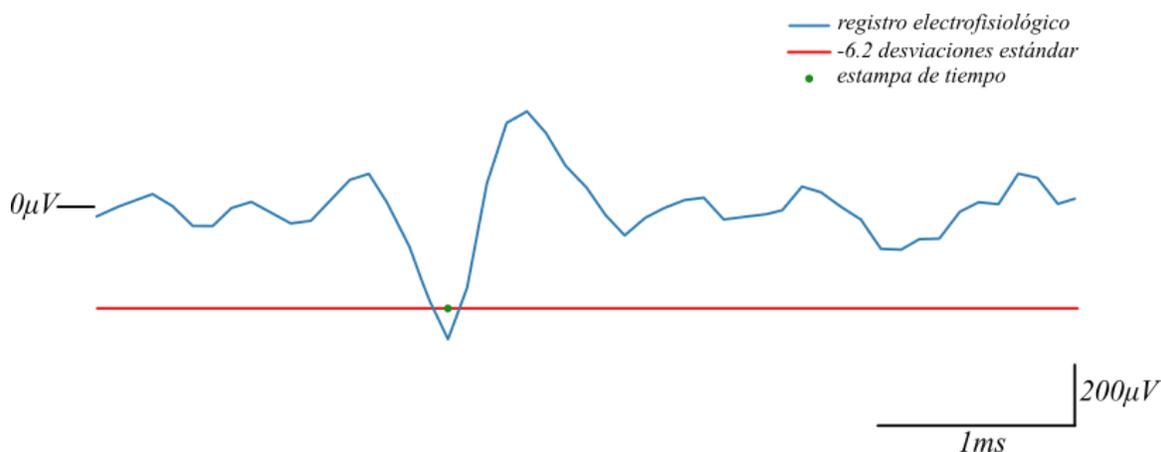
Una vez definido el umbral, el siguiente paso es identificar los picos que lo sobrepasan. Para su análisis, se recortan y se alinean los segmentos de la señal del electrodo a partir del punto más bajo detectado, el cual se tomó como referencia temporal del disparo. A partir de este punto se crea una ventana de tiempo que incluye un milisegundo antes de la estampa de tiempo (10 puntos para una tasas de adquisición a 10[kHz] y 20 puntos para 20[kHz]), y dos milisegundos posteriores (20 puntos para 10[kHz] y 40 para 20[kHz]).

Dado que la etapa de despolarización es rápida y muy similar entre neuronas, no se requiere un intervalo amplio para ver el evento completo. En contraste, la fase de repolarización presenta mayor variabilidad entre tipos celulares y requiere más tiempo, por lo que el número de puntos guardados se duplica para esta segunda parte del segmento después de la estampa de tiempo. Contando el punto central, el número total de puntos asciende a 31 en caso de las señal grabadas a 10[kHz] y a 61 en las señales a 20[kHz].

En la Figura 18, se muestra una señal (color azul), donde la estampa de tiempo (punto en color verde) coincide con el punto más bajo de la sección de la señal inferior al umbral (línea en color rojo). Esta elección de la estampa de tiempo, además de registrar el momento de detección, facilita la alineación precisa de las formas de onda.

Figura 18

Procedimiento de recorte y alineación



Nota. En esta imagen se muestra la selección del punto central para el alineamiento de los potenciales de acción. En color azul podemos ver el registro electrofisiológico, en rojo el umbral para detección de disparos y en verde el punto más bajo de la señal debajo del umbral

Aunque es común alinear los disparos neuronales en el instante en que la señal de voltaje cruza el umbral establecido para la detección de picos, este método suele presentar problemas. Por ejemplo, en la Figura 18, si se tomaran como estampas de tiempo los cruces de umbral, se obtendría dos puntos distintos: el primero cuando la señal de voltaje decrece y el segundo cuando se da la fase de repolarización, lo que provoca una duplicidad de la forma de onda con un desfase (Buccino *et al.*, 2022).

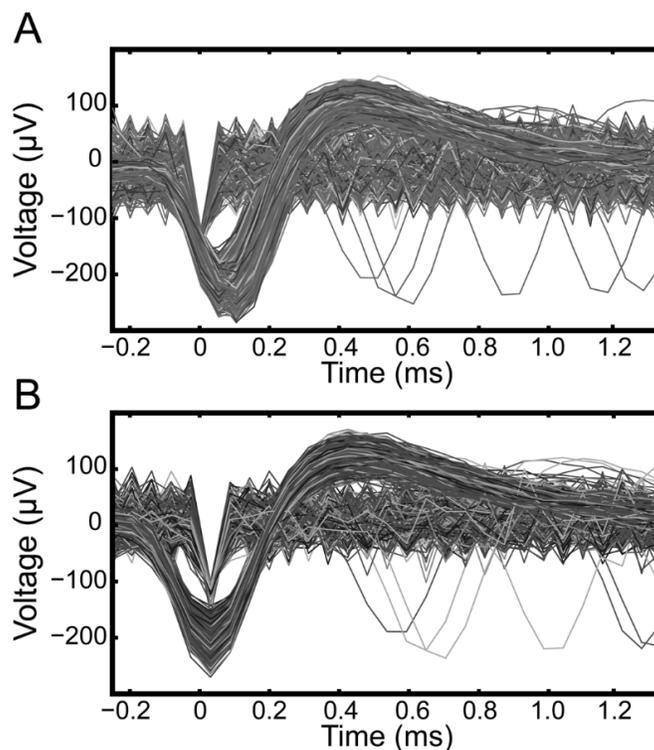
Una alternativa consiste en colocar un punto de alineación más sólido empleando una función que tome en cuenta de toda la forma de onda, como su centro de masa. Con las formas de onda alineadas, los datos pueden reducirse para conservar la dimensionalidad original de las formas de onda de los picos. En el presente trabajo, la alineación de formas de onda se realizó

tomando como referencia el pico principal para alinear todas las formas de onda (Buccino *et al.*, 2022).

Un ejemplo de la alineación usando este método lo podemos encontrar en el artículo “Spike sorting: new trends and challenges of the era of high-density probes”. En la Figura 19 en el inciso A) se muestran segmentos sin alinear, cuya detección se basa en la superación del umbral. En el inciso B), las formas de onda alineadas permiten apreciar con mayor claridad las fases de despolarización y repolarización. Cabe señalar que, en este caso, las diferencias entre los dos tipos de formas de onda son evidentes incluso sin aplicar una reducción dimensional.

Figura 19

Visualización de candidatos de disparos neuronales



Nota. A) Formas de onda, antes del alineamiento. B. Formas de onda después del alineamiento.

Adaptado de Figure 1.2 de Alessino Buccino, 2022, Spike sorting: new trends and challenges of the era of high-density probes.

Análisis

Para la etapa de reducción dimensional de las formas de onda ya recortadas se usará la librería *umap-learn* principalmente porque está diseñada para trabajar con conjuntos de datos no lineales y grandes. Algunos de los parámetros más importantes en la función principal de la librería utilizada se describen a continuación. *n_neighbors*: corresponde al tamaño de la vecindad local (número vecinos), este término es utilizado para la aproximación de los datos. Los valores más grandes dan como resultado vistas más globales del *manifold*, mientras que los valores más pequeños hacen que se conserven más datos locales, el rango de valores puede estar entre 2 y 100, en el presente trabajo se usará 70 como valor por defecto

n_components: indica la dimensión del espacio resultante. En este trabajo se tomará por defecto 2.

metric: la métrica a utilizar para calcular distancias en un espacio de alta dimensión. Si se pasa una cadena, debe coincidir con una métrica predefinida válida. Si se requiere una métrica general, se puede proporcionar una función que tome dos matrices 1d y devuelva un flotante. Por motivos de rendimiento, es necesario que sea una función numérica, la métrica usada en este caso será “manhattan”

n_epochs: el número de épocas de entrenamiento que se utilizarán para optimizar la incrustación de baja dimensión. Los valores más altos dan como resultado incrustaciones más precisas. Si no se da ningún valor se seleccionará un valor basado en el tamaño del conjunto de datos de entrada, pero en este caso se usó un valor de 800.

min_dist: la distancia mínima efectiva entre los puntos. Los valores más pequeños darán como resultado una incrustación más agrupada, en la que los puntos cercanos del colector se

dibujan más juntos, mientras que los valores más grandes darán como resultado una dispersión más uniforme de los puntos. Por defecto con valor de 0.1

random_state: si se indica un número entero, este parámetro es la semilla utilizada por el generador de números aleatorios; Si es una instancia, entonces es el generador de números aleatorios; si no se especifica este parámetro, el generador de números aleatorios utilizada la función random de la librería de numpy. Para este trabajo se usará la opción de la semilla con el número 42, esto con el fin de que los resultados sean constantes entre una ejecución y otra.

outlier_disconnection: es el número de desviaciones estándar que usamos como límite para desconectar vértices. El valor recomendado es 0 (que se usó en este trabajo), si requiere un número mayor a cero, la documentación recomienda un valor de al menos 6, cualquier valor inferior desconectará demasiados vértices y estropeará la incrustación(*Basic UMAP Parameters — umap 0.5.8 documentation, s/f*).

Para el caso del uso de HDBSCAN tiene un gran número de parámetros que se pueden configurar durante la inicialización, en la práctica hay muy pocos parámetros que tengan un efecto significativo en la agrupación.

El parámetro principal que afecta a la agrupación resultante es *min_cluster_size*. Lo ideal es que este sea un parámetro relativamente intuitivo al seleccionarlo: se configura con el tamaño mínimo de agrupación que desee considerar como un clúster, en este trabajo usaremos el valor de 10 para este parámetro.

La reducción dimensional se debe aplicar a cada electrodo de cada experimento utilizado, y posteriormente se debe hacer una inspección manual para corroborar la agrupación.

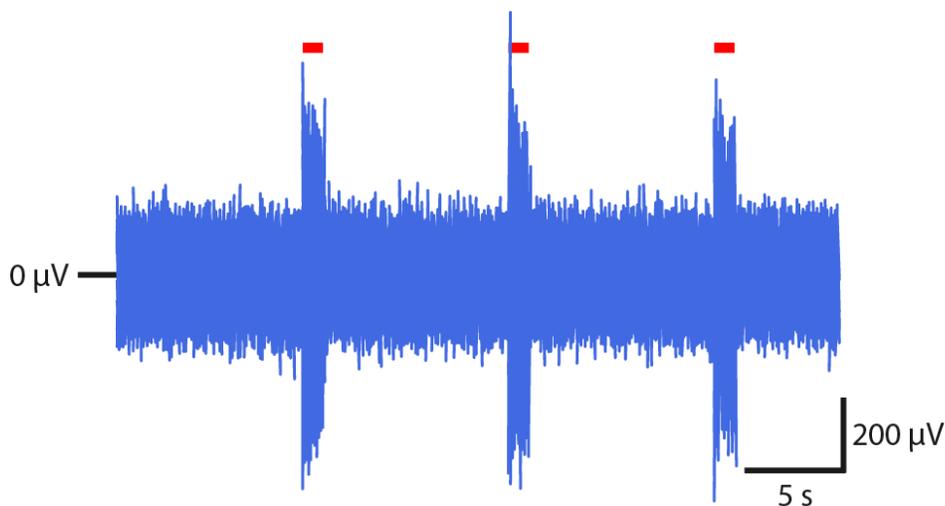
Resultados

Detección y limpieza de potenciales de acción extracelular

En la Figura 20 se observa un extracto de tiempo de 35[s] del experimento con neuronas SOM+. En color azul está la señal adquirida por un electrodo con un filtro pasa-bandas de 300-3000[Hz] Butterworth de 6° orden, mientras que la señalización en rojo corresponde a los intervalos en los que se aplicó el estímulo luminoso. Se observa un incremento en la señal del voltaje durante la presencia de luz, este cambio en la señal sugiere que la canalrodopsina se expresó en una de las neuronas cercanas al área de registro. Este patrón de respuesta se mantuvo de forma consistente a lo largo de todo el experimento. En este caso la secuencia que sigue la luz es: 9[s] apagada y 1[s] encendida.

Figura 20

Respuesta a estímulos luminosos



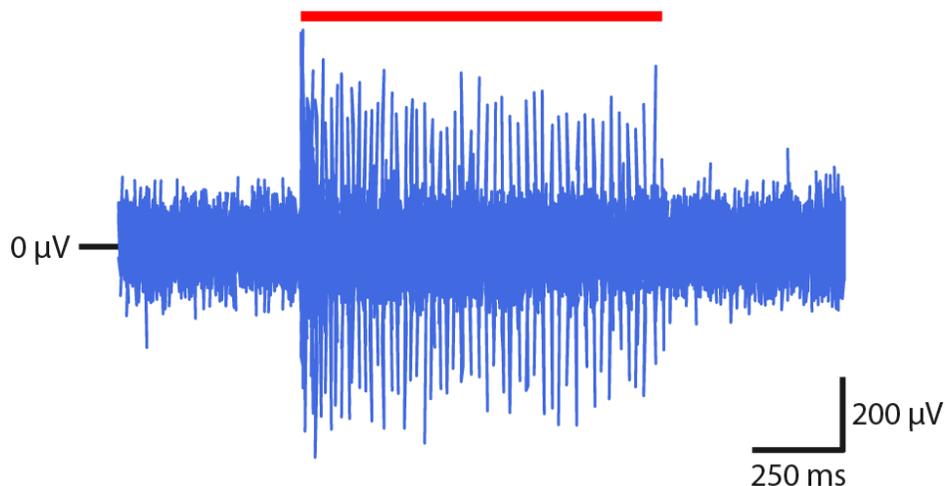
Nota. En la figura se ven los primeros 35[s] del electrodo C5 del experimento de neuronas SOM+, marcado en rojo tenemos la actividad del led azul usado para estimular la rebanada de cerebro.

Al hacer un acercamiento a la zona donde estuvo presente el estímulo luminoso (Figura 21), se observa cómo los disparos solo se presentan en dicho periodo. El aumento en la cantidad

de los potenciales de acción no se da al azar, pues dicho comportamiento sólo se presenta dentro del tiempo del estímulo luminoso activo.

Figura 21

Respuesta a estímulos luminosos (acercamiento)



Nota. Se muestra el rango de tiempo de 8.5[s] a 10.5[s] del electrodo C5 del experimento de neuronas SOM+, marcado en rojo tenemos la actividad del led azul usado para estimular la rebanada de cerebro.

Durante el experimento, se registraron en el protocolo experimental los electrodos que presentaron una respuesta positiva a la estimulación lumínica. Esta información permite enfocar el análisis en aquellos electrodos que, de acuerdo con la línea transgénica de ratón empleada, podían contener espigas provenientes de neuronas del tipo que se estuviera estudiando. A cada archivo en crudo se le asignó un umbral negativo (descrito en Metodología) para la detección de disparos. Los electrodos en los que no se detectó un potencial de acción no fueron incluidos en el archivo segmentado.

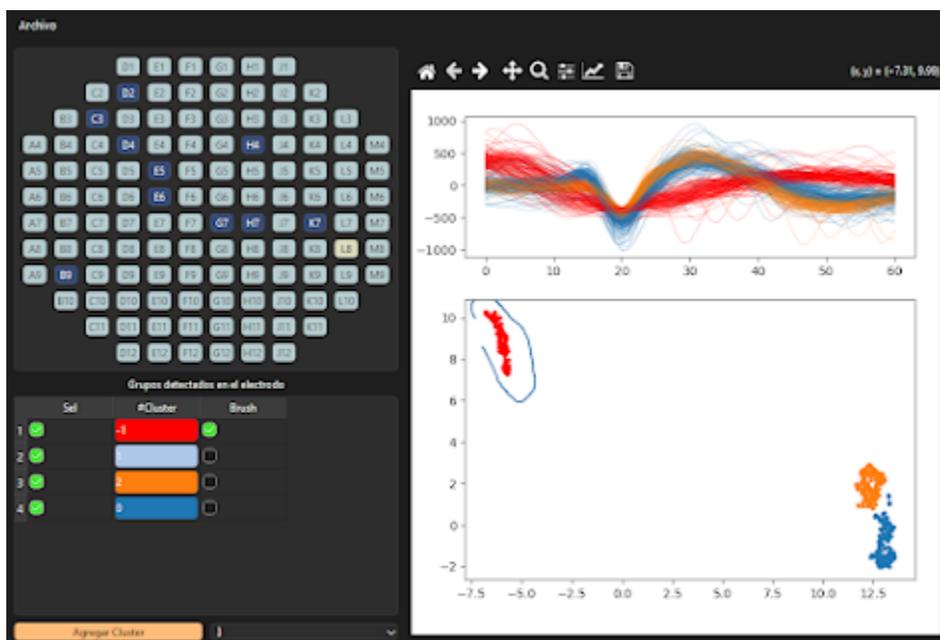
Posteriormente, se cuantificó la cantidad de disparos que superaron el umbral por electrodo de interés y se procedió a la limpieza de los segmentos de las espigas de cada electrodo, eliminando el ruido y todo aquello que no se considere un potencial de acción neuronal, incluyendo los efectos fotoeléctricos producidos por la luz sobre los electrodos de

adquisición. Los últimos segmentos seleccionados serán los que conformarán la base para las plantillas de formas de onda de cada tipo neuronal.

Para la inspección manual de cada electrodo se desarrolló una herramienta que facilita la visualización y limpieza de los grupos (Figura 22). En este programa se cargan las formas de onda detectadas en cada uno de los electrodos, la reducción dimensional y un cluster pre asignado por el algoritmo HDBSCAN. El objetivo principal de este programa es facilitar la inspección de la calidad de la separación de formas de onda en cada electrodo.

Figura 22

Interfaz de programa para inspección manual



Nota. interfaz de usuario que muestra el funcionamiento de la actualización al cambiar el grupo al que pertenecen las formas de onda

La depuración de valores atípicos y artefactos, así como la verificación de la separación de grupos, requiere la visualización simultánea de formas de onda y de sus proyecciones en la reducción dimensional. El programa facilita esta tarea al emplear un esquema de colores que identifica cada grupo tanto en la nube de puntos como en las formas de onda. Además, permite

modificar manualmente la asignación de un disparo a un grupo específico en la representación dimensional y observar el cambio del disparo correspondiente de manera inmediata.

Reducción dimensional

Para ilustrar los resultados de la reducción dimensional se tomará como ejemplo el procesamiento del experimento de neuronas SOM+ que tiene un pulso TTL de 9[s] apagado y 20 repeticiones de: 25[ms] encendido y 25[ms] apagado. Durante el protocolo experimental se anotaron los siguientes electrodos como los más reactivos al estímulo de luz, los cuales se pueden consultar en la Tabla 3.

Tabla 3

Número de disparos detectados por electrodo

Electrodo	Núm. Espigas [1]
C5	1104
D5	53
E3	171
E4	146
E7	1754
L8	1466
L10	457
L6	1683

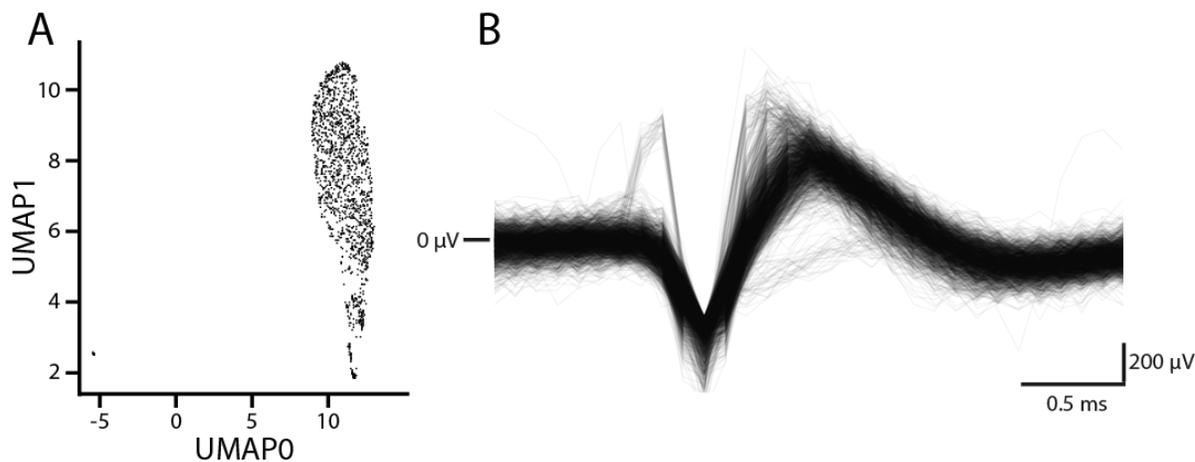
Nota. Conteo de disparos por electrodo de experimento de neuronas tipo SOM+.

Del electrodo E7 se tomaron todas los disparos y se computó su reducción dimensional utilizando UMAP. En la Figura 23, se muestran las formas de onda y su reducción dimensional. En los perfiles de los segmentos obtenidos a simple vista se pueden identificar al menos dos grupos de espigas putativas en la reducción dimensional. El grupo más separado se encuentra en la esquina inferior izquierda y corresponde posiblemente efecto fotoeléctrico en la señal o un

posible artefacto, como se puede observar es el más alejado de la aglomeración de puntos más grande del lado derecho.

Figura 23

Segmentos y reducción dimensional.



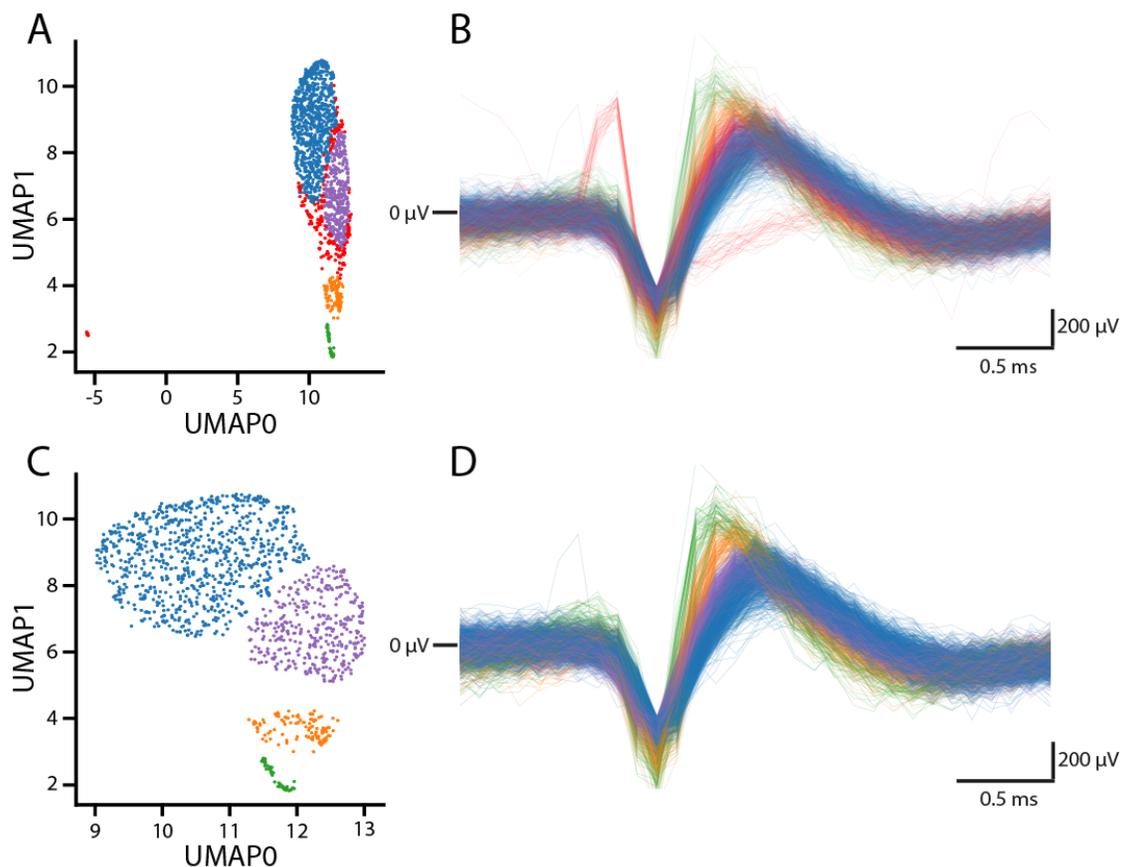
Nota. En la figura se ven todos los segmentos que superaron el umbral para ser considerados disparos del electrodo E7 del experimento de neuronas tipo SOMA, a la izquierda se encuentra la reducción dimensional de los electrodos presentados del lado derecho.

Con respecto a la segunda nube (lado derecho), se notará que está subdividida en al menos tres grupos. Tradicionalmente, en este punto la separación depende del experimentador y en los grupos que se vean en la proyección de la reducción dimensional, en este caso se usará un algoritmo de “agrupamiento espacial jerárquico espacial basado en la densidad de aplicaciones con ruido” (HDBSCAN por sus siglas en inglés) para dar una propuesta de la formación de grupos.

Este procesamiento se realizó sobre todos los electrodos en el experimento de tipo neuronal SOM+ y una vez que se obtuvo la reducción dimensional, se aplicó el algoritmo de agrupamiento HDBSCAN para formar grupos con base en la densidad de la nube de puntos, quedando como en la Figura 24.

Figura 24

Presentación del resultado de aplicar HDBSCAN.



Nota. A) En este inciso se colocan todos los segmentos y su reducción como en la figura anterior con color, cada color corresponde al grupo que se determinó que pertenecía, tenemos verde(0), azul(1), naranja(2), morado(3) y rojo claro(-1) que corresponde a los segmentos que no entraron en ningún cluster. B) En la segunda figura ya no se grafican los segmentos descartados.

Como se aprecia en el inciso A) de la Figura 24 hay algunas formas de onda que se descartan de los grupos (puntos y segmentos en rojo) asignándoles el grupo -1. Esta decisión se basa en que dicho grupo de formas de onda no presenta el comportamiento típico de los potenciales de acción extracelular, los cuales se caracterizan por una fase inicial de hiperpolarización negativa, por el contrario, estos segmentos presentan un aumento que difiere de la forma promedio, veáse el inciso B de la Figura 24. Además, al hacer el recuento de las formas de onda con el perfil inusual, se observó que su número coincidía con la cantidad de

trenes de pulsos enviados a la rebanada, y no con el número total de pulsos. Esto sugiere que el comportamiento de este grupo de formas de onda corresponde al efecto fotoeléctrico inducido por el inicio del estímulo óptico sobre los electrodos. Además en la Tabla 4 se observa que las estampas de tiempo son regulares y ocurren siempre al inicio del periodo donde el led esta encendido.

Tabla 4

Estampas de tiempo de los artefactos fotoeléctricos detectados.

Núm. de artefacto	Estampa de tiempo [s]	Núm. de artefacto	Estampa de tiempo [s]	Núm. de artefacto	Estampa de tiempo [s]
1	9.0012	21	219.0012	41	419.0012
2	19.0012	22	229.0012	42	429.0012
3	29.0012	23	239.0012	43	439.0012
4	39.0012	24	249.0012	44	449.0012
5	59.0012	25	259.0012	45	459.0012
6	69.0012	26	269.0012	46	469.0012
7	79.0012	27	279.0012	47	479.0012
8	89.0012	28	289.0012	48	489.0012
9	99.0012	29	299.0012	49	499.0012
10	109.0012	30	309.0013	50	509.0012
11	119.0012	31	319.0012	51	519.0012
12	129.0012	32	329.0012	52	529.0012
13	139.0012	33	339.0012	53	539.0012
14	149.0012	34	349.0012	54	549.0012
15	159.0012	35	359.0012	55	559.0012
16	169.0012	36	369.0012	56	569.0012
17	179.0012	37	379.0012	57	579.0012
18	189.0012	38	389.0012	58	589.0012
19	199.0012	39	399.0012	59	599.0012
20	209.0012	40	409.0012		

Nota. Se uso los artefactos aislado con UMAP en el electrodos E7 del experimento de las neuronas SOM+.

Para el inciso B se muestran los grupos no descartados, con el fin de apreciar mejor las diferencias entre los perfiles entre cada grupo, podemos notar que entre más parecidas son las formas de onda, la distancia en la reducción dimensional es menor. Por ejemplo, las nubes de puntos del cluster rojo y naranja se encuentran cerca, incluso con algunos puntos aparentemente

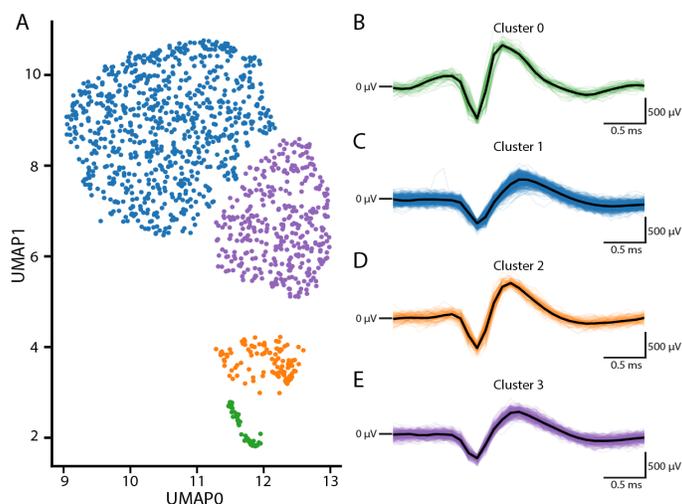
sobrepuestos, y las formas de onda en las gráficas están prácticamente superpuestas. Lo mismo ocurre con los grupos azul y verde, al ser parecidos entre sí se encuentran cerca en la reducción dimensional.

Una vez filtrados los segmentos y separando los grupos encontrados en el experimento, podemos observar de mejor manera tanto las diferencias entre cada grupo distante, como las similitudes entre los grupos que están más cerca.

En la Figura 25, podemos observar los segmentos de cada grupo de forma aislada con su respectivo promedio (trazo negro). Las diferencias detectadas entre cada grupo pueden ser muy finas como es el caso del grupo azul y morado. Esta sensibilidad en la reducción dimensional hace posible el aislamiento de la forma de onda de dos neuronas en registradas en el mismo electrodo.

Figura 25

Visualización de grupos separados.

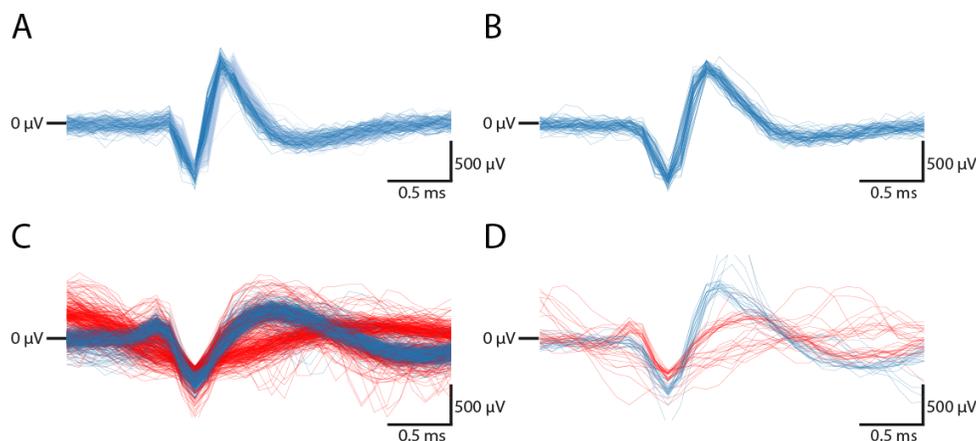


Nota. Presentación de cluster aislados y cálculo de promedio, experimento para SOM+ electrodo E7.

Este proceso se realizó para los experimentos que compartían el mismo tren de pulsos pero con diferente tipo neuronal y se seleccionaron aquellos perfiles con la mayor amplitud, algunos ejemplos de la selección se pueden ver en la Figura 26.

Figura 26

Segmentos de neuronas ChAT y D2 seleccionados.



Nota. Experimento de ChAT+, electrodo B8 en el inciso A) y electrodo D8 en el inciso B), para tipo D2+, electrodo L8 en el inciso C) y electrodo G6 en el inciso D).

Generación de Plantillas

Para obtener una muestra representativa de cada tipo neuronal se seleccionaron dos electrodos por experimento. En la siguiente tabla se presentan los electrodos y el número de disparos por electrodo, cabe aclarar que los segmentos descartados pertenecientes al grupo grupo -1, que se consideran valores atípicos, no se tomaron en cuenta para el conteo presentado en la Tabla 5.

A los datos recabados de los tres diferentes tipos, se les debe aplicar una nueva reducción dimensional para comprobar si es posible separar los segmentos según su tipo neuronal teniendo en consideración sólo su forma de onda. En Figura 27 se observan las formas de onda contabilizadas en la tabla anterior y su reducción dimensional. En el inciso A) (la sección de la reducción dimensional) hay tres nubes de puntos muy bien separadas, lo que indican tres formas

de onda generales que predominan en los datos, en el inciso B) (aún con los datos sin identificación) se puede apreciar la separación del perfil de las formas de onda, aunque solo se alcanzan a distinguir dos grupos, uno con menos miembros que son espigas más breves y podemos ver su fase de hiperpolarización adelantada al grupo que tiene más disparos.

Tabla 5

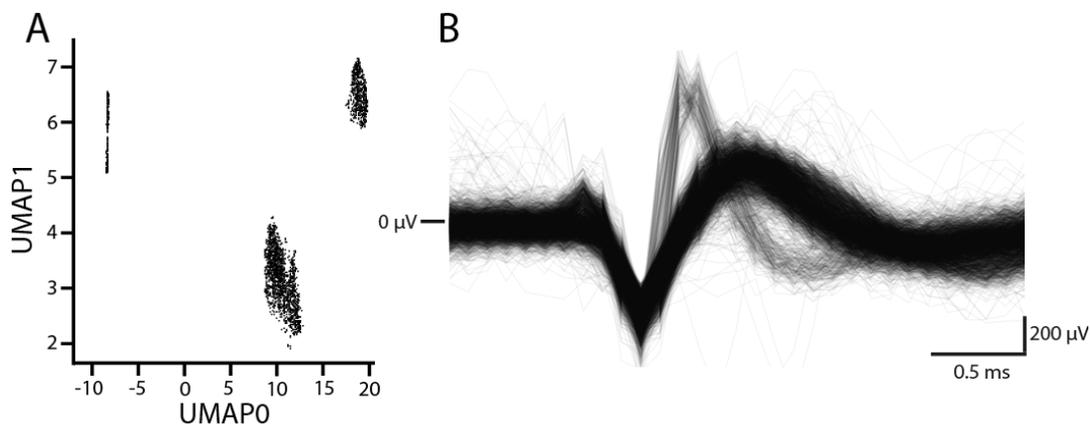
Selección de disparos por experimento para generación de plantillas.

Tipo de neurona	Electrodos	Número de disparos.
SOMA	L8	573
SOMA	L6	786
ChAT	B8	190
ChAT	D8	73
D2	G6	619
D2	L8	21

Nota. Formas de onda usadas para la generación de plantillas

Figura 27

Segmentos graficados con su respectiva reducción dimensional.



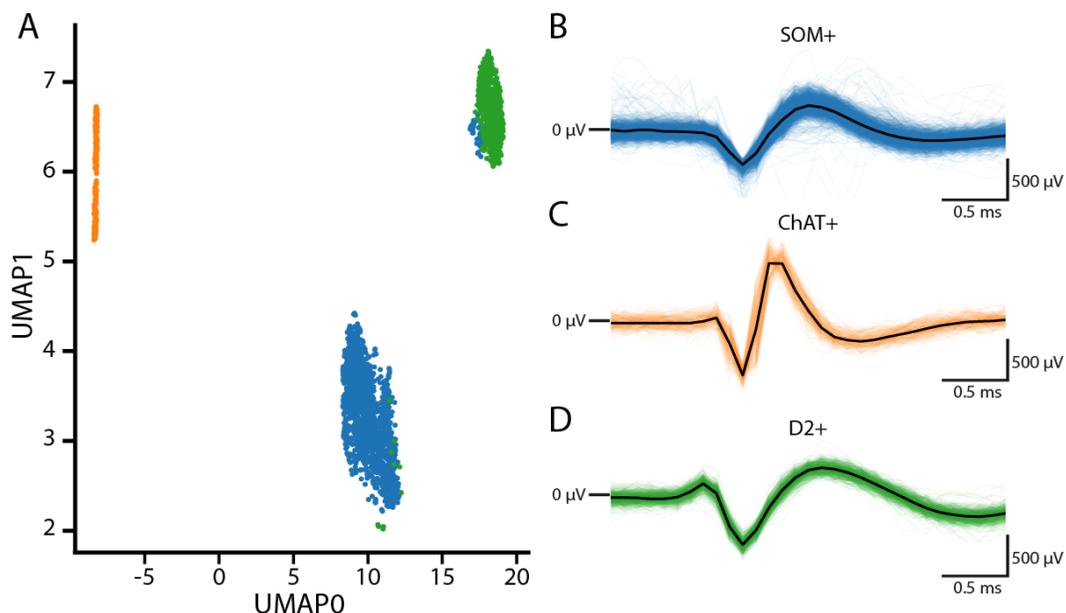
Nota. Series de voltaje de todos los segmentos utilizadas como datos crudos para la generación de plantillas

En la Figura 28 se clasifica la forma de onda según el archivo del que proviene. En azul se colocan los segmentos que pertenecen al experimento de las SOM+, en naranja ChAT+ y en

verde D2+. En la reducción dimensional cada grupo tiene en su mayoría un solo tipo neuronal, aunque llegan a verse puntos mezclados entre las nubes de puntos de SOM+ y D2+. La agrupación errónea ocurre con formas de onda que pueden llegar a ser similares.

Figura 28

Segmentos graficados con su respectivo grupo



Nota. Se presenta la reducción dimensional únicamente de las plantillas y sus promedios basándose en el experimento al que pertenecen

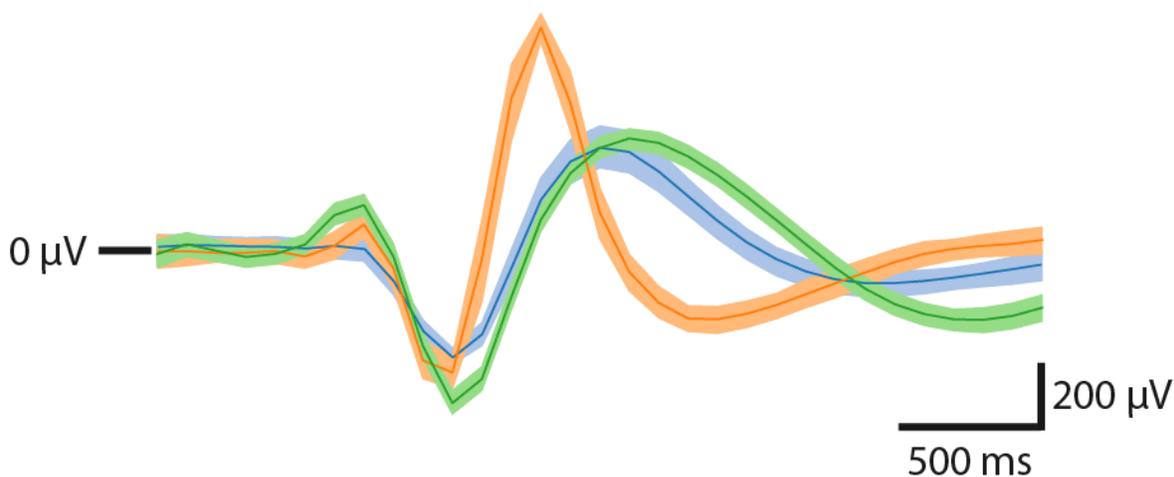
Después de obtener y catalogar las espigas, se obtienen las siguientes formas de onda. En la Figura 29 se muestra el promedio de todos los segmentos catalogados como SOM+, ChAT+ o D2+, además se grafican los percentiles 25 y 75 alrededor de la media. Se puede notar una diferencia evidente entre las formas de onda de las ChAT+ y los otros dos grupos. Entre D2+ y SOMA+ la diferencia es más notoria en la velocidad de la repolarización.

Validación del funcionamiento

Para validar el funcionamiento del algoritmo, se realizó una medición del desempeño de las plantillas obtenidas. A la reducción dimensional de las plantillas se le aplicó el algoritmo HDBSCAN, el resultado se puede ver en la Figura 30, para obtener un número de cluster con base a la nube puntos a la que pertenecía.

Figura 29

Plantillas y Percentiles 25 al 75



Nota. Con base en el promedio de cada plantilla se presentan las plantillas junto con los percentiles 25 y 75

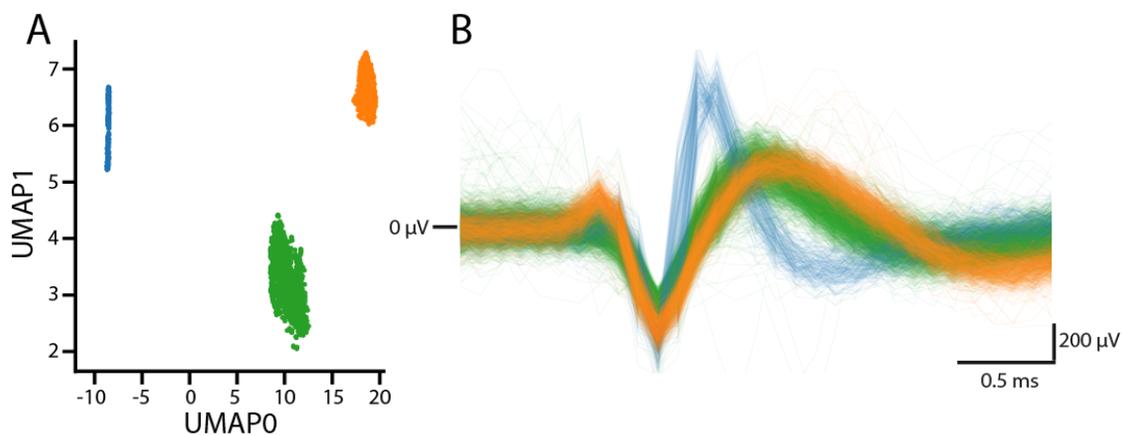
La información de partida es el agrupamiento hecho a las plantillas, para compararlo con la procedencia de cada forma de onda, de esta forma se tiene una medida de la cantidad de disparos que se encuentran agrupadas de forma incorrecta.

La función *normalized_mutual_info_score* de la librería *sklearn.metrics* es una normalización de puntuación de información mutua para escalar los resultados entre 0 (sin información mutua) y 1 (correlación perfecta). Si se tienen las etiquetas de los tipos de neuronas originales, se puede comparar contra los grupos procedentes del agrupamiento del HDBSCAN. En este caso el resultado fue de 0.8931.

Por otra parte, el coeficiente Silhouette mide lo bien separados que están los grupos, se calcula utilizando la distancia media entre las nubes y la distancia media entre los grupos más cercanos para cada muestra. El mejor valor es 1 y el peor -1. Los valores cercanos a 0 indican que las nubes se superponen, los valores negativos indican generalmente que una muestra ha sido asignada a un cluster equivocado, ya que otro cluster diferente es más similar. En este caso el valor de este coeficiente para las plantillas generadas dio de 0.87.

Figura 30

Agrupación de plantillas mediante HDBSCAN



Nota. El agrupamiento se hace sobre la reducción dimensional de las espigas de las plantillas.

Como una segunda validación de la robustez de los datos de las plantillas de las formas de onda obtenidas para los grupos SOM+, ChAT+ y D2+, se realizaron nuevas iteraciones modificando los parámetros `rando_state`, `neighbours`, `min_cluster_size`, obteniendo como resultados los siguientes:

Tabla 6

Sensibilidad de reducción dimensional y agrupamiento.

rando_state	neighbours	min_cluster_size	Normalized Mutual Score	Silhouette
18	35	100	0.8926	0.8494
20	40	100	0.8273	0.8411
21	30	90	0.7840	0.8615
10	45	110	0.8889	0.8661
60	50	120	0.7861	0.8462

Nota. Variación de parámetros de UMAP y HDBSCAN para probar la estabilidad de los algoritmos.

Conclusiones

El uso de técnicas de aprendizaje no supervisado para la reducción de dimensionalidad y el agrupamiento de formas de onda demostró ser una estrategia adecuada para el análisis de registros bioeléctricos. En particular, la implementación de UMAP permitió preservar los detalles locales de las formas de onda, lo que a su vez facilitó la identificación de subpoblaciones neuronales en el estriado dorsolateral de ratones transgénicos.

La combinación de estimulación optogenética y registros con arreglos de multi-electrodos (MEA) probó ser una metodología eficaz para la clasificación de tipos neuronales. Si bien los MEA ofrecen la ventaja de registrar la actividad de múltiples neuronas en una región completa, presentan una limitación importante: la falta de especificidad para diferenciar los tipos celulares a nivel individual. La optogenética contribuye a superar esta restricción al permitir la activación de subpoblaciones neuronales de interés, proporcionando así una verificación directa de los tipos celulares registrados y posibilitando un análisis más preciso. Una limitación inherente a esta combinación es la generación de artefactos fotoeléctricos.

Asimismo, se llevaron a cabo procesos automatizados para la extracción de potenciales de acción, de neuronas putativas, de los registros electrofisiológicos optogenéticos, obtenidos en la experimentación. Los pasos incluyeron: filtrado, detección, alineación y limpieza. Para el último paso se redujo la necesidad de la inspección manual, ya que se usó una primera reducción dimensional sobre los segmentos de cada electrodo, lo que aseguró que los potenciales de acción extraídos para el análisis posterior estuvieran limpios del ruido de fondo y fueran confiables.

Al conjunto de disparos depurado, se les una segunda reducción dimensional UMAP y el algoritmo de agrupamiento HDBSCAN para obtener grupos basados unicamente en sus formas de onda, la elección de el uso de reducción dimensional no lineal permitió conservar detalles locales y generales, que representa una gran ventaja ya que en otras técnicas se tienen a conservar solo los detalles más generales de los datos (como en el caso de PCA) .

De cada grupo se obtuvo una forma de onda característica(resultado de promediar todas las formas de onda) asociado a un tipo neuronal. Con la ampliación de la base de datos de formas de onda y la validación del funcionamiento bajo distintas condiciones experimentales, sería factible identificar, con un alta probabilidad, un tipo neuronal específico incluso en registros realizados con MEA sin opsinas.

Como un primer paso para la futura aplicación de la base de datos planteada, se validó que la agrupación fuera correcta para esto se comparó la etiqueta del grupo asignada contra el experimento de procedencia, ya que cada experimento solo contiene un tipo neuronal por la expresión de la opsina, la correlación grupo-experimento fue del 89%.

Dicho desempeño aplicado para la clasificación neuronal en registros sin opsinas, como se discute en la introducción y el marco teórico, tendría un valor significativo para el estudio de un tipo neuronal específico dentro de microcircuitos neuronales y para la interpretación de datos en modelos de enfermedades neurodegenerativas, como la enfermedad de Parkinson, patología estudiada en el laboratorio BL-103.

No obstante, persisten limitaciones que deben considerarse. La variabilidad inherente a los registros extracelulares implica que la clasificación de tipos celulares requiere un número elevado de registros provenientes del mismo tipo de neurona y, preferentemente, que el electrodo se ubique a una distancia similar del soma. La posición del electrodo influye en la morfología y

amplitud de la espiga, pudiendo generar múltiples plantillas para un mismo tipo neuronal. Este factor deberá considerarse al expandir la base de datos y al aplicar el método en otros modelos experimentales.

Perspectivas

A partir de los resultados obtenidos, se identifican diversas áreas de mejora y expansión para este trabajo. En cuanto al software, sería conveniente implementar herramientas adicionales para la manipulación de grupos. Actualmente, la interfaz permite seleccionar puntos en la proyección de reducción dimensional mediante la herramienta de lasso; sin embargo, resultaría útil incorporar funciones que permitan seleccionar potenciales de acción directamente en su gráfica de forma de onda, por ejemplo, mediante una herramienta de lazo o un recuadro, lo que ofrecería una interacción más intuitiva y flexible con los datos.

Otra línea de desarrollo es la implementación de un sistema de almacenamiento centralizado mediante un gestor de bases de datos como MySQL o MariaDB. Este recurso permitiría concentrar todas las formas de onda en un repositorio único, accesible desde múltiples equipos, al menos dentro de la red local del laboratorio, facilitando la consulta, organización y reutilización de los datos.

Asimismo, se reconoce la necesidad de ampliar, refinar e incorporar otros tipos celulares a la base de datos, por ejemplo, añadir a las interneuronas que expresan parvalbúmina, incluso explorar aplicaciones en experimentos de comportamiento in vivo. Una base de datos suficientemente amplia permitiría aplicar este método en experimentos que no dispongan de herramientas optogenéticas, ampliando su aplicabilidad. Con un volumen considerable de registros, también sería posible entrenar una red neuronal artificial que clasifique automáticamente los potenciales de acción en función de su morfología.

Finalmente, es necesario profundizar en el estudio del efecto que ejerce la distancia entre el electrodo y el soma neuronal sobre la forma de onda registrada. Comprender esta relación será

clave para mejorar la precisión de la categorización y reducir la variabilidad en la clasificación, optimizando así la utilidad de la base de datos y del software desarrollado.

Referencias

- Alexander, G. E., & Crutcher, M. D. (1990). Functional architecture of basal ganglia circuits: Neural substrates of parallel processing. *Trends in Neurosciences*, *13*(7), 266–271.
[https://doi.org/10.1016/0166-2236\(90\)90107-L](https://doi.org/10.1016/0166-2236(90)90107-L)
- Aosaki, T., Tsubokawa, H., Ishida, A., Watanabe, K., Graybiel, A., & Kimura, M. (1994). Responses of tonically active neurons in the primate's striatum undergo systematic changes during behavioral sensorimotor conditioning. *The Journal of Neuroscience*, *14*(6), 3969–3984. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.14-06-03969.1994>
- Basic UMAP Parameters—Umap 0.5.8 documentation*. (s/f). Recuperado el 19 de agosto de 2025, de
<https://umap-learn.readthedocs.io/en/latest/parameters.html#basic-umap-parameters>
- Bear, M. F., Connors, B. W., & Paradiso, M. A. (2016). *Neuroscience: Exploring the brain* (Fourth edition). Wolters Kluwer.
- Benchmarking Performance and Scaling of Python Clustering Algorithms—Hdbscan 0.8.1 documentation*. (s/f). Recuperado el 2 de agosto de 2025, de
https://hdbscan.readthedocs.io/en/latest/performance_and_scalability.html
- Bolam, J. P., Hanley, J. J., Booth, P. A. C., & Bevan, M. D. (2000). Synaptic organisation of the basal ganglia. *Journal of Anatomy*, *196*(4), 527–542.
<https://doi.org/10.1046/j.1469-7580.2000.19640527.x>
- Boron, W. F., & Boulpaep, E. L. (Eds.). (2017). *Medical physiology* (Third edition). Elsevier.
- Brazhnik, E., McCoy, A. J., Novikov, N., Hatch, C. E., & Walters, J. R. (2016). Ventral Medial Thalamic Nucleus Promotes Synchronization of Increased High Beta Oscillatory Activity in the Basal Ganglia–Thalamocortical Network of the Hemiparkinsonian Rat. *The*

- Journal of Neuroscience*, 36(15), 4196–4208.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3582-15.2016>
- Brown, P. (2007). Abnormal oscillatory synchronisation in the motor system leads to impaired movement. *Current Opinion in Neurobiology*, 17(6), 656–664.
<https://doi.org/10.1016/j.conb.2007.12.001>
- Buccino, A. P., Garcia, S., & Yger, P. (2022). Spike sorting: New trends and challenges of the era of high-density probes. *Progress in Biomedical Engineering*, 4(2), 022005.
<https://doi.org/10.1088/2516-1091/ac6b96>
- Burke, D. A., Rotstein, H. G., & Alvarez, V. A. (2017). Striatal Local Circuitry: A New Framework for Lateral Inhibition. *Neuron*, 96(2), 267–284.
<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.09.019>
- Cho, Y. U., Lee, J. Y., Jeong, U., Park, S. H., Lim, S. L., Kim, K. Y., Jang, J. W., Park, J. H., Kim, H. W., Shin, H., Jeon, H., Jung, Y. M., Cho, I., & Yu, K. J. (2022). Ultra-Low Cost, Facile Fabrication of Transparent Neural Electrode Array for Electrocorticography with Photoelectric Artifact-Free Optogenetics. *Advanced Functional Materials*, 32(10), 2105568. <https://doi.org/10.1002/adfm.202105568>
- Dabrowski, K. M., Castaño, D. J., & Tartar, J. L. (2013). Basic neuron model electrical equivalent circuit: An undergraduate laboratory exercise. *Journal of Undergraduate Neuroscience Education: JUNE: A Publication of FUN, Faculty for Undergraduate Neuroscience*, 12(1), A49-52.
- Deacon, J. (2009). *Model-View-Controller (MVC) Architecture*.
- Dobilas, S. (2024, febrero 11). t-SNE Machine Learning Algorithm—A Great Tool for Dimensionality Reduction in Python. *TDS Archive*.

<https://medium.com/data-science/t-sne-machine-learning-algorithm-a-great-tool-for-dimensionality-reduction-in-python-ec01552f1a1e>

- Duebel, J., Marazova, K., & Sahel, J.-A. (2015). Optogenetics. *Current Opinion in Ophthalmology*, 26(3), 226–232. <https://doi.org/10.1097/ICU.0000000000000140>
- Duhne, M., Lara-González, E., Laville, A., Padilla-Orozco, M., Ávila-Cascajares, F., Arias-García, M., Galarraga, E., & Bargas, J. (2020). Activation of parvalbumin-expressing neurons reconfigures neuronal ensembles in murine striatal microcircuits. *European Journal of Neuroscience*, 53(7), 2149–2164. <https://doi.org/10.1111/ejn.14670>
- Fried, I., Rutishauser, U., Cerf, M., & Kreiman, G. (Eds.). (2014). *Single Neuron Studies of the Human Brain: Probing Cognition*. The MIT Press. <https://doi.org/10.7551/mitpress/9780262027205.001.0001>
- Gerfen, C. R., Engber, T. M., Mahan, L. C., Susel, Z., Chase, T. N., Monsma, F. J., & Sibley, D. R. (1990). D₁ and D₂ Dopamine Receptor-regulated Gene Expression of Striatonigral and Striatopallidal Neurons. *Science*, 250(4986), 1429–1432. <https://doi.org/10.1126/science.2147780>
- Gerfen, C. R., & Surmeier, D. J. (2011). Modulation of Striatal Projection Systems by Dopamine. *Annual Review of Neuroscience*, 34(1), 441–466. <https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-061010-113641>
- Gold, C., Henze, D. A., Koch, C., & Buzsáki, G. (2006). On the Origin of the Extracellular Action Potential Waveform: A Modeling Study. *Journal of Neurophysiology*, 95(5), 3113–3128. <https://doi.org/10.1152/jn.00979.2005>
- Goldberg, J. A., & Reynolds, J. N. J. (2011). Spontaneous firing and evoked pauses in the

- tonically active cholinergic interneurons of the striatum. *Neuroscience*, 198, 27–43.
<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2011.08.067>
- Graveland, G. A., & DiFiglia, M. (1985). The frequency and distribution of medium-sized neurons with indented nuclei in the primate and rodent neostriatum. *Brain Research*, 327(1–2), 307–311. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(85\)91524-0](https://doi.org/10.1016/0006-8993(85)91524-0)
- Graybiel, A. M. (2005). The basal ganglia: Learning new tricks and loving it. *Current Opinion in Neurobiology*, 15(6), 638–644. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2005.10.006>
- Grillner, S. (2003). The motor infrastructure: From ion channels to neuronal networks. *Nature Reviews Neuroscience*, 4(7), 573–586. <https://doi.org/10.1038/nrn1137>
- Grillner, S., & Graybiel, A. M. (Eds.). (2006). *Microcircuits: The interface between neurons and global brain function*. Dahlem Workshop on Microcircuits: the Interface Between Neurons and Global Brain Function, Cambridge, Mass. MIT Press in cooperation with Dahlem University Press.
- Hammond, C. (2015). *Cellular and molecular neurophysiology* (Fourth edition). Elsevier/AP, Academic Press is an imprint of Elsevier.
- Henze, D. A., Borhegyi, Z., Csicsvari, J., Mamiya, A., Harris, K. D., & Buzsáki, G. (2000). Intracellular Features Predicted by Extracellular Recordings in the Hippocampus In Vivo. *Journal of Neurophysiology*, 84(1), 390–400. <https://doi.org/10.1152/jn.2000.84.1.390>
- Ibáñez-Sandoval, O., Tecuapetla, F., Unal, B., Shah, F., Koós, T., & Tepper, J. M. (2011). A Novel Functionally Distinct Subtype of Striatal Neuropeptide Y Interneuron. *The Journal of Neuroscience*, 31(46), 16757–16769.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2628-11.2011>
- Kandel, E. R. (2013). *Principles of neural science* (5th ed). McGraw-Hill.

- Katai, S., Kato, K., Unno, S., Kang, Y., Saruwatari, M., Ishikawa, N., Inoue, M., & Mikami, A. (2010). Classification of extracellularly recorded neurons by their discharge patterns and their correlates with intracellularly identified neuronal types in the frontal cortex of behaving monkeys. *European Journal of Neuroscience*, *31*(7), 1322–1338.
<https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2010.07150.x>
- Kawaguchi, Y. (1993). Physiological, morphological, and histochemical characterization of three classes of interneurons in rat neostriatum. *The Journal of Neuroscience*, *13*(11), 4908–4923. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.13-11-04908.1993>
- Kawaguchi, Y., Wilson, C. J., Augood, S. J., & Emson, P. C. (1995). Striatal interneurons: Chemical, physiological and morphological characterization. *Trends in Neurosciences*, *18*(12), 527–535. [https://doi.org/10.1016/0166-2236\(95\)98374-8](https://doi.org/10.1016/0166-2236(95)98374-8)
- Koós, T., & Tepper, J. M. (1999). Inhibitory control of neostriatal projection neurons by GABAergic interneurons. *Nature Neuroscience*, *2*(5), 467–472.
<https://doi.org/10.1038/8138>
- Kozai, T. D. Y., & Vazquez, A. L. (2015). Photoelectric artefact from optogenetics and imaging on microelectrodes and bioelectronics: New challenges and opportunities. *Journal of Materials Chemistry B*, *3*(25), 4965–4978. <https://doi.org/10.1039/C5TB00108K>
- Leblois, A., Meissner, W., Bioulac, B., Gross, C. E., Hansel, D., & Boraud, T. (2007). Late emergence of synchronized oscillatory activity in the pallidum during progressive parkinsonism. *European Journal of Neuroscience*, *26*(6), 1701–1713.
<https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2007.05777.x>
- Lee, E. K., Balasubramanian, H., Tsolias, A., Anakwe, S. U., Medalla, M., Shenoy, K. V., & Chandrasekaran, C. (2021). Non-linear dimensionality reduction on extracellular

waveforms reveals cell type diversity in premotor cortex. *eLife*, 10, e67490.

<https://doi.org/10.7554/eLife.67490>

Marques-Smith, A., Neto, J. P., Lopes, G., Nogueira, J., Calcaterra, L., Frazão, J., Kim, D., Phillips, M. G., Dimitriadis, G., & Kampff, A. R. (2018). *Recording from the same neuron with high-density CMOS probes and patch-clamp: A ground-truth dataset and an experiment in collaboration*. <https://doi.org/10.1101/370080>

Martens, M. A., Boesmans, W., & Vanden Berghe, P. (2014). Calcium imaging at kHz frame rates resolves millisecond timing in neuronal circuits and varicosities. *Biomedical Optics Express*, 5(8), 2648. <https://doi.org/10.1364/BOE.5.002648>

McCormick, D. A., Connors, B. W., Lighthall, J. W., & Prince, D. A. (1985). Comparative electrophysiology of pyramidal and sparsely spiny stellate neurons of the neocortex. *Journal of Neurophysiology*, 54(4), 782–806. <https://doi.org/10.1152/jn.1985.54.4.782>

McInnes, L. (2018). *Performance Comparison of Dimension Reduction Implementations—Umap 0.5.8 documentation*. <https://umap-learn.readthedocs.io/en/latest/performance.html>

McInnes, L., Healy, J., & Melville, J. (2018). *UMAP: Uniform Manifold Approximation and Projection for Dimension Reduction*. <https://doi.org/10.48550/ARXIV.1802.03426>

Mitra, P., & Bokil, H. (2007). Spike Sorting. En *In Observed Brain Dynamics* (9a ed., pp. 257–270). Oxford Press. https://neurophysics.ucsd.edu/publications/obd_ch3_2.pdf

Multi-Electrode Array Electrophysiology. (s/f). Charles River. Recuperado el 22 de junio de 2025, de

<https://www.criver.com/products-services/discovery-services/pharmacology-studies/neuroscience-models-assays/neuroscience-methods-endpoints/electrophysiology/multi-electrode-array>

- Naeem, S., Ali, A., Anam, S., & Ahmed, M. M. (2023). An Unsupervised Machine Learning Algorithms: Comprehensive Review. *International Journal of Computing and Digital Systems*, 13(1), 911–921. <https://doi.org/10.12785/ijcds/130172>
- Necula, S. (2024). *Exploring The Model-View-Controller (MVC) Architecture: A Broad Analysis of Market and Technological Applications*. <https://doi.org/10.20944/preprints202404.1860.v1>
- Optogenetics and Chemogenetics. (2018). En K. Vlasov, C. J. Van Dort, & K. Solt, *Methods in Enzymology* (pp. 181–196). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/bs.mie.2018.01.022>
- Qian, D., Li, W., Xue, J., Wu, Y., Wang, Z., Shi, T., Li, S., Yang, J., Qiu, S., Wang, S., Shu, Y., Chen, L., Wang, Q., Yuan, T.-F., Zhou, D., & Lu, W. (2022). A striatal SOM-driven ChAT-iMSN loop generates beta oscillations and produces motor deficits. *Cell Reports*, 40(3), 111111. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2022.111111>
- ¿Qué es el sobreajuste? - Explicación del sobreajuste en machine learning - AWS. (s/f). Amazon Web Services, Inc. Recuperado el 2 de agosto de 2025, de <https://aws.amazon.com/es/what-is/overfitting/>
- Reducing dimensionality with principal component analysis with Python. (s/f). IBM Developer. Recuperado el 14 de julio de 2025, de <https://developer.ibm.com/tutorials/awb-reducing-dimensionality-with-principal-component-analysis/>
- Salas, P., & Campos, I. (2014). Filtro no lineales. *Diciembre 2014*, 17, 14.
- Shenoi, B. A. (2006). *Introduction to digital signal processing and filter design*. Wiley-Interscience.
- Shepherd, G. M., & Grillner, S. (Eds.). (2018). *Handbook of brain microcircuits* (Second

- edition). Oxford University Press.
- Suarez-Barrera, D., Bayones, L., Parra, S., Monroy, V., Pujalte, S., Andrade-Ortega, B., Díaz, H., Alvarez, M., Zainos, A., Franci, A., & Rossi-Pool, R. (2025). *Relevance of Nonlinear Dimensionality Reduction for Efficient and Robust Spike Sorting*.
<https://doi.org/10.1101/2025.03.27.645844>
- Taverna, S., Van Dongen, Y. C., Groenewegen, H. J., & Pennartz, C. M. A. (2004). Direct Physiological Evidence for Synaptic Connectivity Between Medium-Sized Spiny Neurons in Rat Nucleus Accumbens In Situ. *Journal of Neurophysiology*, *91*(3), 1111–1121. <https://doi.org/10.1152/jn.00892.2003>
- Tepper, J. M., Tecuapetla, F., Koós, T., & Ibáñez-Sandoval, O. (2010). Heterogeneity and Diversity of Striatal GABAergic Interneurons. *Frontiers in Neuroanatomy*, *4*.
<https://doi.org/10.3389/fnana.2010.00150>
- Trainito, C., Von Nicolai, C., Miller, E. K., & Siegel, M. (2019). Extracellular Spike Waveform Dissociates Four Functionally Distinct Cell Classes in Primate Cortex. *Current Biology*, *29*(18), 2973-2982.e5. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2019.07.051>
- Van der Maaten, L. (2008, noviembre 1). *Visualizing Data using t-SNE*. Visualizing Data using t-SNE. <https://www.jmlr.org/papers/volume9/vandermaaten08a/vandermaaten08a.pdf>
- Viskontas, I. V., Ekstrom, A. D., Wilson, C. L., & Fried, I. (2007). Characterizing interneuron and pyramidal cells in the human medial temporal lobe in vivo using extracellular recordings. *Hippocampus*, *17*(1), 49–57. <https://doi.org/10.1002/hipo.20241>
- Weir, K., Blanquie, O., Kilb, W., Luhmann, H. J., & Sinning, A. (2015). Comparison of spike parameters from optically identified GABAergic and glutamatergic neurons in sparse cortical cultures. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, *8*.

<https://doi.org/10.3389/fncel.2014.00460>

What is an MEA (multielectrode array or microelectrode array)? (s/f). Harvard Bioscience.

Recuperado el 23 de junio de 2025, de

<https://www.harvardbioscience.com/blog/what-is-an-mea-multielectrode-array-or-microelectrode-array>

What is clustering? | IBM. (2024, febrero 21). <https://www.ibm.com/think/topics/clustering>

Willard, A. M., Isett, B. R., Whalen, T. C., Mastro, K. J., Ki, C. S., Mao, X., & Gittis, A. H.

(2019). State transitions in the substantia nigra reticulata predict the onset of motor deficits in models of progressive dopamine depletion in mice. *eLife*, 8, e42746.

<https://doi.org/10.7554/eLife.42746>

Yger, P., Spampinato, G. L., Esposito, E., Lefebvre, B., Deny, S., Gardella, C., Stimberg, M.,

Jetter, F., Zeck, G., Picaud, S., Duebel, J., & Marre, O. (2018). A spike sorting toolbox for up to thousands of electrodes validated with ground truth recordings in vitro and in vivo. *eLife*, 7, e34518. <https://doi.org/10.7554/eLife.34518>

Anexos

Anexo A. Estructura y uso del programa para visualización y limpieza de grupos.

App_t.py es una aplicación de escritorio diseñada para visualizar y analizar datos. Utiliza una interfaz gráfica de usuario construida con la librería *PySide6* y *matplotlib*. La aplicación permite cargar datos, visualizar formas de onda por cada electrodos de las MEA y administrar grupos en la reducción dimensional de las formas de onda hecha con UMAP.

El módulo *Model.py* representa la capa de datos de la aplicación. Su principal función es gestionar y manipular los datos del experimento. Esto incluye la carga y el guardado de datos, la inicialización de estructuras de datos y paletas de colores, y la preparación de los datos para su visualización y análisis. Dentro de la clase podemos encontrar la estructura principal del programa

self.exp: es el diccionario que almacena todos los datos del experimento cargados desde un archivo *pickle*. Las claves del diccionario son los nombres de los electrodos y los valores son diccionarios que contienen información del electrodo, incluyendo los grupos asignados a cada disparo neuronal.

op_pckl: es un método que carga un archivo *pickle* desde la ruta especificada. Abre el archivo en modo de lectura binaria ('rb'), deserializa el contenido y lo almacena en *self.exp*. Cierra el archivo y devuelve el contenido.

save_pckl: guarda el estado actual del objeto *self.exp* en un archivo *pickle*. Obtiene la ruta del archivo a través del controlador, si la ruta no está vacía, serializa *self.exp* y lo guarda en la ruta especificada en modo de escritura binaria, finalmente imprime un mensaje de éxito o de fallo si la ruta no es válida.

cluster_dataframe: crea un *pandas.DataFrame* a partir de los datos de clústeres de un electrodo específico. Toma como argumento el nombre del electrodo (por ejemplo, 'F7').

Recupera la lista de los grupos asignados a cada uno de los disparos neuronales registrados y genera una lista de grupos únicos, con dicha lista se llena la tabla de “Grupos detectados en el electrodo”.

Por otro lado el módulo *View.py* es la capa de presentación de la aplicación. Gestionar la interfaz de usuario (GUI) y muestra los datos del modelo. No contiene como tal la lógica del programa, ni manipula directamente los datos; en cambio, emite señales al controlador en respuesta a las interacciones del usuario y espera que el controlador le proporcione los datos que debe mostrar. La GUI está construida utilizando la biblioteca PySide6, que proporciona widgets, ventanas y matplotlib para la visualización de gráficos.

La clase principal del módulo es *MainWindow*, que se hereda de *QMainWindow*. Esta clase actúa como la ventana principal de la aplicación y encapsula todos los componentes de la interfaz de usuario, incluyendo menús, barras de herramientas, y *widgets* principales.

self.controller: Una referencia al objeto controlador, que se establece después de la inicialización de la vista. Esta conexión es crucial para que la vista pueda notificar al controlador sobre las acciones del usuario.

Métodos Principales

setup_ui(self): Método responsable de la creación y disposición de todos los widgets de la GUI, incluyendo menús, barras de herramientas y el diseño principal. También inicializa los gráficos de matplotlib.

connect_events(self): Conecta los eventos de los widgets (por ejemplo, clics de botones, selecciones de menú) a los métodos del controlador.

`update_cluster_combo(self, cl_list)`: Actualiza los elementos del menú desplegable de clústeres con una lista de nombres de clústeres proporcionada por el controlador.

`draw_lasso(self, ax, data, on_select_callback)`: Configura el LassoSelector en un eje de matplotlib.

El módulo *Controller.py* actúa como el intermediario entre el modelo de datos (Model.py) y la interfaz de usuario (View.py). Su función principal es manejar la lógica de la aplicación: recibe las señales de las interacciones del usuario desde la vista, las procesa, actualiza el modelo en consecuencia y, finalmente, le indica a la vista que se actualiza para reflejar los cambios en el modelo. Este diseño desacopla la lógica del programa de la presentación, haciendo que el código sea más modular y fácil de mantener.

La clase Controller es el componente central del módulo. En su constructor, recibe instancias del modelo y la vista, estableciendo la comunicación bidireccional entre los tres componentes del patrón MVC.

`open_file(self)`: Abre un cuadro de diálogo para que el usuario seleccione un archivo. Llama a `self.model.op_pckl(path)` para cargar los datos en el modelo. Actualiza la vista para reflejar los datos cargados: habilita los botones de los electrodos y llena el QComboBox con los clústeres existentes.

`combo_change(self, text_cluster)`: Este método se activa cuando el usuario cambia la selección en el `combo_cluster`. A partir del `text_cluster`, determina el color asociado y llama a un método de la vista para cambiar el color del botón `add_btn`. Esto proporciona una retroalimentación visual inmediata al usuario sobre el clúster seleccionado.

add_cluster(self): Se ejecuta cuando se hace clic en el botón `add_btn`. Determina el siguiente clúster disponible y lo añade al `combo_cluster` de la vista. Este método es responsable de la lógica para gestionar la creación de nuevos clústeres.

update_plot(self): Es el método central para la visualización de datos. Itera sobre los electrodos y sus clústeres para obtener los datos de UMAP. Utiliza `matplotlib` para dibujar los puntos en el gráfico `ax_umap` con los colores correspondientes. Configura y conecta el `LassoSelector` a la colección de puntos para permitir la selección interactiva.

on_select(self, vertices): un callback que se activa cuando el `LassoSelector` completa una selección. A partir de los vértices seleccionados, identifica los puntos de datos dentro del lazo. Actualiza el estado de la tabla (`QTableWidget`) y los clústeres de los electrodos seleccionados en el modelo.

Para abrir la aplicación se debe ejecutar el archivo `App_t.py` esto inicializará los componentes del modelo, vista y controlador. La interfaz principal del componente de la vista tiene los siguientes elementos:

Barra de menú: en la parte superior izquierda de la ventana hay un menú *Archivo* con dos opciones disponibles: *Abrir* y *Guardar*. Ambas opciones abrirán una ventana, ya sea para elegir documentos, o para asignarle nombre y ubicación al guardar.

Matriz de electrodos: un área en la que se visualizan botones con una disposición similar a la matriz de multielectrodos en los experimentos, cada uno etiquetado con el nombre de electrodo (por ejemplo, A1, B2, etc.).

Gráficos: la ventana muestra dos gráficos en un diseño vertical. El gráfico superior se son las formas de onda detectadas en el electrodo, y la inferior es la representación en 2 dimensiones

Tabla de grupos: en esta área se enlistan de los grupos que se detectaron en cada electrodo. Cada grupo cuenta con dos casillas de verificación para, la primera es para activar la visualización de las formas de onda en el gráfico superior y la segunda para elegir un cluster y poder asignarlo con la herramienta de laso a los puntos deseados

Menú desplegable de grupos: permite seleccionar grupo no incluido en la sección anterior y poder agregarlo a la tabla con el botón que se encuentra a un lado(Agregar cluster). En ocasiones es útil generar nuevos grupos, para separar alguna porción de la nube de puntos y comprobar su forma de onda aislada del resto de la información.

La interacción con los clústeres y electrodos es la herramienta principal del programa, permitiendo al usuario una manipulación precisa y visual de los datos. Esta funcionalidad se articula en varios puntos clave. En primer lugar, la selección de clústeres se realiza a través del menú desplegable, el cual muestra una lista de clústeres disponibles (que aún no están en el electrodo). La elección de un clúster desde este menú hace que el botón para agregarlo cambie de color para mostrar el color asignado a ese número de grupo.

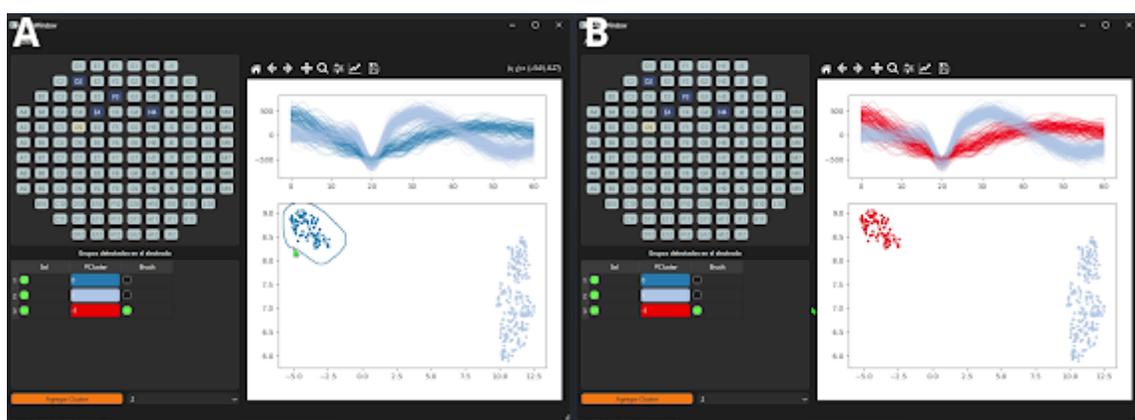
A continuación, la selección en la tabla de grupos ofrece una forma detallada de interactuar con los datos. Cada fila, que corresponde a un electrodo, tiene dos columnas con casillas de verificación: "*sel*" y "*brush*". La columna "*sel*" permite ocultar o mostrar las formas de onda del grupo correspondiente, mientras que la columna "*brush*" está diseñada para una selección exclusiva, lo que significa que solo se puede seleccionar una casilla a la vez. Esta distinción es crucial para operaciones que requieren la selección de un solo electrodo.

Finalmente, la selección gráfica es la herramienta más intuitiva para la interacción con los datos en el gráfico de UMAP. El programa implementa un *LassoSelector*, una herramienta que permite al usuario "dibujar" un lazo de selección alrededor de un grupo de puntos en el gráfico.

Todos los puntos de datos dentro del lazo quedan seleccionados, lo que a su vez se refleja en la tabla de electrodos y permite una identificación visual de los electrodos asociados a esos puntos en la proyección UMAP, la forma en como funciona se puede ver en la Figura 30. Esta combinación de selección por menú, tabla y gráfico proporciona al usuario una flexibilidad considerable para explorar y analizar los datos de electrodos y clústeres.

Figura 30

Cambio de grupo con interfaz



Nota. En la figura se muestra como con ayuda de la interfaz gráfica cambiamos el grupo asignado a una nube de puntos