



HAL
open science

Analyse de l'activité électrique multi-sites du cortex auditif chez le cobaye

Camilo La Rota

► **To cite this version:**

Camilo La Rota. Analyse de l'activité électrique multi-sites du cortex auditif chez le cobaye. Autre [q-bio.OT]. Université Joseph-Fourier - Grenoble I, 2003. Français. NNT: . tel-00004370

HAL Id: tel-00004370

<https://theses.hal.science/tel-00004370>

Submitted on 29 Jan 2004

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Université Joseph Fourier – Grenoble I

Sciences, Technologie, Médecine

ANALYSE DE L'ACTIVITE ELECTRIQUE MULTI-SITES DU CORTEX
AUDITIF CHEZ LE COBAYE

THESE

Présentée et soutenue publiquement le 13 janvier 2003

pour l'obtention du diplôme de

DOCTORAT DE L'UNIVERSITE JOSEPH FOURIER – GRENOBLE 1

SCIENCES, TECHNOLOGIE, MEDECINE

Spécialité : Modèles et Instruments en Médecine et Biologie

par

Camilo LA ROTA

Composition du Jury :

Président :	Olivier BERTRAND
Rapporteurs :	Martine CATARELLI Régine LE BOUQUIN JEANNES
Directeur de thèse :	Thierry HERVE
Codirecteur de thèse :	Olivier FRANÇOIS

Résumé

ANALYSE DE L'ACTIVITE ELECTRIQUE MULTI-SITES DU CORTEX AUDITIF CHEZ LE COBAYE

La problématique qui a motivé cette étude est celle de la représentation et du traitement de l'information dans le néocortex. On s'intéresse en particulier à l'hypothèse selon laquelle l'information sensorielle est représentée par un " code " spatio-temporel dans l'activité coopérative des populations neuronales. Cette étude est fondamentale pour le développement de solutions technologiques à certains problèmes médicaux (e.g. neuroprothèses). La disponibilité de nouvelles techniques de mesure multi-sites qui permettent d'observer l'activité spatio-temporelle du cortex à des résolutions suffisantes, nous donne l'occasion d'aborder la notion " d'interaction neuronale " à des échelles mésoscopiques et d'étudier les mécanismes de la sensation et de la perception au niveau des aires fonctionnelles.

Nous nous sommes intéressés à l'activité électrique du cortex auditif en réponse aux stimuli sonores, observée *in vivo* chez le cobaye à l'aide de colorants fluorescents potentiel-dépendants. Nous avons étudié des méthodes pour le traitement, l'analyse et la compression/intégration de l'information spatio-temporelle, adaptées à ce type de données. Une analyse descriptive nous a permis de caractériser les signaux recueillis, ainsi que leur variabilité et les erreurs qui nuisent à la mesure. Une étude théorique est venue compléter cette description et a permis d'interpréter nos données par rapport à l'activité neuronale sous-jacente. Le signal de fluorescence est difficile à traiter avec des techniques classiques de traitement du signal, nous avons donc utilisé des techniques basées sur la transformée en ondelettes afin d'estimer et de caractériser l'activité d'origine neuronale. Finalement, nous avons analysé quelques approches pour la modélisation spatio-temporelle de l'activité du cortex, et nous avons étudié l'adéquation de ces modèles à nos données. Des éléments de méthode pour l'étude de cette problématique et des perspectives pour les expériences futures sont avancés.

ANALYSIS OF THE MULTISITE ELECTRICAL ACTIVITY OF THE GINEA PIG'S AUDITORY CORTEX

The scientific problem that has motivated this study is the representation and processing of information in the neocortex. We are interested in particular in the hypothesis that states that information is coded on the neural populations' cooperative activities. This study is essential to find technological solutions to some medical problems, such as the development of neuroprosthesis. The existence of new multisite measuring techniques that allow the *in vivo* observation of the spatiotemporal activity of the cortex at high resolutions, give us the possibility to study the concept of "neural interaction" at mesoscopic scales and to study the mechanisms of senses and perception at the level of functional areas.

We have studied in particular the electrical activity of the guinea pig's auditory cortex in response to stimuli using voltage-dependent dyes (optical imaging). We have studied some techniques for the processing and analysis of the spatiotemporal information represented by this data. By means of a descriptive analysis we have characterized the signals, their variability and the measuring errors. A theoretical study complemented this description, and allowed us to interpret our data in function of the underlying neural activity. Optical signals are difficult to process with traditional signal processing techniques, we have used wavelet-based techniques to estimate and characterize the neural activity components of the signal. Finally, we have evaluated some approaches to the spatiotemporal modeling of the cortical activity, and we have studied the pertinence of these models to describe our data. Some perspectives on this problem and on the design of future experiences are given.

TABLE DES MATIERES

Abréviations.....	vi
Introduction.....	9
1.1 Contexte scientifique, technologique et médical	9
1.2 Définition du Problème.....	12
1.3 Méthodologie de l'étude et structure de ce document	13
1.4 Résultats et contributions.....	15
Chapitre 2.....	17
Contexte Expérimental	17
2.1 Technique d'Enregistrement Optique de Fluorescence Potentiel-Dépendante	17
2.1.1 Principe de la technique.....	17
2.1.2 Bruit de détection.....	18
2.2 Description du Protocole Expérimental	20
2.2.1 Contexte des expériences	20
2.2.2 Protocole d'expérimentation animale	20
2.2.3 Caractéristiques de la zone observée.....	20
2.2.4 Stimulation Auditive.....	22
2.2.5 Enregistrement Optique.....	22
2.3 Analyse expérimentale des erreurs.....	24
2.3.1 Caractérisation du bruit des instruments.....	24
2.3.2 Artefact de pulsation cardiaque.....	25
2.4 Protocole d'enregistrement et estimation traditionnelle de l'activité corticale.....	26
2.5 Synthèse	32
Chapitre 3.....	33
Analyse théorique et interprétation des signaux d'activité corticale obtenus par fluorescence potentiel-dépendante.....	33
<i>Cortical Activity and the Optical Signal</i>	35
3.1 Neurophysiological and neuroanatomical basis	37
for the interpretation of the $L_{\Delta F/F}$ signal	37
3.1.1 Functional structure of the sensory cortex	39
3.1.2 Scales of observation and expected properties of the optical signal.....	44
3.1.3 Auditory cortex functional electrophysiology and the $L_{\Delta F/F}$ signal.....	46
3.1.4 Microscopic sources distribution	58
3.1.5 Excitatory and Inhibitory events	59
3.1.6 Dendrites' properties, synaptic coincident events, oscillations, and synchrony.....	61
3.2 Interpretation of the $L_{\Delta F/F}$ signal in terms of its neural sources.....	72
3.2.1 Summary of basic facts and assumptions	72
about the sources of the $L_{\Delta F/F}$ signal.....	72
3.2.2 Theoretical analysis of the optical signal under anesthesia.....	74
3.2.3 Single-site $L_{\Delta F/F}$ signal expected properties.....	81
3.3 Characterizing the Single-Site Cortical Activity	82
3.3.1 Synaptic rate and cortical activity characterization	86
3.3.2 Synchronous neural assemblies and "pulse-packets".....	91

3.3.3	Pulse packets and membrane potential fluctuations	92
3.3.4	Unitary Events (Neural assemblies' activation)	94
3.3.5	Population bursting events	96
3.3.6	Local cortical processors, bursting, and Unitary Events	98
3.3.7	Coexistence of rate and synchrony coding	99
3.4	Single-site $L_{\Delta F/F}$ signal model.....	100
3.4.1	Random spiking related component.....	101
3.4.2	Local synchronized neural activity ($up(t)$).....	104
3.4.3	Total intrinsic signal	106
3.4.4	Some practical issues.....	107
Chapitre 4	109
Traitement du signal de fluorescence potentiel-dépendante	109
4.1	Description des données	109
4.2	Modèle du signal.....	110
4.3	Estimation de l'activité électrique du cortex auditif en réponse aux stimuli auditifs à partir des signaux $L_{\Delta F/F}$	110
4.3.1	Estimation traditionnelle	111
4.3.2	Techniques d'élimination du bruit	113
4.3.3	Débruitage des signaux de fluorescence : mise en œuvre des algorithmes	127
4.3.4	Débruitage des signaux de fluorescence : Résultats et analyse.....	134
4.3.5	Estimation et suppression de l'artefact hémodynamique	149
4.4	Détection et caractérisation d'événements unitaires d'activité locale neuronale..	160
4.4.1	Détection et caractérisation des événements par la TO.....	160
4.4.2	Reconnaissance des formes (matched pattern analysis) avec la TO	162
4.4.3	Détection et caractérisation des UE en utilisant des dérivées de la Gaussienne	163
4.4.4	Détection et caractérisation des UE en utilisant des Ondelettes B-Spline et la Transformée en Ondelettes Dyadique.....	165
4.4.5	Résultats sur des signaux $L_{\Delta F/F}$ simulés	168
4.4.6	Résultats sur des signaux $L_{\Delta F/F}$ réels	172
4.5	Discussion	172
4.5.1	Le débruitage du signal $L_{\Delta F/F}$	172
4.5.2	Élimination des artefacts d'origine cardiaque	174
4.5.3	Détection et caractérisation des UE	174
4.5.4	Autres considérations sur le traitement du signal optique.....	175
Chapitre 5	176
Analyse Descriptive et Interprétation des Données	176
5.1	Variabilité du signal d'activité corticale entre enregistrements	176
5.2	Analyse des signaux d'activité neuronale	179
5.2.1	Pattern spatio-temporel d'activité corticale en réponse aux stimuli mono-tonaux.....	180
5.2.2	Réponse du cortex aux stimuli FM	189

5.2.3	Analyse détaillée du signal : « coïncidences » et UE	198
5.2.4	Interprétation théorique de ces résultats.....	202
5.3	Discussion	203
Chapitre 6.....		207
Analyse des enregistrements multi-sites de l'activité corticale.....		207
6.1	Physique et cerveau	207
6.1.1	Systèmes Complexes, Cerveau et Néocortex	208
6.1.2	Patterns Spatiotemporels et Activité Neuronale	208
6.2	Techniques d'analyse des données d'activité neuronale spatio-temporelle.....	210
6.3	Modèles spatio-temporels et analyse de l'activité neuronale multi-sites	212
6.3.1	Modèles stochastiques et activité neuronale	213
6.3.2	Champs aléatoires, champs aléatoires de Markov	
	et Analyse de l'activité neuronale	218
6.3.3	Modèle de diffusion d'information neuronale	223
6.4	Analyse de l'activité électrique multi-sites du cortex auditif.....	230
6.4.1	Description des données	231
6.4.2	Implémentation du modèle LDM.....	232
6.4.3	Implémentation des algorithmes du modèle LDM.....	235
6.4.4	Analyse des résultats	236
6.5	Discussion	242
6.5.1	Modèles issus de la théorie des champs aléatoires et de la mécanique.....	
	statistique pour analyser des signaux d'activité corticale.....	243
6.5.2	Modèle de diffusion.....	246
6.5.3	Perspectives sur la modélisation et l'analyse de l'activité corticale	
	observée en multiples sites	253
Conclusion et Perspectives.....		259
Annexe 1		263
A propos de la variabilité et de l'estimation du signal optique		263
8.1	Introduction	263
8.2	Context	265
8.2.1	Optical Imaging with Voltage Sensitive Dyes.....	265
8.2.2	Experimental Procedures.....	265
8.2.3	Signal model	266
8.3	Intrinsic Variability.....	266
8.4	Extrinsic signal variability.....	268
8.4.1	Hemodynamic artifact	268
8.4.2	Measurement noise	269
8.5	Intrinsic signal estimation procedures.....	270
8.5.1	Hemodynamic artifact processing.....	270
8.5.2	Measurement noise suppression.....	272
8.6	Spectral Analysis	272

8.7	Influence of intrinsic variability and extrinsic variability	274
	residual errors on evoked neural activity measures	274
8.7.1	Hemodynamic artifact residual errors and evoked response.....	275
8.7.2	Ongoing activity, or residual errors?.....	277
8.8	Discussion	278
Annexe 2		283
Techniques d'analyse de signaux non stationnaires.....		283
9.1	Stationnarité	283
9.2	Caractérisation	283
9.3	Caractérisation Temps-Fréquence et Temps-Echelle	284
9.4	Distributions bilinéaires, Classe de Cohen.....	285
9.5	Fonction d'Ambiguïté, noyau de la distribution, interférences et filtrage T-F.....	286
9.6	Distribution Exponentielle et Noyau Optimal	287
9.7	Distribution avec Interférence Réduite (RID).....	287
9.8	Transformée en Ondelettes.....	288
9.9	Transformée en Ondelettes Orthogonale (TOO)	289
9.10	Transformée en Ondelettes Dyadique et algorithme « à-Trous »	292
9.10.1	Ondelettes B-Spline Dyadiques	293
9.10.2	Les ondelettes B-Spline et les dérivées de la fonction de Gauss	295
9.11	Autres techniques.....	296
9.11.1	Algorithme de Chung et Kennedy	296
Annexe 3		299
10.1	Algorithme de débruitage par rétrécissement d'ondelettes Decompsrink I.....	299
10.2	Algorithme à-trous	302
10.3	Coefficients des filtres B-Spline et de Lagrange	308
Bibliographie		311

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier

Monsieur le docteur Thierry Hervé pour m'avoir proposé ce sujet de recherche, ainsi que pour le soutien matériel et logistique.

Monsieur le docteur Olivier François qui a bien voulu co-diriger cette thèse. Je tiens à le remercier pour sa disponibilité, pour ses conseils et pour l'encouragement qu'il m'a toujours donné.

Monsieur le docteur Junsei Horikawa, ainsi que son équipe à Tokyo, pour son accueil chaleureux, pour sa disponibilité à répondre à mes questions et pour avoir mis à ma disposition les données nécessaires à la réalisation des analyses.

Monsieur le professeur Jacques Demongeot pour m'avoir accueilli au sein de son laboratoire.

Mesdames les docteurs Martine Cattarelli et Régine Le Bouquin Jeannès pour avoir accepté d'être rapporteuses de ce travail.

Monsieur le docteur Olivier Bertrand qui a bien voulu participer au jury de cette thèse.

Je tiens aussi à remercier très chaleureusement tous ceux qui ont contribué directement et indirectement à ce travail.

Je pense en particulier à Florence Rivera, Florence Thuderoz et Thierry-Pascal Baum pour leur soutien, leurs bons conseils, leur disponibilité, leur aide désintéressée, ainsi que pour leur amitié sincère, grâce à laquelle cette période d'étude fut une expérience agréable et enrichissante.

Je garde à l'esprit l'indispensable présence morale de ma famille.

Claire : merci beaucoup pour ton soutien, ton aide, ta patience et ton amour.

ABREVIATIONS

Français (*Anglais*) :

<i>AMPA</i>	<i>α-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionate</i>
<i>AMPA</i>	Récepteur AMPA (<i>AMPA Receptor</i>)
<i>ASEP</i>	Moyenne des EPSP synchrones (<i>Average Synchronous EPSP</i>)
<i>ASIP</i>	Moyenne des IPSP synchrones (<i>Average Synchronous IPSP</i>)
<i>BMI</i>	<i>Bicuculline methiodide</i>
CA (AC)	Cortex Auditif (<i>Auditory Cortex</i>)
CHAM	Champ Aléatoire de Markov
CNQX	<i>6-cyano-7-nitroquinoxaline-2,3-dione</i>
<i>EPSC</i>	Courant post-synaptique excitateur (<i>Excitatory Postsynaptic Current</i>)
<i>EPSP</i>	Potentiel post-synaptique excitateur (<i>Excitatory Postsynaptic Potential</i>)
FM	Fréquence Modulée
<i>GABA</i>	Acide γ -amino-butyrrique (<i>γ-aminobutyric acid</i>)
<i>IPSP</i>	Potentiel post-synaptique inhibiteur (<i>Inhibitory Postsynaptic Potential</i>)
<i>LDM</i>	Modèle de diffusion linéaire (<i>Linear Diffusion Model</i>)
<i>LIMP</i>	Potentiel de membrane local intégré (<i>Local Integrated Membrane Potential</i>)
<i>LFP</i>	Potentiel de champ local (<i>Local Field Potential</i>)
<i>LTP</i>	Potentialisation à long terme (<i>Long-Term Potentiation</i>)
$\Delta F/F$	Variation relative de la fluorescence (<i>Relative Fluorescence variation</i>)
$L_{\Delta F/F}$	Variation locale relative de la fluorescence (<i>Local Relative Fluorescence variation</i>)
<i>MAD</i>	Ecart absolu à la médiane (<i>Median Absolute Deviation</i>)
<i>MGB</i>	Corps genouillé médian (<i>Medial Geniculate Body</i>)
MUA	Enregistrement multi-unitaire (<i>Multi-Unit Activity recording</i>)
<i>NA</i>	Ouverture numérique (<i>Numerical Aperture</i>)
NMDA	<i>N-methyl-D-aspartate</i>

NMDAR	Récepteur NMDA (<i>NMDA Receptor</i>)
PA	Potentiel d'Action
<i>PSP</i>	Potentiel post-synaptique (<i>Postsynaptic Potential</i>)
<i>PSTH</i>	Histogramme de Temps Post-Stimulus (<i>Post-Stimulus Time Histogram</i>)
<i>REM</i>	Sommeil paradoxal (<i>Rapid Eye Movement sleep</i>)
<i>RF</i>	Champ réceptif (<i>Receptive Field</i>)
RSB (<i>SNR</i>)	Rapport Signal sur Bruit (<i>Signal to Noise Ratio</i>)
<i>SPL</i>	Niveau de pression sonore (<i>Sound Pressure Level</i>)
<i>STA</i>	Moyenne déclenché par l'occurrence d'un PA (<i>Spike-Triggered Average</i>)
TO (<i>WT</i>)	Transformée en ondelettes (<i>Wavelet Transform</i>)
TOC (<i>CWT</i>)	TO continue (<i>Continuous-time Wavelet Transform</i>)
TOD (<i>DWT</i>)	TO discrète (<i>Discrete-time Wavelet Transform</i>)
TOO (<i>OWT</i>)	TO orthogonal (<i>Orthogonal Wavelet Transform</i>)
TOD2 (<i>D2WT</i>)	TO dyadique (<i>Dyadic Wavelet Transform</i>)
TODIT (<i>TIDWT</i>)	TOD invariante par translation (<i>Translation Invariant Discrete Wavelet Transform</i>)
TO*I (<i>I*WT</i>)	Transformées Inverses (* = O, C, D, ..., etc.)
<i>VSDOI</i>	Mesure optique par fluorescence potentiel-dépendante (<i>Voltage Sensitive Dye Optical Imaging</i>)

Introduction

1.1 Contexte scientifique, technologique et médical

Ce travail s'inscrit dans un contexte multidisciplinaire, relevant de l'analyse des signaux, des neurosciences et de la médecine. Plus précisément, nous nous intéressons à l'analyse des signaux de l'activité électrique d'origine neuronale, ainsi qu'à l'étude des mécanismes de traitement et de représentation de l'information dans le cortex sensoriel. Ces deux aspects sont fondamentaux pour le développement de solutions technologiques, qui permettent de résoudre certains problèmes médicaux (e.g. neuroprothèses).

L'étude de la représentation et du traitement de l'information dans les tissus neuronaux est un aspect important de la recherche en neurosciences. Diverses approches théoriques de ce problème ont été proposées (e.g., (Calvin, 1996a ; deCharms & Zador, 2000 ; Phillips & Singer, 1997; Rieke, 1997 ; Singer, 1999 ; Tuckwell, 2000 ; Van Rullen & Thorpe, 2001)). Parmi ces théories, plusieurs proposent l'existence d'un processus distribué de traitement et de propagation de l'information à travers l'activité coopérative des ensembles de neurones du cortex (i.e. un « code » neuronal spatio-temporel). Elles se basent sur l'hypothèse de Hebb, selon laquelle des groupes de neurones, dans leurs interactions, pourraient représenter les propriétés des objets sensoriels ou mentaux (Hebb, 1949). L'existence de ce type de code spatio-temporel est un sujet de discussion très important actuellement (Buzsáki et al., 1994; Milton & Mackey, 2000 ; Shadlen & Newsome, 1998; Singer, 1999).

A partir de ces idées, diverses techniques d'analyse de l'activité spatio-temporelle des réseaux de neurones ont été développées (e.g., (Amit et al., 1985; Gerstein & Aertsen, 1985 ; Hervé et al., 1990a)). Cependant, ces recherches ont été largement limitées aux modèles et simulations ; principalement à cause des limitations technologiques des instruments mesurant l'activité neuronale, étant donné qu'il est nécessaire de la mesurer sur des sites multiples et à des résolutions adéquates.

L'étude expérimentale de l'activité électrique du cerveau a été réalisée traditionnellement à partir des données obtenues par deux types de techniques de mesure. D'une part des techniques telles que l'électroencéphalographie (EEG), la magnétoencéphalographie (MEG) ou les potentiels évoqués (PE), qui permettent l'observation des phénomènes qui se produisent à une échelle spatiale relativement grossière, que l'on appellera « macroscopique ». D'autre part, des techniques telles que l'enregistrement intra- et extra-cellulaire par microélectrodes, ou le « *patch clamp* », permettent l'observation de phénomènes électriques très localisés dans l'espace, à une échelle que l'on appellera « microscopique ».

Les techniques de mesure à échelle macroscopique permettent d'observer la distribution spatiale et la dynamique du champ électrique généré par l'activité physiologique du tissu neuronal, avec une résolution spatiale d'environ 1 cm (Nunez, 2000). Ces techniques ont permis d'étudier

l'activité globale du cerveau et de mettre en évidence des phénomènes macroscopiques intéressants, tels que l'existence d'activités rythmiques globales qui varient selon l'état mental, ou la synchronisation de l'activité de différentes zones du cerveau en réponse aux stimuli ou pendant certains comportements. Elles sont d'une grande utilité en clinique, mais leur utilité dans l'étude des mécanismes de traitement et de représentation de l'information dans le tissu neuronal est limitée, à cause de leur mauvaise résolution spatiale.

L'enregistrement de l'activité neuronale à l'échelle microscopique permet d'étudier l'activité de neurones isolés en réponse aux stimuli ou par rapport à l'activité d'autres neurones, et de tester des hypothèses par rapport au traitement de l'information réalisé par les neurones isolés (Rieke, 1997). D'autres techniques de mesure à l'échelle microscopique, telles que le *patch clamp*, ont permis d'étudier les mécanismes cellulaires de la fonction neuronale. Grâce à ces techniques il a été possible de valider le modèle phénoménologique de l'activité électrique du neurone proposé par Hodgkin et Huxley (Hodgkin & Huxley, 1952; Hodgkin et al., 1952). Actuellement, elles permettent d'étudier le traitement de l'information réalisé dans les dendrites (Hausser et al., 2000).

En fait, l'étude du traitement de l'information réalisé par les neurones, a été réalisée traditionnellement par l'analyse statistique de trains de potentiels d'action de neurones isolés (Amit, 1992 ; Rieke, 1997). Cette analyse est faite à partir des mesures de l'activité électrique neuronale obtenues à l'aide de microélectrodes métalliques. L'activité de quelques neurones isolés ou de petits groupes de neurones peut être observée à l'aide de microélectrodes qui peuvent atteindre des surfaces de l'ordre de $(10-100 \mu\text{m})^2$ (Najafi et al., 1990; Stieglitz & Meyer, 1999).

L'étude de l'activité de paires de neurones corticaux isolés enregistrés simultanément a montré l'existence d'interactions dépendant des stimuli et du comportement de l'animal (Vaadia et al., 1995). L'étude de la dynamique de ces interactions a permis de tester l'hypothèse de l'existence d'un processus distribué et coopératif de traitement de l'information, d'un code neuronal basé sur la cohérence de l'activité de groupes de neurones (Aertsen et al., 1994).

Cependant, ces techniques sont d'une utilité limitée lorsque l'on veut étudier et caractériser l'activité de toute une zone du cerveau, par exemple une aire corticale sensorielle comme le cortex auditif. Il est impossible, avec les techniques existantes, d'enregistrer l'activité individuelle de millions de neurones et d'étudier les interactions qui existent entre tous ces neurones.

Ainsi, entre les deux échelles d'observation, il existe une grande différence non seulement de résolution spatiale mais aussi de type de phénomènes observés, de type de description que l'on peut en faire, et des propriétés que l'on voudra et pourra étudier.

Une meilleure description du fonctionnement des aires fonctionnelles du cortex nécessite l'observation de l'activité du tissu neuronal en de multiples sites et à des échelles intermédiaires, c'est-à-dire, à l'échelle de populations de neurones et des aires corticales, échelle que l'on appellera « mésoscopique ». Précisons que la définition des échelles microscopique,

macroscopique et mésoscopique, est complètement subjective et qu'elle est relative aux phénomènes que l'on étudie .

Aux échelles mésoscopiques, il n'existe pas de développements théoriques et méthodologiques comparables à ceux qui ont déjà été faits à l'échelle microscopique, ni un travail de modélisation comparable à ce qui a été fait pour l'EEG (e.g., (Nunez, 2000; Wright, 1999)).

L'étude de la fonction du cortex nécessite donc le développement de nouveaux instruments qui permettent d'observer l'activité coopérative neuronale dans les aires corticales en de multiples sites, et le développement de nouvelles techniques de traitement et d'interprétation des données obtenues avec ces instruments. Même si les mesures d'activité locale, obtenues dans un seul site du cortex, peuvent révéler des informations importantes sur l'activité coopérative entre les neurones (Amit, 1992), il semble évident aujourd'hui que l'étude de l'activité spatio-temporelle du cortex, mesurée sur de multiples sites, peut révéler beaucoup plus d'informations sur les processus cognitifs de base (e.g. perception auditive).

Il faut noter qu'il y a à peine six ans, Menon et al. (1996) utilisaient des techniques d'enregistrement multi-sites, afin de mettre en évidence l'existence de corrélations spatio-temporelles dans l'activité électrique du néocortex humain liées au processus de perception. Leur conclusion a été que la technologie existante à cette époque ne permettait pas d'observer ce phénomène (Menon et al., 1996). Avec l'appareil de mesure utilisé, ils pouvaient observer l'activité électrique du cortex sur 64 sites avec 1 cm de séparation entre les sites. Ils ont conclu que pour observer ce type d'interactions, il fallait observer le cortex avec une résolution bien supérieure, avec des espacements inférieurs à 5 mm.

Toutefois, depuis quelques années, de nouvelles techniques se sont développées en neurosciences pour permettre l'enregistrement simultané de l'activité neuronale en plusieurs sites avec des résolutions plus fines. Grâce à ces techniques, il est possible aujourd'hui de réaliser des enregistrements simultanés de l'activité neuronale de toute une aire fonctionnelle du cortex, *in vivo*, avec des résolutions spatiales très fines, de l'ordre de 10^2 à $10^1 \mu\text{m}^2$ (proche des diamètres des unités fonctionnelles du cortex), et une résolution temporelle de l'ordre de la milliseconde (proche des temps caractéristiques de l'activité neuronale) (Shoham et al., 1999).

La disponibilité de ces techniques multi-sites nous donne l'occasion d'étudier plusieurs aspects méconnus de la physiologie de la sensation et de la perception, d'aborder la notion « d'interaction neuronale » au niveau d'une aire fonctionnelle, d'étudier l'existence d'un « code » neuronal spatio-temporel et de valider les résultats obtenus auparavant avec les enregistrements unitaires traditionnels. Cela nous permet de nous poser la même question que Menon et al. (1996), et d'aborder de nouveaux problèmes qu'ils ne pouvaient pas aborder à l'époque.

De plus, les nouvelles micro-technologies permettent actuellement de construire des micro-capteurs et des micro-stimulateurs très performants (Meyer et al., 2000; Takahashi et al., 2000). Cependant, leur utilité dans des applications médicales et dans la recherche en physiologie et en

neurosciences reste très réduite du fait du manque d'outils adéquats pour interpréter les données et pour extraire l'information concernant les processus neuronaux sous-jacents.

La problématique générale qui a motivé ce travail est donc l'étude des interactions neuronales et de la représentation neuronale de l'information, dans le contexte du système auditif, à partir des mesures multi-sites de l'activité corticale. Cependant, avant d'aborder cette problématique, il est nécessaire de développer des outils de traitement des signaux et de modélisation de données multi-sites, qui permettront de caractériser et d'analyser l'activité spatio-temporelle observée.

1.2 Définition du Problème

Le problème spécifique que nous avons voulu étudier est donc le développement des méthodes pour le traitement, l'analyse et la compression / intégration de l'information spatio-temporelle obtenue avec les nouvelles techniques de mesure multi-sites de l'activité corticale. Le but était de développer une méthodologie d'analyse adaptée à ces données, afin de mettre en évidence (si possible) l'existence d'interactions entre populations de neurones et de caractériser le comportement coopératif évoqué du tissu neuronal.

Nous disposons pour la réalisation de cette étude de données multi-sites, obtenues par méthode optique (colorants fluorescents dépendants du potentiel électrique), de l'activité électrique du cortex auditif du cobaye (anesthésié) en réponse aux stimuli sonores simples (tons purs). Ces données ont été obtenues grâce à la collaboration établie avec le Département de Neurophysiologie de l'Université Médicale et Dentaire de Tokyo (Dr Junsei Horikawa). Le type d'activité neuronale observée se situe à une échelle mésoscopique, à mi-chemin entre les trains de potentiels d'action et l'EEG.

L'existence des processus non-linéaires de compétition excitation – inhibition dans le néocortex, dont les inhibitions et excitations peuvent avoir des dynamiques différentes, fait du signal d'activité électrique corticale un signal difficile à traiter avec des techniques classiques de traitement du signal. De plus, la probable existence d'activités spontanées non corrélées avec le stimulus, la présence de variations non neuronales dans les signaux mesurés, ainsi que la présence d'un bruit instrumental important, demandent l'utilisation de techniques avancées de traitement du signal pour estimer l'activité électrique neuronale à partir du signal mesuré.

Avant donc d'aborder le problème d'interaction neuronale, il faut traiter les problèmes d'estimation, d'analyse et de caractérisation de l'activité d'origine neuronale dans chaque site de mesure, en gardant en tête le but principal, qui est de mettre en évidence et de caractériser les interactions entre les différents sites de mesure.

1.3 Méthodologie de l'étude et structure de ce document

La structure de ce document reflète l'aspect pluridisciplinaire de cette étude. Etant donné que les différents sujets d'étude ont été abordés de manière parallèle, le document a été divisé en quatre parties principales (chapitres 3, 4, 5, et 6). Ces chapitres sont précédés de la description du contexte expérimental (chapitre 2) où nous décrivons la technique de mesure utilisée et le protocole expérimental, ainsi que les erreurs qui nuisent à la mesure (le signal optique est fortement contaminé, principalement par un bruit introduit par les instruments de mesure, et par un artefact d'origine cardiaque (hémodynamique)). La caractérisation de ces erreurs a été réalisée de manière expérimentale.

Analyse théorique sur les signaux d'activité corticale :

Nous avons réalisé une analyse théorique sur le signal de fluorescence mesuré sur le cortex auditif basée sur une recherche bibliographique approfondie. Ce sujet est développé dans le chapitre 3. Dans ce chapitre, seule la composante « neuronale » du signal a été étudiée. La quantité physique représentée par cette composante sera appelée « LIMP » (*Local Integrated Membrane Potential*) et correspond à la somme des changements de potentiel de membrane observés dans un site de mesure par un détecteur idéal, libre de bruit et d'artefacts. La quantité physique mesurée par un photo-détecteur réel est le changement local de fluorescence (i.e. émise dans le volume de tissu observé par le photo-détecteur) relatif à la fluorescence de fond. Elle sera donc appelée « $L_{\Delta F/F}$ » (*Local Relative Fluorescence*). Cette analyse nous a permis de mieux connaître la manière dont le signal LIMP est construit à partir de l'activité neuronale microscopique, et d'en déduire les caractéristiques *a priori* du signal mesuré. Elle a aussi permis une interprétation des résultats obtenus lors des analyses des chapitres 5 et 6 en termes d'activité physiologique du cortex.

De plus, un modèle simple, permettant l'interprétation des formes d'onde du signal optique à partir de l'activité neuronale sous-jacente, a été proposé. Selon ce modèle, le signal enregistré dans chaque détecteur (en négligeant le bruit) consiste en une somme d'activités électriques diverses qui peuvent se résumer en deux composantes :

- L'une représente les occurrences des synchronismes dans l'activité post synaptique des groupes de neurones locaux en réponse aux activités intracorticales coïncidentes, que nous avons appelé « événements unitaires » ou *Unitary Events* (UE), lesquels seraient corrélés aux interactions neuronales lors de la perception auditive.
- L'autre est une composante qui représente toute autre activité postsynaptique (en réponse aux activités thalamo-corticales ou cortico-corticales afférentes, ou à d'autres types d'activité).

Ce modèle a été ensuite utilisé dans le chapitre 4 dans le but d'estimer les deux composantes dans les signaux recueillis.

Traitement du signal :

La problématique de l'estimation du signal d'activité neuronale à partir des signaux $L_{\Delta F/F}$ sera présentée dans le chapitre 4. Le traitement de ces données nécessite l'utilisation de techniques avancées d'analyse de signaux afin d'extraire l'information correspondant aux processus neuronaux. Deux aspects, principalement, ont été développés : l'estimation du signal d'activité électrique d'origine neuronale à partir des données issues de la technique optique (élimination du bruit de mesure et des artefacts d'origine cardiaque) et la détection et caractérisation des UE.

Élimination de l'artefact d'origine cardiaque : des techniques linéaires simples, habituellement utilisées pour estimer et éliminer cet artefact, ont été étudiées et testées. Nous avons également étudié d'autres alternatives plus précises et complexes comme la modélisation par « courbes déformables » (Ramsay & Li, 1998).

Élimination de bruit : parmi les techniques d'élimination du bruit qui ont été étudiées, celles basées sur le rétrécissement des coefficients de la transformée en ondelettes discrète (TOD) (Donoho et al., 1995b; Huang & Cressie, 2000) ont été privilégiées (dues aux hypothèses sur les caractéristiques du bruit et du signal utile issues des analyses descriptives et théoriques). Plusieurs algorithmes de ce type ont été étudiés, adaptés et testés, et leurs résultats ont été comparés. Finalement une méthodologie pour l'estimation des signaux optiques à partir des données expérimentales basées sur ces techniques a été développée et testée.

Détection et caractérisation des UE : une fois de plus, l'utilisation de la TOD s'est présentée comme une solution particulièrement adaptée à ce problème grâce à la flexibilité des représentations basées sur les ondelettes (Mallat, 1999; Unser et al., 1992). Un algorithme utilisant des ondelettes de type B-Spline, adapté à la forme (hypothétique) des UE, a été développé et testé.

Analyse descriptive et interprétation des signaux :

L'analyse théorique du chapitre 3 a été complétée par une analyse descriptive des signaux expérimentaux. Nous avons aussi réalisé une analyse basée sur le modèle développé dans le chapitre 3 qui nous a permis d'interpréter les caractéristiques du signal par rapport à l'activité neuronale sous-jacente. Ceci sera présentée dans le chapitre 5. Nous avons réalisé ces analyses à l'aide de techniques génériques d'analyse de signaux (fréquentielles, temps-fréquence) ainsi que des méthodes développées dans le chapitre 4. D'autre part, nous avons étudié la relation entre la variabilité de l'artefact hémodynamique, celle du signal d'activité neuronale, et la magnitude de la réponse évoquée à un stimulus. Ceci a donné lieu à la rédaction d'un article, inclus dans l'Annexe 1 (La Rota 2003, soumission en cours).

Analyse spatio-temporelle :

Dans le chapitre 6 nous avons étudié le problème de l'analyse de l'activité électrique spatio-temporelle du cortex, mesurée en de sites multiples, grâce à la technique de fluorescence potentiel-dépendante. Nous avons étudié quelques techniques d'analyse spatio-temporelle de l'activité neuronale ; en particulier, nous avons étudié un modèle statistique de diffusion d'information (Francois et al., 2000a; Francois et al., 2000b). Nous avons estimé les paramètres

du modèle à partir des données, nous avons étudié le problème d'interprétation des résultats des analyses en termes de processus neuronal sous-jacent (ceci a été réalisé à partir des résultats du chapitre 3), et nous avons étudié l'adéquation de ce modèle à la description nos données.

1.4 Résultats et contributions

L'analyse des signaux expérimentaux réalisée dans le chapitre 5, basée sur les techniques d'estimation des signaux implémentées dans le chapitre 4, et complétée avec les résultats de l'analyse théorique développée dans le chapitre 3 nous ont permis d'obtenir une bonne description des signaux $L_{\Delta F/F}$ en réponse aux stimuli sonores simples, chez l'animal anesthésié. Cette description permet de compléter, et parfois de contester, les descriptions de ce signal qui se trouvent dans la littérature sur le sujet.

En particulier, nous avons montré que, sous les conditions expérimentales habituellement utilisées, la plupart des causes de la variabilité des signaux $L_{\Delta F/F}$ d'un enregistrement à l'autre peuvent s'expliquer par des sources extrinsèques à l'activité neuronale. De plus, nous avons montré que la variabilité intrinsèque à l'activité neuronale est, soit imperceptible puisque trop faible par rapport à la variabilité extrinsèque, soit négligeable puisque son influence sur l'activité corticale évoquée est imperceptible ; et donc, en ce dernier cas elle peut être assimilée à une variabilité extrinsèque. Nous montrons aussi que l'élimination imparfaite de la variabilité extrinsèque est à l'origine de mauvaises interprétations sur le signal optique dans la littérature. Cette discussion est présentée dans l'Annexe 1, et fait l'objet d'une publication en cours (La Rota et al., 2003).

D'autre part, dans le chapitre 3, nous montrons que le signal $L_{\Delta F/F}$, sous des conditions d'anesthésie profonde, peut s'interpréter facilement en fonction de l'intensité des potentiels d'action (PA) qui arrivent au volume du cortex observé par un photodétecteur. Nous montrons aussi que lors de ces conditions, ce signal représente principalement l'activité afférente thalamocorticale plutôt que l'activité intrinsèque au cortex. Ceci est important pour l'interprétation des résultats des analyses spatio-temporelles du chapitre 6.

La méthodologie d'estimation du signal étudié dans le chapitre 4, basée sur le rétrécissement des coefficients de la TO, nous a permis d'éliminer le bruit de mesure dans plusieurs situations. Cependant, nous montrons que, à cause de la dépendance de ces techniques par rapport à la variance du bruit, et au très mauvais RSB des signaux $L_{\Delta F/F}$, les résultats ne sont pas toujours satisfaisants ni homogènes sur l'ensemble des sites. Nous proposons aussi une technique simple et efficace qui permet d'améliorer la qualité de l'estimation.

La méthode développée pour la détection et la caractérisation de l'activité locale synchrone (UE) a été testée sur des signaux synthétisés ainsi que réels avec des résultats satisfaisants. Cependant, n'ayant pas une méthode alternative pour détecter les UE sur un signal réel, il n'a

pas été possible de comparer les résultats par rapport à une méthode déjà existante. Dans un futur, des enregistrements obtenus par la méthode optique et par microélectrodes de manière simultanée, permettront de confirmer ces résultats.

Par rapport à l'artefact hémodynamique, nous montrons que son importante variabilité nous empêche de l'estimer de manière précise par les techniques statistiques ou de traitement du signal qui sont habituellement utilisées. L'élimination de cet artefact est donc un problème non résolu.

Par rapport à l'analyse spatio-temporelle, les résultats préliminaires obtenus avec le modèle de diffusion ont été très encourageants et on fait l'objet de deux publications récentes (Francois et al., 2000a; Francois et al., 2000b). Cependant, nous montrons dans le chapitre 6 plusieurs problèmes qui se présentent dans l'analyse des signaux $L_{\Delta F/F}$ avec ce modèle : des problèmes d'interprétation des résultats, et des problèmes d'adéquation du modèle pour représenter l'activité du cortex auditif en réponse aux stimuli sonores simples.

Finalement, nous montrons tout au long de cette étude l'importance de l'anesthésie dans ce type d'expériences. Nous montrons qu'il est important de réaliser des expériences sous anesthésie légère et contrôlée, ou sur des animaux non anesthésiés, si l'on veut étudier le problème de représentation et de traitement de l'information sensorielle sur le tissu neuronal *in vivo*.

CHAPITRE 2

Contexte Expérimental

Pendant cette étude nous avons eu à notre disposition des données sur l'activité électrique du cortex auditif en réponse aux stimuli sonores, enregistrées chez le cobaye. Ces données ont été obtenues avec une technique optique, basée sur la mesure des changements de fluorescence de certains colorants par rapport au potentiel de membrane (*Voltage-Sensitive Dye Optical Imaging*) (Grinvald et al., 1999b).

Nous allons d'abord décrire le principe théorique de cette technique, nous verrons ensuite le protocole expérimental utilisé, puis nous décrirons les erreurs de mesure de la technique à partir d'une analyse expérimentale, et finalement nous montrerons la méthode traditionnellement utilisée pour estimer l'activité corticale en réponse aux stimuli à partir de ces données.

2.1 Technique d'Enregistrement Optique de Fluorescence Potentiel-Dépendante

2.1.1 Principe de la technique

La technique d'enregistrement optique par colorants potentiel-dépendants (VSDI = « Voltage-Sensitive Dye-Imaging ») est basée sur la propriété qu'ont certains colorants de se lier à la membrane de cellules excitables et de changer leurs propriétés optiques en fonction des changements du potentiel de membrane. Cette technique permet l'observation de l'activité neuronale *in vivo* (Cohen et al., 1968; Tasaki et al., 1968) et permet d'obtenir une information complémentaire aux techniques électrophysiologiques plus classiques (EEG, ECoG, etc.).

Il existe en général deux types de colorants potentiel-dépendants, les colorants rapides et les colorants lents. Les colorants lents fonctionnent selon un principe de redistribution potentiel-dépendante, ses temps caractéristiques de réponse sont de l'ordre de 1 à 20 secondes, donc trop lents pour l'observation de l'activité électrique neuronale. Les colorants rapides sont des molécules amphipatiques qui se lient à la surface externe de la membrane cellulaire. Suivant divers mécanismes, leurs propriétés optiques (absorption ou fluorescence) varient par rapport aux variations du potentiel de membrane. Selon Ebner, ces mécanismes ne sont pas encore bien compris, mais il est possible qu'ils impliquent le mouvement de charges ou de molécules par rapport aux changements électriques dans l'environnement (Ebner & Chen, 1995). Ce sont des molécules longues qui se caractérisent par un moment dipolaire important. Chaque molécule est constituée d'un pôle hydrophobe qui permet à la molécule de s'attacher à l'intérieur de la bicouche lipidique de la membrane, et d'un pôle hydrophile avec une charge fixe qui empêche la molécule de trop pénétrer ou de traverser la membrane (voir Figure 2-1). C'est donc grâce à ce moment dipolaire que les molécules du colorant sont sensibles aux variations dans le champ électrique environnant (Grinvald et al., 1999b); ce sont des transducteurs qui transforment un

signal électrique en un signal optique. Dans le cas des mesures de fluorescence, les valeurs des signaux mesurés s'expriment en $\Delta F/F$ (le rapport entre le changement de fluorescence dû au changement de potentiel de membrane de la cellule et la valeur de fluorescence de base).

Le colorant utilisé pour obtenir nos données (RH795) (synthétisé par Rina Hildesheim, du Weizmann Institute en Israël) appartient à la classe des colorants de type styryl, une des quatre classes principales de colorants potentiel-dépendants (Ebner & Chen, 1995).

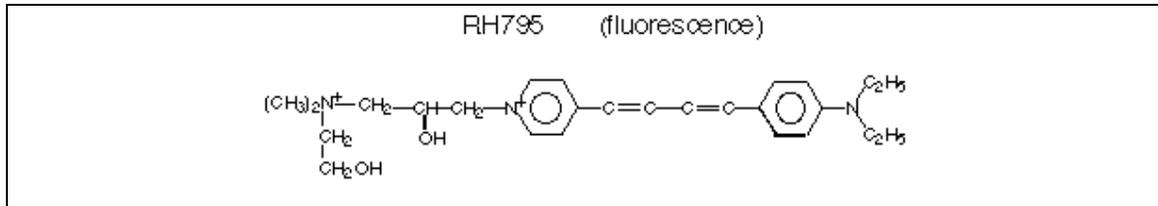


Figure 2-1 Structure chimique du colorant RH795. A gauche le pôle hydrophile qui empêche la molécule de traverser la membrane, à droite le pôle hydrophobe qui pénètre la membrane cellulaire.

Ce type de colorants se caractérise par sa réponse rapide, de l'ordre de la milliseconde. Selon le fabricant (Molecular Probes, Inc.) ils sont adéquats pour la détection de faibles changements de potentiels, la détection d'activité synaptique et la détection de l'activité des canaux ioniques. Cependant, la magnitude de changements de fluorescence par rapport aux changements de potentiel de membrane est faible (2 à 10% / 100mV). La meilleure sensibilité citée dans la littérature (~20% / 100mV) a été obtenue lors de la mesure de potentiels d'action de neurones en culture avec le colorant RH421 et lors de la mesure de l'activité neuronale dans des tranches de néocortex du cobaye avec le RH795. La sensibilité obtenue dans les expériences *in vivo* est, en général, beaucoup plus faible. Dans ce cas, seulement une fraction des molécules du colorant est liée à la membrane et la fraction qui n'est pas liée ajoute un niveau de fluorescence de fond important (Ebner & Chen, 1995; Shoham et al., 1999). La réponse du colorant RH795 est linéaire par rapport au changement du potentiel de membrane, et sa fluorescence diminue avec la dépolarisation de la membrane ; c'est donc un signal « négatif » par rapport à l'augmentation de l'activité neuronale. Les variations de fluorescence mesurées par les détecteurs dépendent de la surface totale de la membrane ; le signal reflète donc principalement la somme des changements des potentiels dendritiques (Grinvald et al., 1999b).

2.1.2 Bruit de détection

Le rapport signal sur bruit d'une chaîne de détection à photodiodes est donné par l'équation :

$$\frac{S}{B} = \frac{qA\eta\Phi}{\sqrt{2Aq^2\Delta v\eta\Phi + \sigma^2\Delta v}}$$

où A est la surface du détecteur, Φ est le flux de photons, q est la charge de l'électron, η est le rendement quantique du détecteur, $\Delta\nu$ la bande passante, et σ^2 est la variance du bruit de l'amplificateur (Rosencher & Vinter, 1998).

Si l'on simplifie (en ignorant le bruit de l'amplificateur) on s'aperçoit que le rapport signal sur bruit est proportionnel à la racine carré du nombre de photons qui arrivent à la photodiode (N), proportionnel au gain total du détecteur, et inversement proportionnel à la racine carrée de la bande passante du système de détection.

$$\frac{S}{B} \approx \frac{A\Phi\eta}{\sqrt{2A\Phi\eta\Delta\nu}} = \frac{\sqrt{\eta N}}{\sqrt{2\Delta\nu}}$$

Dans le cas de l'enregistrement optique par fluorescence, le signal utile est donné par la variation de l'intensité de fluorescence (due au changement du potentiel de membrane) par rapport à la fluorescence de fond ($\Delta F/F$). Dans ce cas, le rapport signal sur bruit est donné par :

$$\frac{S}{B} \approx \frac{\Delta F \eta}{\sqrt{2F \eta \Delta\nu}} = \frac{\Delta F}{F} \frac{\sqrt{\eta F}}{\sqrt{2\Delta\nu}}$$

Finalement nous pouvons écrire le rapport signal sur bruit comme :

$$\frac{S}{B} \approx \frac{\Delta F}{F} \sqrt{2\eta\tau\sqrt{gF}}, \quad \text{Equation 2-1}$$

où $\tau = 1/4 \Delta\nu$ est le temps de réponse de la photodiode et g est un facteur géométrique qui dépend du détecteur (Grinvald et al., 1999b).

Dans les mesures de l'activité de populations de neurones, la fraction $\Delta F/F$ est relativement indépendante de l'épaisseur effective du cortex qui produit le signal d'activité (n), de manière qu'une augmentation de F (et de ΔF) produite par une augmentation (ou une diminution) du nombre de neurones actifs sous le photodétecteur augmente (théoriquement) le RSB par un facteur \sqrt{n} . Néanmoins, pour des mesures de l'activité neuronale *in vivo*, le RSB diminue au lieu d'augmenter. Dans ce cas, un faible nombre de molécules de colorant se lient à la membrane neuronale. Le reste des molécules va augmenter la valeur de F (fluorescence de fond), de telle manière que le rapport $\Delta F/F$ diminue. De plus, l'intensité d'illumination que ces colorants nécessitent est souvent très faible. De ce fait, et puisque la valeur de F est proportionnelle à l'intensité de l'illumination externe, le RSB est souvent très faible.

En conclusion, le signal de fluorescence enregistré *in vivo* sur le cortex est un signal très bruité, et la détection de faibles changements du potentiel de membrane est a priori très difficile. A noter qu'il est très difficile d'observer des potentiels d'action isolés dans les expériences réalisées *in vivo* sur le néocortex. Cependant, il est possible, en principe, d'enregistrer des variations rapides de l'activité synaptique conjointe d'un grand nombre de neurones à condition que ces variations soient simultanées.

2.2 Description du Protocole Expérimental

2.2.1 Contexte des expériences

Les enregistrements de l'activité électrique spatio-temporelle du cortex auditif ont été réalisés dans le cadre d'une collaboration entre l'équipe μ ISFV du laboratoire TIMC et le département de neurophysiologie de l'Université Médicale et Dentaire de Tokyo, Japon.

Les expériences ont été réalisées à Tokyo par le Dr Junsei Horikawa, neurophysiologiste, selon un protocole expérimental d'enregistrement optique mis au point dans le laboratoire du Pr. Taniguchi (Horikawa et al., 1996; Taniguchi et al., 1992). Les détails de chaque expérience ont été définis tout au long de l'étude de façon conjointe avec le Dr Junsei Horikawa. Les données ont été enregistrées sur disque et amenées à Grenoble pour l'analyse.

2.2.2 Protocole d'expérimentation animale

Le protocole d'expérimentation animale suivi est expliqué en détail dans l'article original de J. Horikawa de 1996 (Horikawa et al., 1996); seuls les aspects les plus importants vont être décrits ici.

L'animal utilisé pour réaliser les enregistrements est le cobaye, ou cochon d'Inde (*Cavia porcellus*). Les enregistrements ont été faits sur l'animal anesthésié au Nembutal (Penthiobarbital sodium) (30mg/kg) et maintenu avec des doses supplémentaires de Nembutal (10mg/kg-h) et de Neuroleptanalgesic (droperidol, 0.3mg/kg-h, et pentazocine, 1,1 mg/kg-h).

Un trou de 4 à 5 mm a été perforé dans l'os temporal, et le cortex auditif a été exposé. Les membranes dure-mère et arachnoïde ont été enlevées, et le cortex auditif a été préparé pour l'enregistrement avec la pose du colorant RH795 (0.2 mg/ml dilué en solution saline) pendant 90 minutes. L'animal a été positionné avec un micromanipulateur sous l'appareil d'enregistrement optique et les expériences ont été réalisées dans une salle obscure avec un isolement acoustique.

2.2.3 Caractéristiques de la zone observée

Le cerveau de cette espèce se caractérise par un cortex lisse, sans circonvolutions, idéal pour l'enregistrement de l'activité spatio-temporelle avec la méthode optique. Selon Wallace et al. (2000) le cortex auditif du cobaye mesure de 4 à 5 mm dans la dimension dorso-ventrale et de 3 à 3,5 mm dans la dimension rostro-caudale. La zone imagée est indiquée de façon

approximative dans la Figure 2-2 (Droite). Elle est située sur le cortex auditif et couvre une surface d'environ 3mm x 3mm.

Le cortex auditif du cobaye comprend, d'une part, trois aires fonctionnelles qui présentent une organisation tonotopique (i.e. les neurones répondent à une fréquence ou une bande de fréquences préférentielles et sont organisés spatialement par rapport à ces fréquences) : les aires antérieure (A), dorso-caudale (DC) et petite (S:). D'autre part, il y a deux régions ou « ceintures » (rostrale et caudale) qui entourent les aires principales (A et DC) et qui ne présentent pas ce type d'organisation tonotopique. Les réponses évoquées suite aux stimuli des fréquences fixes se propagent sur des bandes iso-fréquentielles orientées dans la direction rostro-dorsale <-> caudo-ventrale dans les aires principales (A et DC) (Redies et al., 1989b). Plus récemment, une subdivision plus détaillée a été obtenue : l'aire antérieure serait composée de deux régions. L'une, qui comprend la presque totalité de l'aire A, serait effectivement l'aire auditive primaire (AI) ; l'autre serait une nouvelle « ceinture » ventro-rostrale (VRB) d'organisation tonotopique similaire à celle de l'aire AI (Wallace et al., 1999; Wallace et al., 2000).

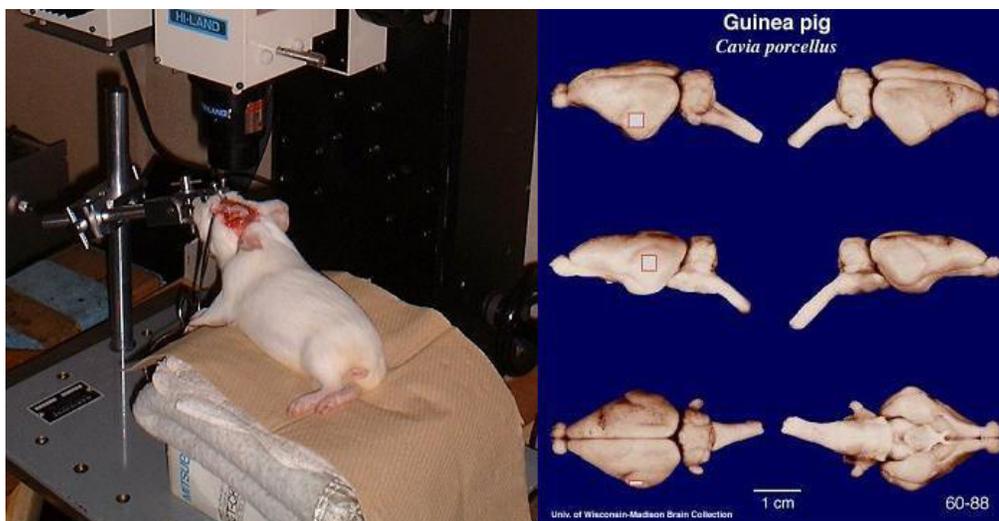


Figure 2-2. Gauche : Technique d'enregistrement de l'activité électrique du cortex auditif par fluorescence potentiel-dépendante, montage expérimental (Photo courtoisie du Dr Junsei Horikawa, département de neurophysiologie de la faculté d'Odontologie et de Médecine de l'Université de Tokyo, Japon). **Droite :** Cerveau du cochon d'Inde (cobaye). La zone observée est indiquée par le petit carré superposé. (Images adaptées du site <http://brainmuseum.org/> (University of Wisconsin and Michigan State Comparative Mammalian Brain Collections, financé par : National Science Foundation et National Institute of Health, U.S.A.)).

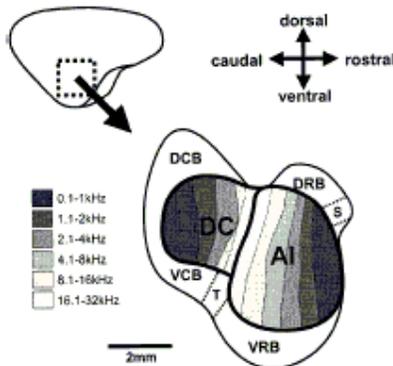


Figure 2-3. Schéma des aires fonctionnelles du cortex auditif du cobaye et organisation tonotopique des aires principales (Auditive Primaire et Dorso-Caudale) (tiré à partir de : (Rutkowski et al., 2000) avec permission de Elsevier Science). Cette figure correspond au cortex auditif de l'hémisphère opposé à celui que nous avons étudié (comparer avec la Figure 2-2).

L'appareil d'enregistrement a été focalisé sur les aires principales, AI et DC, mais il est possible que les activités des autres régions soient aussi imagées.

2.2.4 *Stimulation Auditive*

L'oreille controlatérale au site d'enregistrement a été stimulée au début de chaque expérience avec des sons de fréquences pures (4, 7, 8, 12, 14, 16 kHz) ou avec des sons FM (4-16, 16-4 kHz), multipliés par une fenêtre temporelle de 50 msec de durée dans le premier cas et de 100 msec de durée dans le deuxième cas. Les fenêtres étaient de forme trapézoïdale avec 10 msec de montée et 10 msec de descente. L'intensité de stimulation était de 70 ou 75 dB SPL pour les sons purs et de 70 dB SPL pour les sons FM.

2.2.5 *Enregistrement Optique*

Un microscope (Hiland LW-101, grossissement : $\times 5$, NA : 0.4) a été focalisé à $200\mu\text{m}$ sous la surface du cortex auditif. La zone observée, de $3\text{mm} \times 3\text{mm}$, a été epi-illuminée avec une bande passante de 480 à 580 nm. Le signal de fluorescence émis par le cortex auditif a été filtré (passe-longue) à 620nm et projeté sur une matrice de 144 (12×12) photodiodes ; dont la résolution spatiale estimée est supérieure à $(1 \text{ pixel})/(300\mu\text{m})^2$ (Horikawa et al., 1996), mais inférieure à $(1 \text{ pixel})/(250\mu\text{m})^2$ en raison de la dispersion de la lumière.

Les 144 signaux ont été amplifiés (2000x), filtrés à 1 kHz (passe-bas), puis échantillonnés à une fréquence de 1.7361 kHz (soit 0.576 msec/image) ; 300 échantillons par site ont été enregistrés

dans chaque expérience (172,8 msec). La résolution de la conversion analogique-numérique est de 16 bits.

- Note : La combinaison d'un filtre de 1 kHz et d'une fréquence d'échantillonnage de 1.7361 kHz ne vérifie pas le théorème d'échantillonnage de Shannon-Wittaker ; il est clairement insuffisant pour remplir les conditions d'anti-recouvrement de l'échantillonnage. Cependant, l'appareil de mesure utilisé ne permettait pas d'utiliser un filtre de fréquence plus basse ni une fréquence d'échantillonnage plus rapide (différents constructeurs...). Ce problème a été pris en compte pendant les analyses, mais il était inévitable.

L'appareil de mesure et d'enregistrement n'a pas pu être caractérisé étant donné les difficultés d'accès aux appareils (distance géographique France-Japon). Nous savons, selon les catalogues, que la réponse des photodiodes est très rapide (7 nsec) et linéaire jusqu'à 100MHz. Le convertisseur A/D a une réponse linéaire jusqu'à 9 kHz et les expérimentateurs ont testé l'appareil d'enregistrement jusqu'à 9 kHz sans que le signal recueilli ne soit déformé. Néanmoins, nous n'avons pas pu estimer le RSB à la sortie des détecteurs puisque nous ne connaissons pas le bruit introduit par l'appareil de mesure de manière précise, ni celui introduit par la technique de fluorescence. Nous connaissons seulement le bruit des photodiodes (4-6 μ V) et celui de l'amplificateur (10 μ V à 1000 x). Selon ces valeurs, le bruit mesuré introduit par les instruments serait donc d'environ 30 mV rms. Cependant, nous ne connaissons pas la relation entre la valeur mesurée de $\Delta F/F$ et le changement du potentiel de membrane correspondant, ce qui permettrait de donner un sens à cette valeur. Un calibrage serait nécessaire pour que cette valeur puisse être comparée aux valeurs du changement de potentiel.

On note cependant que le bruit intrinsèque à la mesure de fluorescence dépend de la valeur réelle de $\Delta F/F$, ainsi que du niveau de fluorescence de base (F) (voir Equation 2-1). Il est donc variable d'expérience en expérience (et même pendant une même expérience d'un enregistrement à l'autre du fait de la décomposition du colorant au contact de l'air). En outre, le RSB dépend fortement du rapport entre le nombre de molécules liées à la membrane et le nombre de molécules libres dans l'espace extracellulaire ou fixées aux cellules gliales, ce qui donne un très mauvais RSB lors des enregistrements *in vivo*. Il faut noter que la dépolarisation de la membrane a pour résultat une diminution de la fluorescence du colorant RH795. Par conséquent la variance du bruit de détection augmente lorsque l'activité synaptique du tissu cortical observé augmente. Néanmoins, il est difficile de quantifier cette augmentation. Finalement, le RSB diminue avec l'augmentation de la vitesse de réponse du photodétecteur (qui dans notre cas est très rapide : 7 nsec).

En plus du bruit de photo-détection, ces signaux présentent une déformation lente, corrélée avec les pulsations cardiaques. La magnitude de cette erreur de mesure dépend principalement de la longueur d'onde de la lumière utilisée pour exciter le colorant fluorescent. Dans le cas du colorant le plus couramment utilisé dans ce type de mesure, le RH795, elle coïncide avec le pic d'absorption de l'hémoglobine, raison pour laquelle les changements dans la concentration de l'hémoglobine affectent fortement la quantité de photons disponibles pour exciter le colorant (Shoham et al., 1999). De ce fait, et à cause de l'irrigation sanguine de la zone observée, les

signaux sont contaminés par un grand artefact d'une amplitude largement supérieure au signal de changement du potentiel de membrane.

2.3 Analyse expérimentale des erreurs dans la mesure d'activité neuronale par la méthode optique

Comme nous l'avons signalé, une caractérisation détaillée et précise des instruments n'a pas été possible. Les sources d'erreur ont été donc étudiées de manière indirecte, par des expériences adaptées demandées aux expérimentateurs et par l'étude de la bibliographie existante sur le sujet.

Parmi les sources d'erreur qui nuisent à l'estimation de l'activité électrique neuronale à partir des signaux enregistrés avec la technique optique, on peut nommer les suivantes :

- Le bruit introduit par la chaîne d'acquisition.
- Les fluctuations de l'intensité de la lumière pour exciter les molécules fluorescentes.
- Les artefacts dus à l'activité hémodynamique dans le tissu cortical.
- Des variations lentes du signal d'origine physiologique, qui ont une relation avec l'activité neuronale mais qui sont indépendantes du colorant potentiel-dépendant (appelées « signaux intrinsèques » dans la littérature sur la technique optique).

Les sources d'erreur les plus importantes sont le bruit introduit par la chaîne d'acquisition, et les artefacts dus aux pulsations cardiaques. Elles ont été étudiées en détail dans ce chapitre. Les fluctuations de la lumière d'excitation, qui peuvent être une source de bruit importante, et les signaux intrinsèques sont difficiles à caractériser avec nos données.

2.3.1 Caractérisation du bruit des instruments

Deux types d'expériences ont été réalisés (i.e. demandés aux expérimentateurs qui ont, eux, réalisé les expériences) afin d'estimer et d'étudier le bruit des instruments de façon indirecte. Dans un premier jeu de données, les enregistrements ont été faits sur le cortex d'un animal mort (l'animal est toujours sacrifié une fois l'expérience terminée) de façon à obtenir un signal de fluorescence sans activité neuronale (voir Figure 2-4). Un deuxième jeu de données a été obtenu sans lumière d'excitation de manière à observer uniquement le bruit introduit par l'instrument de mesure dans des conditions expérimentales (voir Figure 2-8).

2.3.1.1 *Fluctuations du signal, observées sur le cortex d'un animal mort*

Ces données présentent typiquement une distribution un peu asymétrique, qui comporte souvent des déviations importantes par rapport à la distribution gaussienne (voir Figure 2-6). Elles présentent parfois des oscillations lentes non négligeables; la magnitude de ces oscillations dépend du site de mesure, et elles ne sont pas toujours présentes (voir Figure 2-5). L'origine de ces oscillations n'est pas très claire; elles peuvent être dues, par exemple, aux variations d'intensité de la source de lumière d'excitation du colorant, mais cette hypothèse n'a pas pu être confirmée. Les statistiques calculées pour l'ensemble des sites de mesure ne sont pas homogènes à travers les sites (voir Figure 2-7); ceci indique une variabilité spatiale importante. Néanmoins, il est possible que les enregistrements obtenus sur l'animal mort ne représentent pas uniquement le bruit des instruments, mais aussi d'autres fluctuations d'origine inconnue telles que des oscillations de la source de lumière ou des activités biologiques résiduelles (non physiologiques) dans le tissu de l'animal.

2.3.1.2 *Fluctuations du signal, observées en l'absence de la lumière d'excitation*

Un deuxième jeu de données a été obtenu sans la lumière d'excitation du colorant fluorescent potentiel-dépendante. On espérait ainsi enregistrer des données libres des fluctuations dues aux variations de la fluorescence, et probablement plus représentatives du bruit des instruments (Figure 2-8). Une différence par rapport aux données obtenues sur l'animal mort est perceptible. La distribution des valeurs du signal est beaucoup plus symétrique et s'approche plus de la Gaussienne. Les corrélations lentes sont négligeables, et les statistiques sont très homogènes sur l'ensemble des sites d'enregistrement. Ceci indique que ces données peuvent être une meilleure représentation du bruit des instruments. De plus, la valeur de l'écart type de ces données ($\sigma_{\text{pas-lumière}} \approx 0.1 \times K$; où $K = 1.8315 \times 10^{-3} \Delta F/F$) montre que la puissance du bruit des instruments, mesurée de cette manière, contribue de manière significative à la variabilité totale observée sur l'animal mort, puisque $0.1 \times K < \sigma_{\text{mort}} < 0.15 \times K$ ($\sigma = \text{écart type} = \text{SD}$ dans les figures).

- On peut donc en conclure que le bruit introduit par les instruments de mesure et d'enregistrement peut être modélisé, dans une première approximation, par une distribution Gaussienne non corrélée.

Il faut noter qu'aucune de ces deux approches (mesure sur l'animal mort et mesure sans lumière d'excitation) n'est idéale pour caractériser les instruments. Cependant, pour faire une caractérisation plus précise des bruits instrumentaux, il faudrait concevoir un test adéquat et avoir accès aux instruments.

2.3.2 *Artefact de pulsation cardiaque*

La source d'erreur de mesure la plus importante est la sensibilité de la technique à l'activité hémodynamique. Cet artefact est beaucoup plus grand que le signal d'activité neuronale et présente un comportement oscillatoire qui reproduit les pulsations cardiaques. Le contenu

spectral moyen des signaux enregistrés en absence de stimulation est donc caractérisé par des pics spectraux dans la fréquence cardiaque (~ 5.2 Hz) et ses harmoniques (voir Figure 2-11 (A et B)). Des oscillations plus lentes ($f \sim 1.5$ Hz) sont aussi apparentes, elles peuvent être dues à l'activité thalamo-corticale pendant le sommeil profond ou l'anesthésie (rythme δ) (Steriade et al., 1993).

Les algorithmes d'estimation de l'activité neuronale font souvent appel à l'hypothèse d'une bonne reproductibilité de cet artefact pour l'éliminer. Cependant, cet artefact dépend du rythme cardiaque, et il est maintenant bien connu que le rythme cardiaque, tout comme d'autres rythmes biologiques, se caractérise par une grande variabilité (Malik & Camm, 1995). Cette variabilité est en partie due au contrôle exercé par le système nerveux autonome et par un système complexe de réflexes (Hainsworth, 1995); et même si l'application d'anesthésiques peut l'atténuer (Storella et al., 1999) elle ne disparaît pas complètement.

L'amplitude de cette variabilité par rapport à l'amplitude des réponses évoquées est importante. Ceci est illustré dans la Figure 2-11 (C et D) et dans la Figure 2-12. La variabilité de l'artefact par rapport à sa moyenne d'ensemble est du même ordre de magnitude que l'amplitude de la réponse évoquée moyenne (voir Figure 2-11-D). Si l'on estime l'artefact à chaque enregistrement par sa moyenne, cette estimation sera biaisée systématiquement (voir Figure 2-12-B). La variabilité de l'artefact par rapport à l'artefact observé dans le cycle précédent est plus petite en moyenne que la variabilité par rapport à l'artefact moyen. Néanmoins, elle n'est pas négligeable, et une estimation de l'artefact dans un enregistrement par l'artefact observé précédemment est très souvent biaisée (voir Figure 2-12-A). Cet artefact est la source d'erreur la plus importante dans ce type de technique puisqu'il est extrêmement difficile à séparer de manière précise du signal d'activité neuronale.

2.4 Protocole d'enregistrement et estimation traditionnelle de l'activité corticale

La réponse du cortex à un stimulus dans chaque site de mesure est couramment estimée, d'abord, par soustraction de deux enregistrements (sans et avec stimulation), puis par la moyenne d'ensemble de plusieurs mesures répétées (voir Figure 2-13). Le déclenchement de l'enregistrement du signal et de la stimulation sont synchronisés avec le pulse cardiaque afin d'avoir une bonne reproductibilité de l'artefact hémodynamique. Un enregistrement en absence de stimulation a été réalisé avant chaque enregistrement fait en présence d'un stimulus afin d'estimer l'artefact dans chaque signal obtenu. Cependant, la reproductibilité de l'artefact n'est pas parfaite, comme nous l'avons illustré dans la section précédente. Il est donc très difficile d'obtenir des signaux propres avec cette technique, ce qui rend son étude très complexe.

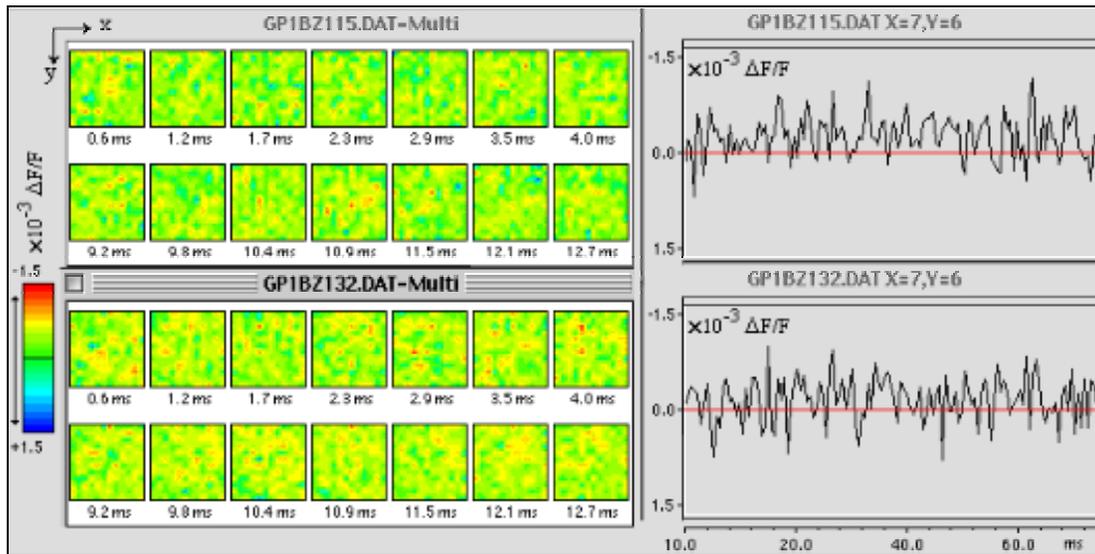


Figure 2-4. Deux enregistrements obtenus sur le cortex du cobaye mort. A gauche, l'évolution spatio-temporelle des signaux pendant quelques millisecondes est illustrée. A droite, des signaux d'activité locale observés dans chaque enregistrement sur un même site de mesure.

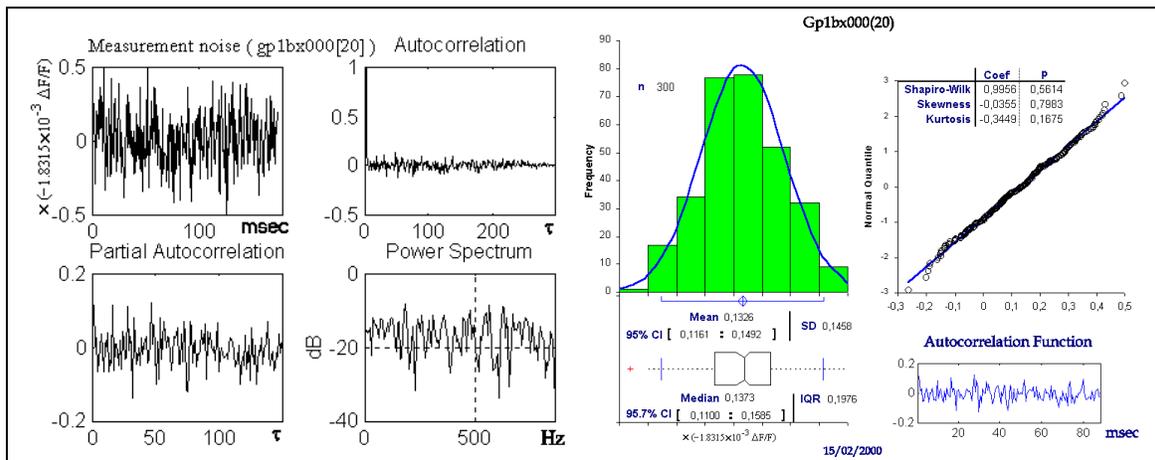
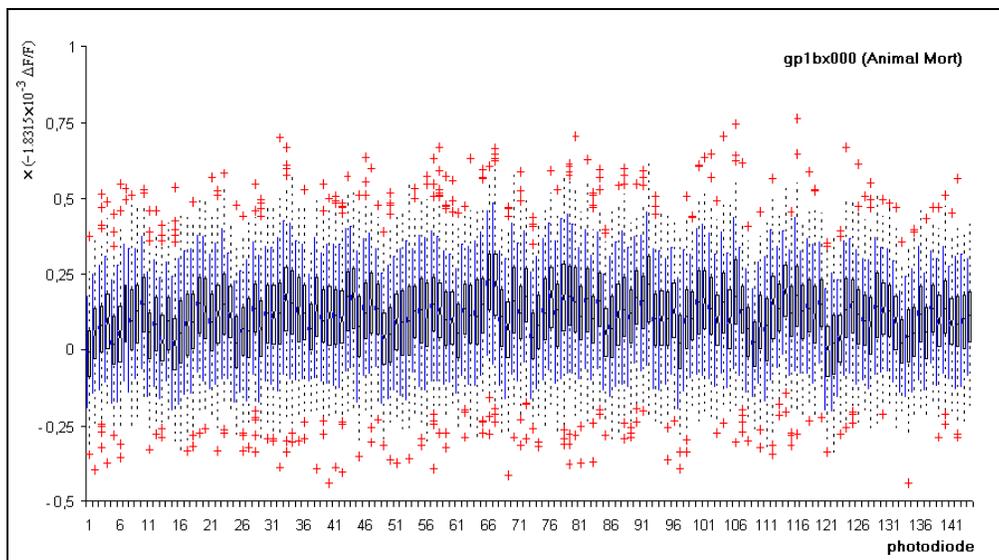
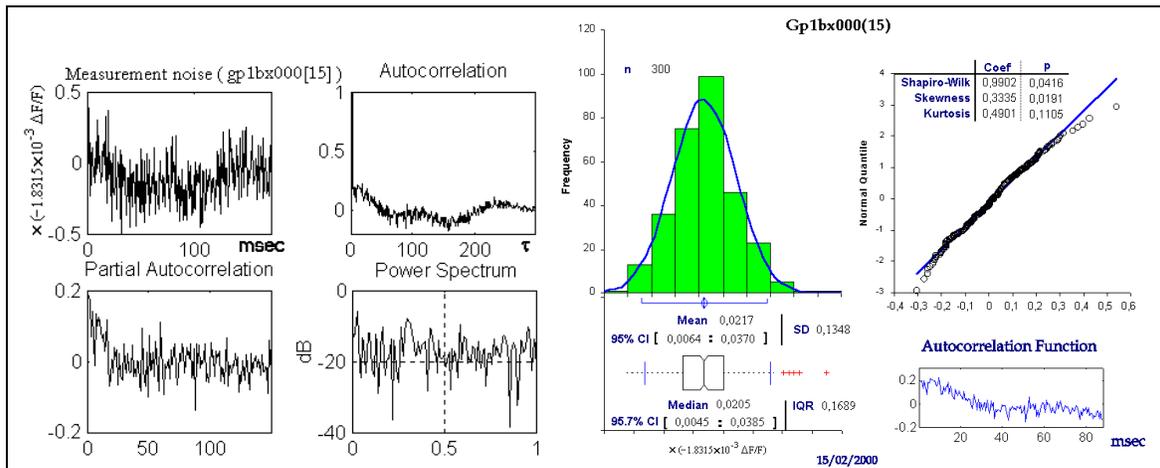


Figure 2-5. Analyse descriptive statistique et fréquentielle du signal $L_{\Delta F/F}$ mesuré sur un site du cortex d'un animal mort. **A gauche** : un signal brut et ses fonctions d'autocorrélation, autocorrélation partielle et densité spectrale de puissance empiriques (normalisées). Les corrélations sont négligeables. **A droite** : des statistiques descriptives, histogramme, graphique de quantiles par rapport à la distribution normale, tests de normalité. Les déviations de la Gaussienne sont négligeables.



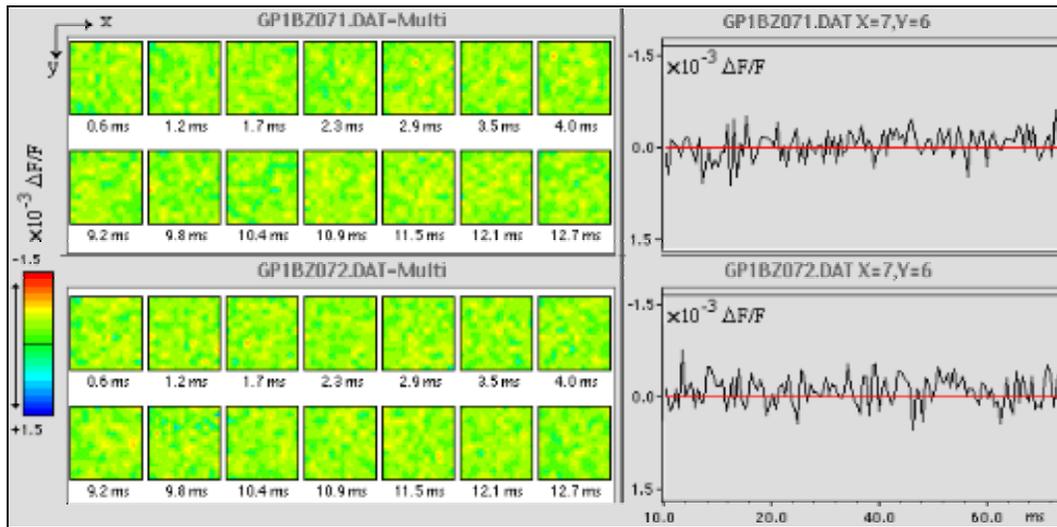


Figure 2-8. Deux enregistrements obtenus sans lumière d'excitation correspondant à deux photodétecteurs différents. **A gauche**, l'activité spatio-temporelle pendant quelques millisecondes. **A droite**, des signaux d'activité locale observés sur le même site de mesure dans chaque enregistrement.

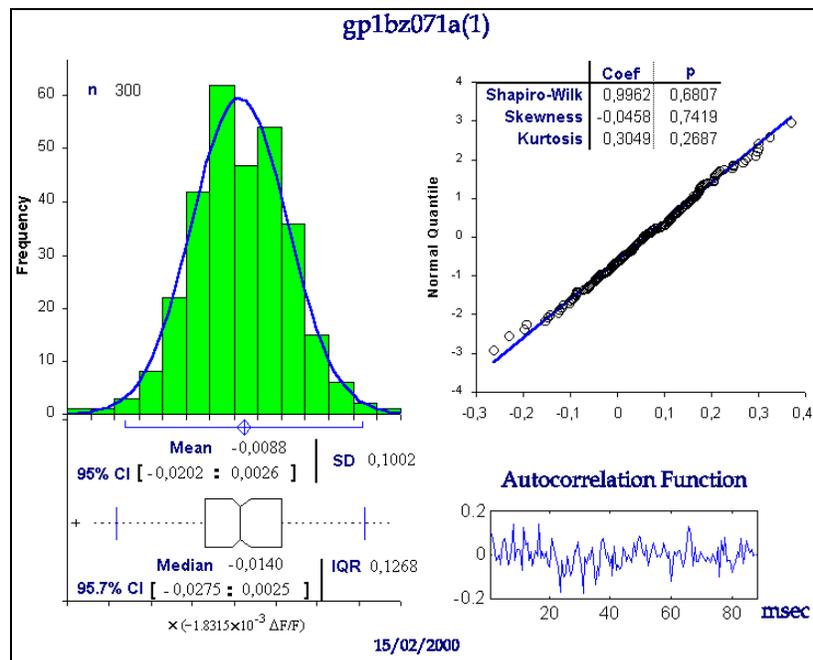


Figure 2-9. Analyse statistique descriptive d'un enregistrement obtenu sans lumière d'excitation. L'histogramme, graphique de quantiles par rapport à la distribution normale, des tests de normalité, et la fonction d'autocorrélation sont illustrés. Les déviations de la Gaussienne et les corrélations sont négligeables.

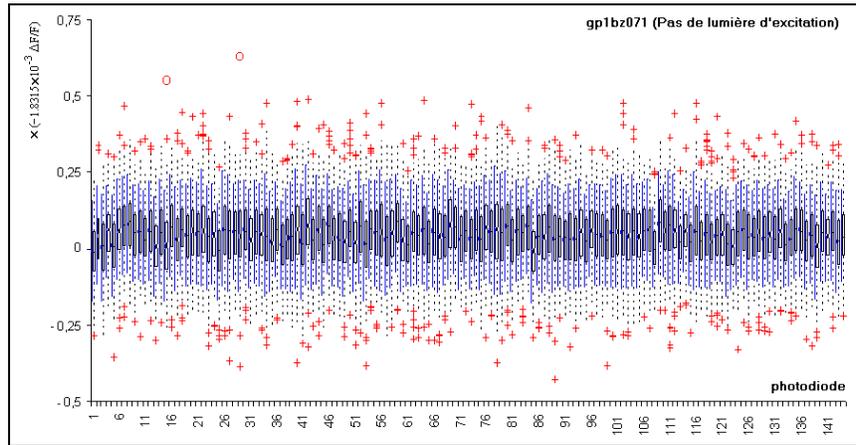


Figure 2-10. Statistiques descriptives de base (diagrammes à boîte et moustache) pour l'ensemble de sites de mesure. Enregistrements réalisés sans lumière d'excitation. L'homogénéité des statistiques est manifeste.

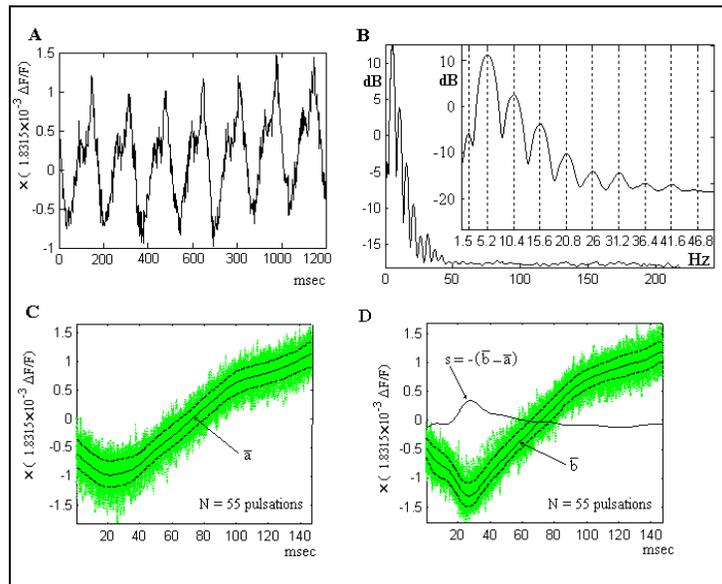


Figure 2-11. Caractéristiques de l'artefact hémodynamique. **A** : Signal $L_{\Delta F/F}$ enregistré en absence de stimulation, plusieurs cycles de l'artefact hémodynamique sont visibles. **B** : Spectre de l'artefact, estimé par la moyenne d'ensemble des spectres individuels de 288 signaux (2 enregistrements, 144 sites). Le cadre intérieur montre un agrandissement du spectre pour $f < 50$ Hz. **C** : Les parties initiales de l'artefact pour 55 enregistrements sont superposées, ainsi que sa valeur moyenne et son écart type autour de cette moyenne. **D** : Idem pour 55 enregistrements en présence d'un stimulus (12 kHz, 50 msec de durée) synchronisé avec chaque pulse cardiaque. La réponse évoquée moyenne (s) est estimée par soustraction de la moyenne des courbes en C et celle des courbes en D.

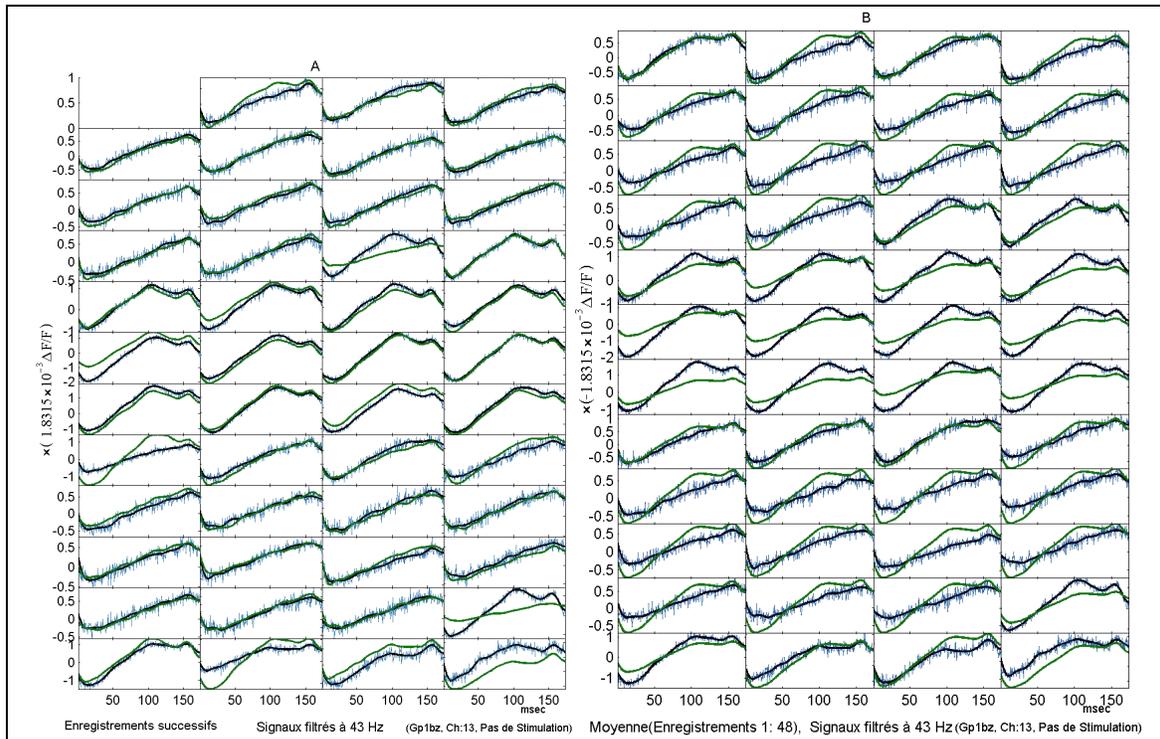


Figure 2-12. Illustration de la reproductibilité de l'artefact hémodynamique dans plusieurs enregistrements successifs sans stimulation (Ordre d'enregistrement : de gauche à droite et de haut en bas). Les signaux ont été filtrés par un filtre passe-bas (butterworth, $f_c = 40$ Hz) afin d'éliminer le bruit de la mesure. A chaque enregistrement, le signal brut (courbe bleu) et le signal filtré (courbe noire) sont comparés avec : **(A)** l'enregistrement précédent filtré et **(B)** la moyenne d'ensemble de tous les enregistrements filtrée (courbes vertes).

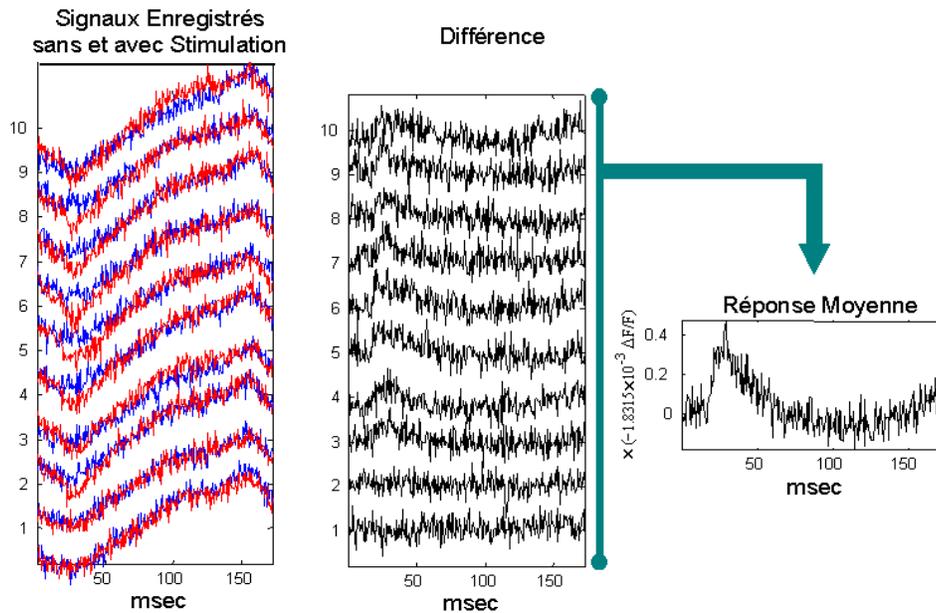


Figure 2-13. Estimation traditionnelle du signal optique. **A gauche :** En rouge les signaux enregistrés sous stimulation sonore dans un site de mesure, en bleu les signaux enregistrés en absence de stimulation. **Au centre :** Réponses évoquées individuelles estimées. **A droite :** Moyenne d'ensemble des réponses individuelles.

2.5 Synthèse

Dans ce chapitre nous avons décrit la technique de mesure des changements de potentiel de membrane in-vivo par fluorescence potentiel-dépendante, les erreurs de cette mesure, et la manière traditionnelle d'estimer l'activité corticale en réponse aux stimuli à partir des signaux fournis par cette technique.

- Nous avons montré que le bruit instrumental peut être modélisé par une distribution Gaussienne de corrélation nulle. La variance du bruit des instruments est très grande par rapport au signal d'activité corticale et ceci est une source d'erreur très importante dans l'étude de l'activité corticale. En particulier, elle pose des difficultés pour l'étude des fluctuations rapides, de faible amplitude.
- Une deuxième source d'erreur, un artefact très important, provient de la sensibilité du colorant RH795 à l'activité hémodynamique ; cet artefact reflète le pulse cardiaque et son amplitude est plusieurs fois plus grande que celle de l'activité corticale en réponse aux stimuli. En particulier, nous avons montré que la variabilité de cet artefact est du même ordre de magnitude que l'amplitude de la réponse évoquée, ce qui pose un problème très important pour son estimation, et par conséquent, pour l'estimation de l'activité corticale.

CHAPITRE 3

Analyse théorique et interprétation des signaux d'activité corticale obtenus par fluorescence potentiel-dépendante

Dans ce chapitre nous avons réalisé une étude théorique sur la composante neuronale du signal optique afin de mieux connaître ses caractéristiques, de mieux en extraire l'information sur l'activité neuronale à partir de ce type de signal, et de permettre une interprétation correcte des résultats obtenus lors des analyses des données expérimentales en termes d'activité physiologique du cortex. Nous présenterons ensuite un résumé des points les plus importants qui ont été traités dans ce travail (le reste du texte ayant été rédigé en anglais).

Nous allons étudier, d'un point de vue théorique, le signal de fluorescence potentiel-dépendante observé sur le cortex dans un seul site de mesure. Nous nous intéresserons en particulier à l'interprétation d'un signal observé sur la surface du cortex, à une échelle de l'ordre de $(100\mu\text{m})^2$ (échelle mésoscopique), en fonction de ses sources à l'échelle neuronale (échelle microscopique).

En premier lieu, nous allons présenter une synthèse bibliographique des aspects les plus importants physiologiques, anatomiques et fonctionnels du cortex auditif ; en particulier, ceux qui ont une relation avec la formation du signal de fluorescence (section 3.1). A partir de cette information de base, nous montrerons que, dans certains cas la forme du signal de fluorescence peut être interprétée d'une manière simple en fonction de l'activité dendritique post synaptique dans la région observée par le photodétecteur, et que par extension, elle peut être interprétée en fonction de l'intensité de l'activité neuronale afférente (trains de PA presynaptiques) (ceci sera présenté dans la section 3.2). L'origine de cette activité neuronale afférente dépend du type et du niveau d'anesthésie, et nous montrerons que, pour nos données, une partie importante de cette activité a probablement une origine thalamo-corticale ou cortico-corticale et que l'activité d'origine intracorticale est probablement très faible. Ceci a des conséquences importantes pour l'analyse multi-sites qui sera présentée au chapitre 6.

Cette interprétation permet ensuite la description et la caractérisation d'un signal quelconque en fonction des événements neuronaux sous-jacents. Ainsi, dans la section 3.3, nous discuterons plusieurs manières de caractériser ces signaux, de façon à résumer de manière adéquate l'information contenue dans le signal. Cette étude permet aussi de donner un sens au terme « activité corticale » à l'échelle mésoscopique en fonction de ces événements.

Finalement, un modèle simple du signal de fluorescence, décrivant les formes d'onde espérées et ses relations avec l'activité neuronale sous-jacente, a été proposé (dans la section 3.4). Selon ce modèle, le signal enregistré dans chaque détecteur (en négligeant le bruit) consiste en une somme d'activités électriques diverses qui peuvent se résumer en deux composantes. Une première composante qui représente les événements de synchronisation dans l'activité de

groupes de neurones, événements que l'on appellera « événements unitaires » (UE : *Unitary Event*), et qui serait corrélée aux processus de perception auditive. L'autre composante représente l'intensité de l'activité postsynaptique quand cette activité est non corrélée. Ce modèle sera utilisé dans le chapitre 5 afin d'estimer ces deux composantes dans des données réelles.

Nous appellerons ce type de signal sous le terme de : « fluorescence relative locale » ($L_{\Delta F/F}$: *Local relative fluorescence*). De manière plus générale, nous appellerons « Potentiel de Membrane Local Intégré » (LIMP : *Local Integrated Membrane Potential*) le type d'information que ce signal représente (et qui pourrait éventuellement être mesuré avec d'autres techniques), par analogie avec les potentiels de champ local (LFP : *Local Field Potentials*).

CORTICAL ACTIVITY AND THE OPTICAL SIGNAL

In this chapter, we will study, from a theoretical point of view, the relationship between the neural sources of the cortical electrical activity and the signals measured with Voltage-Sensitive Dyes and Optical Imaging techniques (VSDOI). We will refer to the signal observed by one single photodetector as the “local relative fluorescence signal” ($L_{\Delta F/F}$). This signal is a measure of a more general kind of neural activity information that we call “Local Integrated Membrane Potentials” (LIMP), in analogy with the more traditional Local Field Potentials (LFP) obtained with extracellular microelectrodes.

Analyses of single-site or multisite data obtained with local recording techniques from a given cortical area, and representing the spatiotemporal mesoscopic neural activity in that area, can be made in different ways: ranging from a straightforward, data-driven, exploratory analysis to a more complex analysis involving theoretical models of the cortical function at the microscopic level. The most common approach is to use general statistical or signal-processing methods, such as spectral analysis or principal component analysis, applied to the data either in a straightforward manner or after some minor modifications.

The basic pattern of these data analysis methodologies consist in two steps: first, a set of simplifying assumptions about the data and the neural process is defined (e.g. smoothness of the mesoscopic neural process, gaussianity and stationnarity of noise sources, ergodicity of the neural response to stimuli, etc); second, a quantification of some general features such as the sample mean and the autocovariance, or some estimated parameters of a general linear or non-linear model, is done in order to summarize and characterize the information contained in the signals (e.g., (Everson et al., 1997; Kruggel et al., 1999; Mitra & Pesaran, 1999; Schiessl et al., 2000)).

These non-model (or general model) based, data driven, approaches to neural signal analysis are very useful whenever one needs to extract and analyze some general characteristics of the data without much *a priori* knowledge of the functional processes going on in the neural tissue. Typical general problems such as the exploratory analysis and preprocessing of scientific data are usually addressed in this way, and also many clinical problems such as computerized assisted diagnosis or neurological signal monitoring that can be efficiently carried out using the results of these general analyses.

Nevertheless, this is a somehow “blind” approach to signal analysis. The data is analyzed without taking into account any prior information about what the signal actually represents at the biological level (i.e. without an explicit model for the signal), and very often assumptions are based on what the analysis methods require instead than on the actual characteristics of neural activity (i.e. the data is adapted to the methods rather than the methods to the data).

Furthermore, even if the use of general models can convey much information about the optical signal itself, part of this information may be unrelated to the neural functional process, or the

estimated parameters may be inadequate to describe it. Results obtained in this way are not always easily interpreted in terms of the physiological process going on in the neural tissue, and sub-optimality in the analysis is almost guaranteed.

Hence, one may want to know more precisely what the optical signal represents in terms of the neuronal activity; that is, one may interpret the mesoscopic mean activity fluctuations, of unknown meaning, in terms of the better understood microscopic phenomena. This can help us to better interpret subsequent statistical analysis and to have a more precise idea of what kind of information about the state of the cortical neural networks at a given cortical site can really be extracted from the signals.

How must the mesoscopic neural activity at any cortical site be described and quantified based on the recorded signal? This signal characterization problem must be addressed prior to any subsequent spatiotemporal analysis if one is looking for a comprehensive description of the multisite mesoscopic neural data.

Finally, the alternative to the blind, data-driven, approach to describe the mesoscopic neural activity signal is the use of a conceptual framework (i.e. a model) that describes with more or less precision what we know about the observed neural activity. This model-driven approach introduces valuable prior information that guides the signal processing and analysis strategies; and more significantly, it may let us make a more valuable interpretation of any subsequent analyses results in terms of the physiological process.

However, the complexity of the mechanisms involved in the neural population activity, and the incomplete knowledge that we have about them, prevent us from using a very detailed model of the neural activity. Besides, too much detail in the description is not of real benefit; and according to the rule of Ockham's razor (or parsimony principle), we must try to find the simplest description of the data based on what is already known.

A compromise must then be found between a detailed description of the population activity in terms of the microscopic neural electrical events and a simple “black-box” phenomenological description of the signal. One must keep the model as simple as possible while taking into account as much information as possible of what is already known.

Following these ideas, this chapter is divided in four sections:

In the first section (3.1), a summary of some important features of the neocortical tissue structure and function, and its relationship with the $L_{\Delta F/F}$ signal.

In the second section (3.2), the $L_{\Delta F/F}$ signal interpretation problem is considered, taking as a basis the information gathered in the first section.

In the third section (3.3), the problem of the single-site $L_{\Delta F/F}$ signal characterization is examined. Characterization can be done in a meaningful way with respect to the microscopic neurophysiological activity using the previous interpretation of the $L_{\Delta F/F}$ signal and some neural information theory concepts.

In the last section (3.4), the basic expected features of the optical signal are resumed in a simple model. This model will be used afterwards, in subsequent analyses, to describe the experimental data.

- I would like to stress that I will neither try to be too precise in the interpretation of the signal waveforms nor I will try to construct a realistic model of the $L_{\Delta F/F}$ signal; I am only trying to show how the microscopic neural phenomena may give rise to the optical signal and how the characteristics of the underlying microscopic activity may be represented in the mesoscopic signal, so that a simple characterization of the single site $L_{\Delta F/F}$ signal can be done and the most important information therein contained can be summarized. Cortical LIMP fluctuations, represented by the $L_{\Delta F/F}$ signals, are the result of many complex factors: the stimulus, the observed cortical region, the dynamics of the underlying neural networks, the interaction with adjacent and distant cortical regions or with other brain structures. However, we don't need to precisely describe all of them in order to get a good description of the signals' main properties. Even if the unknown underlying local dynamics of the neural sources are not explicitly modeled, the shape of the signal depends on them. Hence, we may be able afterwards to interpret the results of any analysis in terms of the actual underlying dynamics, if the signal description and characterization is well defined. Therefore, only some important facts, enough for the purposes of signal processing, are discussed. Also, some simplifying assumptions have been made about the underlying microscopic activity; they condition some choices made thereafter in the signal processing algorithms.

In addition, I want to make clear that I have neither considered explicitly the interactions between activities of populations in different cortical sites, nor the signal fluctuations introduced by noise and artifacts; some of these topics will be addressed in the next chapters.

The instantaneous value of the $L_{\Delta F/F}$ signal at each measuring site reflects the total instantaneous change in membrane potential, integrated over the membrane surface contained in the volume being focused by one photodiode; i.e, it reflects the LIMP fluctuations at that measuring site. Therefore, the $L_{\Delta F/F}$ and LIMP terms will be often used interchangeably through this chapter; with $L_{\Delta F/F}$ fluctuations assumed to be exactly proportional to LIMP fluctuations, and neglecting noise, artifacts, and other measurement errors.

3.1 Neurophysiological and neuroanatomical basis for the interpretation of the $L_{\Delta F/F}$ signal

Thanks to the knowledge obtained from several studies done over the last decades about the physiological sources of brain electrical signals, it is now possible to better understand the neural origin of these electrical phenomena as they are observed at various scales (Freeman, 1963; Wright & Kydd, 1992). Moreover, these studies have paved the way to the formulation of realistic cortical models that account for many of the properties of the waveforms observed on these signals (Robinson et al., 2001; Wright, 1999), and to the formulation and experimental

verification of complete theories of brain and cortical function (Freeman, 1972; Nunez, 1998; Nunez, 2000; Wright et al., 2001).

Furthermore, a clear interpretation of the observed waveforms in terms of its microscopic sources allows a better description and characterization of the signals, and the functional significance of various electrical events occurring during different cortical states becomes more clear (e.g., (Freeman, 1994)).

While the relationships that exist between the electrical fields observed at macroscopic scales (~ 1 to 20 cms, EEG, global brain dynamics) and coarse mesoscopic scales (~ 0.5 to some few mms, ECoG, functional areas, cortical column size), and their relevant neural sources have been thoroughly studied and described (Freeman, 1963; Wright & Kydd, 1992); nothing comparable has been done for signals obtained at finer mesoscopic scales (~ 10 to 100 μm , LFP and LIMP). This lack of knowledge about the relationship between the signals' waveforms and its microscopic sources at fine mesoscopic scales is due mainly to the fact that, as one goes from macroscopic to microscopic scales, the observed electrical activities become more and more complex because of the nonlinearities of intracortical interactions.

Even if at macroscopic scales EEG waveforms can be clearly described and simulated using relatively simple low-order nonstationnary stochastic linear models (Gersh, 1996; Kaipio & Karjalainen, 1997), it is not so clear that one can obtain a meaningful physical interpretation of the estimated model's parameters using this approach (Wright et al., 1990). The signal modeling problem becomes even more complex when the signals are recorded at columnar scales and directly over the cortical tissue (ECoG) during alert states. In this case, the observed cortical electrical activity may be better represented by a high-order black-box multilinear stochastic model (Wright et al., 1990) or by an explicit model of the signal production process based on detailed physical descriptions of the neuronal elements and networks (Freeman, 2000a; Freeman, 2000b).

At finer scales it becomes even more difficult to draw a clear relationship between the signals' waveforms and their microscopic neural sources, but in some cases some important and clear correlations can be shown to exist, in particular when the cortical activity becomes entrained in oscillatory behavior at relatively high frequencies ($f > 20$ Hz) (Eckhorn et al., 1988; Gray & Singer, 1989).

In the case of LIMP signals obtained with the fluorescent voltage-dependent dye technique little or nothing has been done in order to interpret and/or model them¹. Being a relatively new technique very few studies have been done on the physical interpretation and characterization of the observed waveforms; the most important studies being done by experimentalists referring to specific experimental situations, in particular by the leader group of Amiram Grinvald in Israel (Grinvald et al., 1999b; Shoham et al., 1999).

Using optical recording techniques it may be possible in theory to study the cortical activity at high spatial and temporal resolution, at mesoscopic scales below the cortical column size (300

¹ Models of the cortical activity based on optical imaging data have been proposed (e.g. Ballain, T., P. Litaudon, et al. (1998)), but models of the optical signal itself based on the underlying neural activity are non existent.

μm) and even at minicolumnar scales ($50\mu\text{m}$), and at time scales of the order of fractions of msec (Shoham et al., 1999). However, this is usually unattainable in practice, the most important shortcoming of these techniques being its low SNR that prevents the precise description and characterization of the signals.

Because of these drawbacks, most studies of the $L_{\Delta F/F}$ signal have concentrated on its low frequency characteristics; probably leaving out much important information contained in high frequency fluctuations. Most studies have been done using data obtained in multiple trial experiments; this data is then processed by temporal ensemble averages and eventually by linear low-pass filtering, in order to reduce the noise level. Nevertheless, as has been clearly shown by Freeman in the case of ECoG data, temporal ensemble averaged data cannot be used to retrieve some high frequency waveforms that are not solidly time-locked to the stimulus, and which correspond to functionally important intrinsic cortical activities (Freeman, 1994).

In the following paragraphs, I will summarize some facts about the auditory cortex and the $L_{\Delta F/F}$ signal that will help us to interpret the signal in terms of the underlying microscopic neural events occurring in the observed cortical site. Because of the lack of experimental data and means, this study is based largely on a review of experimental evidence found in the literature. I will first summarize some important facts about the functional structure of the sensitive cortex (section 3.1.1). This description is useful to define the temporal and spatial scales related to the cortex function (section 3.1.2), and to understand the kind of information contained in the $L_{\Delta F/F}$ signal depending on the scale of observation. Next, a review of some experimental evidence on important events occurring in the auditory cortex during physiological activity, and a discussion on how these neural events give rise to fluctuations in the $L_{\Delta F/F}$ signal, are presented (section 3.1.3). This is followed by a summary of some facts about the distribution of the microscopic sources of the signal (section 3.1.4), and of the role of both excitatory and inhibitory events in the signal generation (section 3.1.5); as it will be shown in the following paragraphs, the fine properties of the shape of the $L_{\Delta F/F}$ signal depends mostly on the properties of the excitatory postsynaptic potentials (EPSPs), on their typical waveforms, on their dynamics and on their temporal distribution. Finally, a theoretical description of the dendrite's dynamical properties during different physiological states, and their role in some important neural events (synchronization, oscillations, etc), which might be observed in the $L_{\Delta F/F}$ signal, is given. This summary will be used as a theoretical basis for the interpretation (section 3.2) and characterization (section 3.3) of the $L_{\Delta F/F}$ signal, and for the spatiotemporal analysis of the multisite data in chapter 6.

3.1.1 Functional structure of the sensory cortex

3.1.1.1 Cortical layers and cell distribution

The neocortex is only some few millimeters thick and can be roughly divided in six layers, from layer I at the cortical surface up to VI near the white matter, but subdivisions can also be made within these layers (e.g. IIIa and IIIb) (see Figure 3-1-A). The particular vertical subdivision of

a given cortical area depends on the vertical distribution of neurons' types and interconnections in that area.

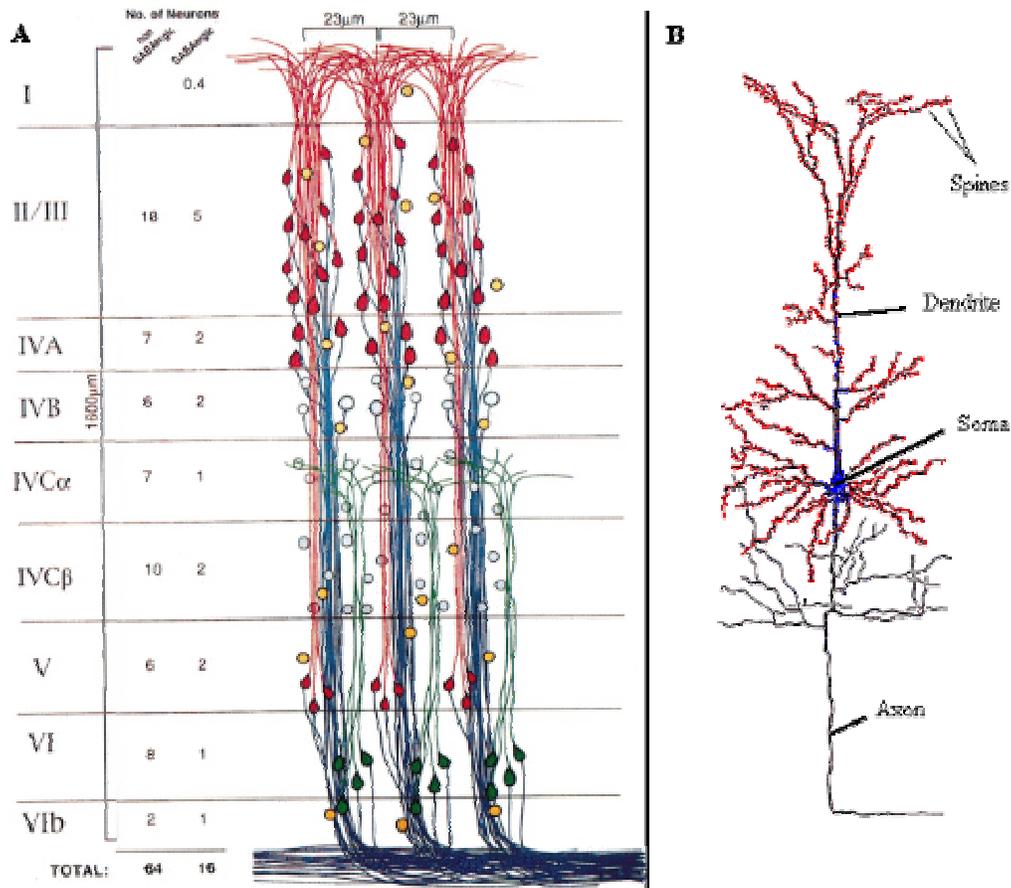


Figure 3-1, A: Diagram showing the cortical layers, the cell distribution and the minicolumnar structure (three minicolumns) of the macaque monkey's striate cortex, only half of total number of the neurons are shown (adapted from Peters, A. & Sethares, C. (1996)). The number of GABAergic and non-GABAergic neurons in each minicolumn and at each layer is shown at the left. Pyramidal cells are shown in red and green; apical dendrites projecting across layers are shown in the same color as the pyramidal cell from where they project and all axons are shown in blue; spiny stellate neurons are shown in light blue and without dendrites; GABAergic neurons are shown in yellow. **B:** Pyramidal neuron, adapted from a drawing from Ramon y Cajal, S. (1995). Distal dendrite's segments and spines, receiving mostly excitatory inputs, are shown in red; the soma, the axon initial segment and the proximal dendrite's segments, receiving mostly inhibitory inputs, are shown in blue.

The cortical tissue contains many types of neurons, but they can be divided in two principal classes depending on whether their effective function on the networks is inhibitory or excitatory. Excitatory cells can be divided in two classes, "pyramidal" and "spiny stellate"

depending on their morphology, characterized both by their dendrites surfaces covered by spines; in contrast, inhibitory cells have smoother dendrites without spines.

The so-called “pyramidal cells” are the most important and abundant neuronal type; these neurons are situated mostly in the so-called non-granular layers (II, III, V, and VI) and they constitute the principal source of synaptic activity. These neurons are projection neurons presenting a typical “pyramidal” morphology from where their name derives, with a long apical dendrite shaft growing from the apex and directed to cortical surface, and profuse dendritic arborizations (see Figure 3-1-B). They have descending axons that give rise to recurrent collaterals with profuse axonal arborizations that interconnect the cell with other cortical layers and areas, and with other brain structures. The pyramidal cell extend its dendritic ramifications at the two extremes of the apical dendritic shaft, in opposite directions from its body with a biconical radiation configuration (Fiala & Harris, 1999); one dendritic arbor originates near the soma (basal) and spans the layer where the cell is localized and deeper layers, the other (apical) situated at the distal extreme (at the apical tuft) spans the superficial layers. The length of each dendrite is on the order of 10^2 μm for basal dendrites, to 10^3 μm for apical dendrites (Fiala & Harris, 1999).

Layer IV is populated mostly by the so-called spiny stellate cells, whose dendritic arborizations are restricted mostly to the same cortical layer. These neurons, together with neurons from layer IIIb, are supposed to have a “relay” function, being the principal target of thalamocortical afferents and projecting their axons vertically to other cortical layers.

Inhibitory cells are present in all layers but are less abundant than the excitatory ones. An important class of inhibitory cells is the “double bouquet” class, which is more densely distributed in layers II and III. They innervate pyramidal cells and other inhibitory interneurons; therefore, their effective action on pyramidal cells can be inhibitory or disinhibitory. These cells, together with the “neurogliform” cells that innervate excitatory cells on layers IV and IIIb, and with some “basket” cells, impose a strong cylindrical pattern of inhibition-disinhibition that “modularizes” the cortical tissue in column-shaped units (Mountcastle, 1997).

3.1.1.2 Modules, segregates, columns and functional maps

These modular column-shaped units correspond with afferent thalamocortical and cortico-cortical projections that “map” sensory information in a more or less parallel manner onto the cortex, the degree of parallelism depending on the target cortical area. In a general manner, bundles of thalamic axons arriving to the cortex terminate in focal clusters situated mostly in layers IIIb and IV, and with diameters on the order of 0.5 to 1 mm; these thalamocortical connections have a driving effect over the target neuronal populations (Rockland, 1998). Therefore, the cortex is effectively divided in anatomo-functional modules (columns or segregates) with neurons in each column sharing a similar functional specificity imposed by the pattern of afferent thalamo-cortical and cortico-cortical projections (i.e. neurons are segregated along different features of the stimuli) (Mountcastle, 1997).

The functional organization of the sensory neocortex follows this columnar structure, with many stimulus properties mapped onto the neocortical sheet in a topographic columnar arrangement. For instance, in the case of the primary auditory cortex, the modules follow a

“band” pattern arrangement related to sound’s frequencies, commonly referred to as “isofrequency bands”, which reflect the frequency organization of the subcortical auditory pathway (see Figure 2-3). For instance, Redies et al. have shown that, in the guinea pig’s brain, there is only one continuous tonotopic map in the Medial Geniculate ventral nucleus, which then splits when projected onto the cortex, resulting in two adjacent tonotopic fields (A and DC) (Redies et al., 1989a).

Distant functional related cortical regions seem to be tightly bounded by collateral axons from pyramidal neurons from layers III and V; this collaterals run several millimeters joining cortical columns with similar functional properties, providing intrinsic structural support for the isofrequency bands (Ojima et al., 1991; Read et al., 2001).

This particular “tonotopical” arrangement of the auditory cortex is one among many other possible topographic maps related to different aspects of the sound “scene” that coexist in the same cortical surface area. For instance, it has been reported that neurons with similar binaural response properties aggregate in clusters, with columnar sizes (0.5 ~ 1.5 mm), along isofrequency bands and partially overlapping adjacent isofrequency bands (Rutkowski et al., 2000). Interestingly, the topographic organization of these binaural columns seem to correspond to the band pattern of the dense callosal connections on superficial layers of the AC, formed by bundles of axons emerging from pyramidal cells in layer III on the contralateral AC (Wallace & Harper, 1997), linking again the topographic organization of the function with the underlying structure.

Therefore, the auditory cortex functional organization can be compared to that of a self-organizing feature map algorithm (Schreiner, 1995), where the input auditory scene is effectively mapped to a two dimensional cortical output space and decomposed in multiple dimensions, such as frequency, intensity, or binaural sensitivity. This decomposition is supported by a non-rigid patchy functional structure, formed by columnar modules of different functional specificities. This architecture results in many overlaid maps for independent parameters that ensure the representation of a given combination of stimulus features at least once in the cortical area. The same kind of organization can be shown to exist in other sensory cortical areas (Hubener et al., 1997; Rockland, 1998). Nevertheless, one must note that some aspects of this functional organization are a direct reflection of the functional organization of subcortical structures (i.e. the tonotopical organization).

3.1.1.3 Minicolumns

Moreover, the neocortex structure is still subdivided in a finer coarse modular pattern supported by the vertical clusters formed by the apical dendrites of pyramidal neurons of layer V as they travel to the more superficial layers. Each one of these modules, with a diameter of some 30 to 50 μm , contains on the order of 10^2 neurons arranged around the ascending apical dendrite clusters and forming a vertical “minicolumn”. Columns (or segregates) are formed by many minicolumns bounded together by intrinsic horizontal intracortical connections and sharing some functional properties (Mountcastle, 1997).

For instance, the rather coarse functional tonotopical organization of the auditory cortex is further subdivided in finer functional modules, seemingly corresponding to the fine

minicolumnar structural pattern. Neurons belonging to the same isofrequency band have similar characteristic frequencies (CF), but different frequency bandwidths (BW) and spectral integration properties. Such functional organization of the isofrequency bands seems to carry a decomposition of the sound scene with different frequency resolutions (Schreiner et al., 2000).

Since neighboring minicolumns may or may not be part of the same segregate, they don't necessarily share the same functional properties; i.e. neighboring minicolumns within the same segregate have similar receptive field (RF) properties, but neighboring minicolumns belonging to different segregates may have very different RFs (Favorov & Whitsel, 1988).

- Therefore, the minicolumn has been identified as the basic, ontogenetic, and information processing unit of the neocortex (Favorov & Kelly, 1994a; Mountcastle, 1997).

The functional characterization of minicolumns and columns is generally based on their mean firing rate responses to stimuli; therefore, the topographic organization of the cortex mentioned above represents the distribution of neural mean responses to static features of the stimuli. However, the dynamic behavior of cell's responses to the same stimuli within a single minicolumn can be very different; important differences in the fine temporal structure of individual cell's spike trains exist even though the cells have very similar RFs properties (Favorov & Kelly, 1996).

- Actually, most recent theories on cortical information processing propose that stimuli information is not only coded in the mean firing rate, but also in the fine temporal structure of individual cell's spike trains and in patterns of temporal coherence among cells (Favorov & Kelly, 1996; Grothe & Klump, 2000).

3.1.1.4 Cortical Areas

Finally, the neocortex is subdivided in functionally specialized areas comprising many different segregates. Moreover, within cortical areas of the same sensory modality, there often exists both multiple repetitions of functional maps (e.g. multiple areas of the AC show isofrequency bands), and long-range connections that seem to physically support the interactions between them. The subdivision of the cortex in these functionally specialized areas, and the massive long range interconnections between them, reflect the existence of complementary and interactive parallel streams; processing each one different aspects of the same sensory objects (e.g., what, where) while sharing intermediate and final computational results (Grossberg, 2000; Metzner & Juranek, 1997; Rauschecker, 1998; Rauschecker & Tian, 2000; Young, 1998).

3.1.1.5 Distributed processing

All these facts mentioned above about the cortical organization depict the static anatomo-functional aspects of the complex cortical distributed information processing system. The dynamic aspects of the cortical function are less well understood; they are the object of current research and some of them will be discussed in the following sections.

3.1.2 Scales of observation and expected properties of the optical signal

From the precedent section we can identify four different scales of observation that are important to understand the waveforms and the information carried by local activity signals (i.e. LIMP and LFP) and in particular by optical $L_{\Delta F/F}$ signals.

1. Microscopic scale, corresponding in this context to the sizes of individual neurons and to the distance between synapses (ranging from 1 to 10 μm). The basic electrical phenomena being action potentials and PSPs, with characteristic times on the order of 10^0 to 10^1 msec.
2. Fine mesoscopic scale, which corresponds to the size of individual minicolumns and small clusters of them (50 to 100 μm); characteristic times in this scale are of the order of 10^1 msec.
3. Coarse mesoscopic scale, which corresponds to the size of a cortical column and aggregates of them, and sizes from 0.5 to 1.5 mm; characteristic times being of the order of 10^2 msec.
4. A macroscopic scale that, in this context, refers to the size of an entire sensory cortical area; sizes in this scale range from several millimeters to some centimeters, and characteristic times are of the order of 10^{-1} to 10^0 seconds.

Local activity signals (i.e. LIMP and LFP) normally live in the mesoscopic (second and third) scales, the first scale is represented by multi-unit and single-unit neuron recordings, and the fourth scale by ECoG and EEG.

It must be noted that electrical phenomena occurring at a given scale may appear also at coarser scales when extensive coherence of the activity of many elements at that scale exist. For instance, oscillations in the gamma band (40 Hz) may appear at coarse mesoscopic and at macroscopic scales whenever minicolumnar intrinsic oscillatory activity occurs in a coherent fashion over an important population of minicolumns.

We may assume that (at least) the following principles underlie the functional structure of the auditory cortex (and other sensory cortex areas) at mesoscopic and macroscopic scales:

1. The *modularity* and *interactivity* of clusters of parallel minicolumns with different functional specificities, and the *diversity* of stimulus-sensitivity and of neural response among the modules, at *fine mesoscopic scales* (e.g., see (Favorov & Kelly, 1996)).
2. The *patchy*, *repetitive*, and *convoluted* nature of the columnar aggregates representing stimuli parameters, which form different *functional maps* for each parameter; and the *imbricated* and *overlaid* nature of the arrangement of multiple functional maps

representing different stimuli parameters (e.g., see (Schreiner, 1995)). These maps have spatial frequencies that correlate with *coarse mesoscopic scales*.

3. The subdivision of the auditory cortex in functionally specialized areas (AI, DC, etc) and the repetitions of functional maps in that areas (e.g. isofrequency bands), that reflect the existence of *parallel streams* processing different aspects (e.g., what and where) of the same auditory objects.
4. And the *complementarity* and long range *interactivity* between these parallel streams (e.g., see (Grossberg, 2000; Rauschecker & Tian, 2000; Young, 1998)) that underlie the cortical organization at *macroscopic scales*.

Based on sections 3.1.1.2 and 3.1.1.3, we can assume the following properties for the neural activity measured in sensory cortical areas at mesoscopic scales:

1. At fine mesoscopic scales, one can expect a relative homogeneity of RF properties at some adjacent detectors, but probably a great heterogeneity of RF properties among more distant detectors; and a pronounced temporal structure's heterogeneity of the neural responses in each detector. Fluctuations of electrical activity at this scale are supposed to reflect the coherent activity of local populations of neurons coding for specific combinations of stimuli features and RF properties (e.g., frequency, intensity, ..., RF size and localization). They are expected to show complex waveforms due to the non-linear excitatory and inhibitory interactions occurring within and among local minicolumns; and they are modulated by local and non-local neural activities (distant minicolumns and/or subcortical structures). It is at this scale that one may expect to find the more interesting dynamic patterns related to the coding of perceptual information.
2. At coarse mesoscopic scales, heterogeneity of RF properties may exist for adjacent as well as for more distant detectors, and neural responses may be relatively smoother than at fine mesoscopic scales. At these scales, the electrical activity signals result from the averaging of the activities of hundreds of minicolumns with different functional specificities and RF properties. Therefore, they are supposed to represent fluctuations on local average firing rates related to a coarse representation of basic sensory clues (e.g. combinations of instantaneous frequency, intensity, and other sound's characteristics) and they are expected to show less complex waveforms because of the extensive averaging.

In vivo cortical activity signals obtained with the fluorescent techniques usually have a resolution of some hundreds of μm , so they are somewhere in between the fine and the coarse mesoscopic scales. Thus, one is probably looking at each recording site to a somewhat "blur" signal that reflect the average of hundreds of individual units (minicolumns) that may be part of different functional columns, and that may be characterized by very different RF properties; this is the case for the optical signals used in this study. Nevertheless, as new optical recording techniques reach higher resolutions, the feasibility of future studies on the activity of independent minicolumns becomes clear (e.g., (Shoham et al., 1999)).

3.1.3 Auditory cortex functional electrophysiology and the $L_{\Delta F/F}$ signal

3.1.3.1 Optical signal sources

While recording electrical activity signals from the sensory cortex *in vivo* with voltage-dependent fluorescent techniques, it is usually assumed that most $L_{\Delta F/F}$ fluctuations contributing to the signal have their origin on synaptic activity occurring at the supragranular layers (II and III) (Grinvald et al., 1999b; Horikawa et al., 1996). Nevertheless, synaptic activity contribution from neighboring layers (I – IV) and from deeper infragranular layers cannot be neglected. In particular, the ascending apical dendrites from pyramidal cells in layer V may go through layer IV up to the most superficial layers, forming dendritic clusters with the apical dendrites of neurons in layers II and III (Mountcastle, 1997); and thus, the optical signal reflects the superposition of activities related to different levels of the cortical circuitry, inputs and outputs are undistinguishable.

Evidence of a vertical flow of electrical activity from deep layers to supragranular layers and of an horizontal diffusion at supra- and infra-granular layers, in response to electrical stimulation in deep layers, has been obtained from neocortical slices (Kohn et al., 2000; Kohn et al., 1997; Kubota et al., 1997). Neural activity propagates radially to superficial layers within compact volumes (column or hour-glass shaped, depending on the localization of the stimulation) and following a minicolumn-related pattern dependent on stimuli (Kohn et al., 1997). Tangential excitation propagation is greater in supragranular layers II and III, but exists also in layer V (Kohn et al., 2000; Kubota et al., 1997). Widespread tangential excitation activity in layers II/III is produced by electrical stimulation of layers II and III, but the second one (in layer III) propagates also to layers IV and V.

The tangential spread of activity in upper layers correlates well with the known connectivity of the cortex; most long distance horizontal collateral axon projections stem from the pyramidal cells at layers II and III, where most intracortical (and cortico-cortical) interactions are supposed to occur (Calvin, 1996b; Mountcastle, 1997); and in the auditory cortex they make dense terminals along the isofrequency bands (Schreiner et al., 2000). Thus, the optical signals are supposed to reveal the intrinsic functional connectivity of the cortex.

In addition to the axonal tangential propagation, dendrites of pyramidal cells under one photodetector can easily reach neighboring detectors due to their lengths of several hundreds of μm (i.e. the neural cortex is modular and fine grained with respect to neurons' soma, but not with respect to their dendritic arbors); and the diffusion of synaptic activity sums to the axonal propagation in the construction of the optical signal.

- *Therefore, even if one uses high spatial resolution techniques, the effective resolution in terms of neurons' activity will always be limited to several hundreds of μm . An intrinsic blurring of the optical images at its source, as well as a mixing of afferent and efferent activity from the supergranular layers, is inevitable.*

3.1.3.2 Basic characteristics of ensemble-averaged evoked $L_{\Delta F/F}$ responses

Cortical LIMP fluctuations occurring in response to sensory or electrical stimuli are usually estimated by (time) ensemble-averaging of multiple $L_{\Delta F/F}$ signals obtained in multiple trials of the same experiment. The estimated LIMP waveforms are variable depending on the characteristics of the stimulus, on the recording site, and on experimental conditions like anesthesia. However, under anesthesia and controlled experimental conditions, evoked ensemble-averaged responses to single-tone bursts (or to a short electrical pulse stimulating a restricted set of afferent fibers) have a prototypical single peak waveform, reaching their peak in less than 15 milliseconds from onset and then slowly decreasing until they reach the resting potential in approximately 40 to 50 milliseconds from onset. They are typically followed by a small and long negativity denoting hyperpolarization. This typical waveform is in clear correspondence to extracellular LFP signals (compare Figure 3-3-A and Figure 3-3-C).

According to Horikawa et al. (1996), the onset latencies and times to peak of the excitatory responses to single tones are tightly time-locked to the stimulus' onset, and differ by some few (2 to 3) milliseconds across fields A and DC, with responses in field DC starting later and being shorter than responses in field A; but their durations are more variable between trials. According to him, the optical response in field A started around 20 milliseconds, peaked near 35 milliseconds and lasted some 48 milliseconds, while at field DC the values were 22, 36 and 45, respectively.

However, these values have been obtained from 30 signals, from 10 recording sites and 3 animals (Horikawa et al., 1996). We have observed slightly different values with our data, in single recordings from sites showing a significant response. Typical signals at these sites start some few milliseconds earlier and almost simultaneously in both fields, reach their maximum values almost simultaneously, and last only some 30 to 40 milliseconds. (see section 5.2.1).

The average extent of the horizontal spread of excitation in response to electrical stimuli has been estimated to be 1.75 ± 0.44 mm in the rat auditory cortex (Kubota et al., 1997), with the propagation velocities being 0.18 ± 0.06 m/s for rat and 0.13 m/s for guinea pig (Horikawa, personal communication).

For the data used in this study, and for the values aforementioned, one can infer that the typical time interval needed for excitatory activity fluctuations to cross the area of one single photodetector (due to tangential propagation) will be around 2.3 msec for a photodetector size of $300 \mu\text{m}$ (i.e. $300\mu\text{m}/(0.13\text{m/sec})$), and 0.38 msec for a photodetector size of $50 \mu\text{m}$ (i.e. $50\mu\text{m}/(0.13\text{m/sec})$).

Therefore, and assuming that the tissue is densely stained and that every fluorescent molecule acts as a single measuring instrument with the same response to membrane potential changes, the signal observed by a given photodetector in response to a single excitatory event would be the sum of the individual responses of each dye molecule to this event as it travels across the field observed by the photodetector. That is, not only are different excitatory events volume-integrated, but each one is also convoluted with a time window, whose length depends on the size of the photodetector (i.e. more than 2 msec for our data).

Given the sampling interval and space resolution used in this study (0.576 msec, $r \sim 300\mu\text{m}$), and taking into account this smoothing window by roughly approximating it with a low pass filter with cutoff frequency of less than 500 Hz (i.e. $f < 1/2\text{msec}$), it is clear that even if the measurement bandwidth used in this study is insufficient to allow the detection of isolated action potentials, it is enough to detect and recover single PSPs that last tens of milliseconds. However, the quality of the representation of single postsynaptic events on the optical signal ultimately depends on the degree of alignment of PSPs across trials and on the SNR.

- *It must be noted that, for single tone stimulus and deep anesthesia, the duration of the evoked responses on ensemble-averaged signals, at sites of maximum response amplitude, is similar to the typical duration of single EPSPs (see Figure 3-3). Therefore, and because of their time-locking to the stimulus' onset, the basic waveform of ensemble-averaged $L_{\Delta F/F}$ signals seems to reflect the synaptic activity resulting from a stimulus-dependant increase in firing intensity at the afferent thalamocortical fibers. Moreover, it seems evident that only some few spikes per afferent fiber participate in this basic response, and that they arrive almost in coincidence.*

3.1.3.3 *Basic spatiotemporal dynamic patterns of the mean cortical activity in response to single tones*

Previous optical imaging studies of the ensemble-averaged electrical activity on the primary (A) and dorso-caudal (DC) fields of the anesthetized guinea-pig's auditory cortex, in response to single tone stimulation, revealed the existence of dynamic spatiotemporal patterns coding for frequency (i.e. tonotopical patterns; e.g., see section 5.2.1) and intensity of sensory stimuli. The spatiotemporal dynamic tonotopical patterns result from an asymmetric horizontal spread of excitation in each field; excitation starts at some focal points in each field and propagates preferentially along excitatory bands running in the rostro-dorsal to caudo-ventral direction in each cortical field (i.e. along isofrequency bands). They are shaped by the balance of excitatory postsynaptic activity mediated by the activation of both NMDA and non-NMDA receptors (NMDAR and non-NMDAR, respectively), and inhibitory activity mediated by GABA receptors (GABAR); and by the effect of other modulatory sources, in particular by the cholinergic system and by input activity from other cortical areas (Horikawa et al., 1996; Taniguchi et al., 1992; Taniguchi & Nasu, 1993).

The studies done by Horikawa et al. on the characteristics of the electrical activity of the anesthetized guinea pig's auditory cortex in response to single tones, and the synaptic mechanisms involved, have shown the existence of two different kinds of excitatory responses with different spatiotemporal dynamics. The first one is mediated by non-NMDA receptors; it is localized in time and space, starting at focal points over the cortical surface and diffusing along bands in the rostro-dorsal to caudo-ventral direction; and therefore shaping the initial isofrequency band pattern. This response is followed after some 10 msec by a second one, the NMDA-receptor mediated excitatory response, which lasts longer and has larger amplitude but it is cancelled almost immediately by a simultaneous GABAergic inhibition (Horikawa et al., 1996).

The early ($t < 30$ msec) spatiotemporal shape of the evoked response to single tones seems to depend basically on the early non-NMDA-receptor-mediated responses, which are supposed to reflect the main sensory input from the Medial Geniculate Body (MGB). The later part of the response depends on the balance of NMDA-receptor mediated interactions and GABAR-mediated inhibition. When the animal is anesthetized, the NMDAR-mediated responses are quickly and effectively suppressed by the GABAergic inhibition, which prevents additional excitatory diffusion of the neural activity and restricts it to the isofrequency bands. Nevertheless, when the GABAR-inhibition is blocked, these responses diffuse widely and last much longer than the basic non-NMDA-receptors-mediated responses, suppressing any observable band pattern in the optical signals (Horikawa et al., 1996).

This clearly shows that isofrequency band patterns are not static structures; they are dynamic and depend on the balance of NMDAR-mediated excitation and GABAergic inhibition. Therefore, the spatiotemporal activity may be very different in awake behaving animals with respect to the studied anesthetized ones, with NMDAR-mediated responses probably being much more important for the shaping of spatiotemporal patterns.

However, these observations were made with ensemble-averaged data due to the low SNR of $L_{\Delta F/F}$ signals, potentially leaving out important information about the underlying neural process. Recently, more subtle and sometimes contradictory information have been obtained with electrode recordings. For instance, first spike latencies seem to be almost the same in the two fields, and much shorter than the optical signal onset (at about 14 msec in the guinea pig) (Rutkowski et al., 2000); and propagation velocities of the early part of the response seem to be higher when measured with intracortical electrodes (1.25 m/sec in the rat) (Metherate & Cruikshank, 1999).

- *Note: Using new wavelet-based nonlinear denoising methods (to be described in the next chapter) to obtain cleaner estimates of the evoked responses, we have observed shorter evoked response onset times than the ones observed by Horikawa et al. (1996), very similar to first spike latencies observed by Rutkowski et al. (2000) with electrode recordings (i.e. ~ 14 msec; e.g., see Figure 5-12 and Figure 5-13). The fact that onset times seem to be longer in Horikawa's experiments can be explained by the impulse response of the VSDOI measurement that smoothes the otherwise fast-rising evoked response (as will be explained in section 3.2.2.2), together with a high residual noise variance of the signal estimates. These two factors prevent the observation of the real onset time in simple ensemble-averaged signals.*

3.1.3.4 Inhibitory modulation of the spatiotemporal responses

It has been shown that a fast augmentation of the local mean activity occurs in response to single-tone stimuli, starting in a focal area at the columnar scale and quickly diffusing along the corresponding isofrequency band. This local excitation is followed by an inhibition reaction in the same cortical site that completely attenuates the response in some 50 msec and inhibits any other response in that site to a new stimulation during some 130 msec. This effect has been compared to a busy-line mechanism that prevents the same channel to be used again during

some msec, eliminating slow modulations of the stimulus and increasing the cortical sensitivity to changes of frequency (Horikawa et al., 1997). This effect has also been proposed as a mechanism used by the auditory cortex to set the timing for the “sampling” of spatiotemporal patterns of cortical activity, and therefore providing a means to encode the dynamics of sound patterns (Ehret, 1997). Inhibition occurs also in a zone surrounding the activated isofrequency band, very strong at its borders and diminishing with distance from it; this inhibition is supposed to shape the isofrequency bands and thus to increase frequency selectivity (Horikawa et al., 1996; Horikawa et al., 1997).

Nevertheless, these results have usually been obtained on anesthetized animals, a fact that limits the usefulness of these observations to infer the actual mechanisms of sound perception. The increase in cortical inhibition due to anesthesia, sleep, or in response to strong thalamic input or cortico-cortical input, has a profound impact on local columnar dynamics and on the effective spatiotemporal response to sensory stimuli (e.g., inhibition in the auditory cortex restricts the cortical responses in time and space, effectively increasing single cell’s tuning but decreasing the overall response). On the other hand, at the minicolumnar level, local variations of inhibition are also known to be related to the occurrence of important local dynamic phenomena, usually thought to be related to cognitive processes (i.e. oscillatory behaviour, temporal firing patterns and coherence) (Stoop et al., 2000).

Therefore, the precise amount of cortical inhibition is an important parameter that defines the spatiotemporal dynamics of the cortex in response to stimuli. In particular, the level of anesthesia must be taken into account when analyzing experimental results (e.g., see (Herculano-Houzel et al., 1999)).

3.1.3.5 Local oscillatory activity in the auditory cortex in response to single tones and electrical stimulation

The ensemble-averaged $L_{\Delta F/F}$ signals studied by Kubota (16 trials, subcortical electrical stimulation) and Horikawa (10 trials, tone stimulation) typically show a single, relatively fast and smooth depolarization peak, and some weak residual fluctuations that have been usually neglected (i.e. assumed to be measurement noise) (Horikawa et al., 1996; Kubota et al., 1997).

Nevertheless, the data obtained by Metherate et al. with intracortical electrodes (extracellular and intracellular measures, subcortical and MGB stimulation) show a much more complex response, with a first short-latency fast depolarization peak that resembles the one seen in the optical measures and a second slow depolarization accompanied by rapid fluctuations, with depolarizing peaks and spikes (where the spikes occur in correlation with fast depolarization peaks) at time intervals around 40 milliseconds (see Figure 3-2). Nevertheless, because of the high time variability of these rapid fluctuations among trials and among cortical recording sites, they tend to disappear in averaged responses (see Figure 3-2-A, 1st line). The late-latency depolarization observed by Metherate et al. has been shown to propagate slowly (0.022m/sec) from the focus of the response through intracortical polysynaptic pathways, without much decay

across the auditory cortex but restricted to a single direction of propagation (probably reflecting an anisotropic local circuitry) (Metherate & Cruikshank, 1999).

Interestingly, gamma band oscillations superimposed on a steady potential shift have also been observed by Franowicz et al. in the primary auditory cortex in response to click stimuli, in the lightly anesthetized rat, with an epipial array of electrodes covering the AC (Franowicz & Barth, 1995). These gamma oscillations seem to have a high spatiotemporal variability and seem to have a cortical origin. However, the spatiotemporal characteristics of this long-latency fluctuating activity are largely unknown, and their study is of great interest because these oscillations may carry important perceptual information (as will be explained in section 3.1.3.8).

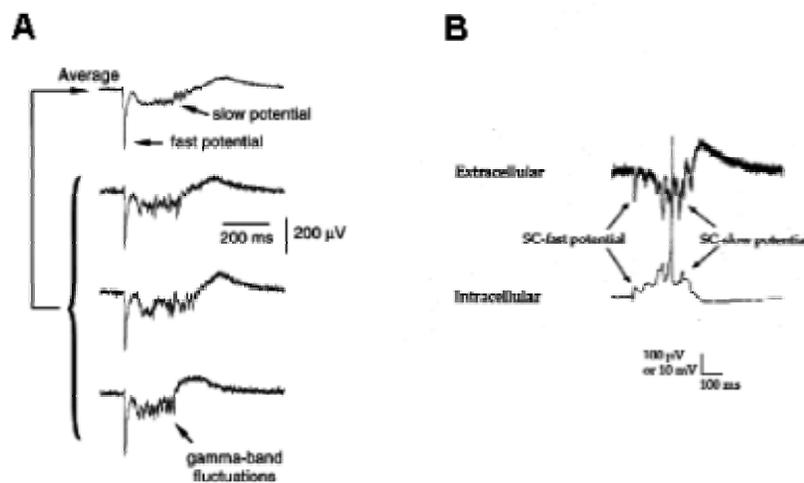


Figure 3-2, A: Ensemble-average and three single trials of extracellular recordings of the rat auditory cortex layer IV response to subcortical electrical stimulation; the fast short-latency and the slow longer-latency depolarizations with superposed rapid fluctuations are visible (From (Metherate & Cruikshank, 1999)). **B:** Simultaneous extracellular and intracellular recordings showing the correspondence between rapid depolarizations and extracellular fluctuations (From (Hsieh et al., 2000)).

One may expect to observe rapid fluctuations in optical recordings similar to those obtained by Metherate et al. and Franowicz et al. with electrode recordings. Nevertheless, neither do I, nor Horikawa (in the auditory cortex), nor Arieli (in the visual cortex) (Arieli et al., 1995; Arieli et al., 1996), nor others have observed gamma-band fluctuations in ensemble-averaged optical responses to electrical or sensory stimuli. However, this may be due to the high residual noise of the $L_{\Delta F/F}$ signals, to the ensemble averaging used to reduce the noise, or to the effect of anesthesia (as will be explained later), or to all of them. The characteristics of the slow depolarization and of the concomitant fast fluctuations observed in single neurons have been

shown to be very variable, and they vanish under trial averaging; therefore, it is not surprise if they disappear in (time) ensemble-averaged optical responses.

However, single trial optical responses can be described as ensemble-averages in space (as opposed to ensemble-averages in time) over multiple simultaneous responses of many neurons, so only if the synaptic activities of many neurons are synchronized one may expect these long-latency fluctuations to be seen in $L_{\Delta F/F}$ signals.

- *I want to point out, that even if we have no evidence of gamma band oscillations on our data, we have actually observed interesting long-lasting membrane depolarizations in evoked responses to FM sounds at latencies of about 130 msec. Moreover, these cortical activities seem to have spatiotemporal dynamics that depend on the stimulus (see Figure 5-11, Figure 5-12, and Figure 5-13). Interestingly, the timing of these depolarizations is very similar to the timing of Metherate's depolarizations (compare signals in Figure 5-13 with Figure 3-2). However, the late-latency depolarizations observed in our data are much less pronounced than the ones in Metherate's data, probably because of the use of anesthesia; new data under different experimental conditions and a more detailed analysis are needed before we can draw any conclusion about these phenomena.*

These facts underline the importance of the study of single trial optical responses to sensory and electrical stimuli; much important information may be contained in the rapid fluctuations that have usually been supposed to be instrumentation noise and neglected; the level of anesthesia is another important issue; I will discuss these issues later in this chapter.

3.1.3.6 AMPAR and NMDAR mediated excitatory activity components, GABAergic inhibition, and the ensemble averaged optical signal.

It is widely believed that most afferent thalamo-cortical projections to the sensory cortex make synapses with layer IV spiny-stellate neurons mediated mainly by non-NMDA receptors; and in addition it is usually assumed that NMDA receptors need a previous (e.g., AMPAR-mediated) depolarization to be functional. Therefore, many studies and models insist on the non-NMDA receptor's activity and neglect NMDA receptors (e.g., in models of the thalamo-cortical system and the sensory cortex (e.g., (Denham, 2001; Lumer et al., 1997a; Lumer et al., 1997b))).

Surprisingly, the strong NMDA-receptor-mediated responses seen on optical recordings, that appear when GABAergic inhibition is blocked by the concomitant application of BMI, don't disappear when non-NMDA receptors are blocked with CNQX (a non-NMDAR antagonist). This have prompted Horikawa et al. to suggest that the NMDA-receptor-mediated responses in the auditory cortex may result from direct afferent inputs from the MGB to layers III or I, or from polysynaptic inputs to layer IV (Horikawa et al., 1996).

Shedding more light on this issue, Metherate et al. have shown in a recent review on the synaptic mechanisms underlying auditory cortex responses (Metherate, 1998), that electrical

stimulation on layer VI within a single column of the rat auditory cortex, elicit a strong NMDAR-mediated EPSP in pyramidal cells at layer III of the same column after a first faster non-NMDAR-mediated EPSP; and they showed that in normal (anesthetized) conditions this strong NMDAR-mediated EPSP is suppressed by GABAergic inhibition (see Figure 3-3-D); these two distinct EPSPs have also been found in response to stimulation to subcortical thalamic afferents or to the MGB (Metherate & Cruikshank, 1999). NMDAR-mediated EPSPs are slower and much wider ($> 100\text{msec}$) than AMPAR-mediated ones ($\sim 10\text{ msec}$), and the times to peak of these two kinds of glutamatergic EPSPs are separated by not much more than 10 milliseconds (Conti & Weinberg, 1999; Metherate, 1998).

Interestingly, the time interval between the peaks of these two short-latency EPSPs, and their durations, closely approximate the time interval found between onsets of non-NMDAR-mediated and NMDAR-mediated components of the $L_{\Delta F/F}$ responses, and their corresponding durations (compare Figure 3-3 - D and B); Another parallel can be found between the waveform of the extracellular LFP occurring in response to electrical stimulation of thalamic afferents and the waveform of the ensemble-averaged optical response to (electric or sensory) stimuli (compare Figure 3-3 - A and C); this short-latency LFP seem to be originated at layer IV but is also observed with attenuation in more superficial layers.

Moreover, there's evidence that both non-NMDA (AMPA) and NMDA receptors are simultaneously present at individual glutamatergic synapses on dendritic spines of pyramidal neurons of the rat's neocortex (Kharazia et al., 1996; Kharazia & Weinberg, 1997); and that even if NMDA receptors need to be depolarized in order to function normally, and activated AMPA receptors may provide this depolarization, this does not mean that AMPAR activation is a necessary condition for the NMDAR to be activated; at normal resting membrane potentials NMDAR-mediated EPSPs can still be activated, even if their amplitude is significantly reduced with growing hyperpolarization (see Figure 3-4-B).

Differences in receptor subtypes and on the ratio of AMPAR to NMDAR exist, though, among different cortical areas, among different neurons, and even among individual synapses on the same neuron (Nusser, 2000). In particular, the GluR4 AMPA subunit seems to be widespread in the auditory system, where it seems to be very important because its fast deactivation and desensitization that enhances the temporal precision of synaptic transmission (Conti & Weinberg, 1999). In consequence, NMDAR-mediated components of the $L_{\Delta F/F}$ signals may be easily activated on the auditory cortex with respect to other cortical areas, and must not be neglected as it has usually been done.

Therefore, the typical ensemble-averaged $L_{\Delta F/F}$ signal waveform observed in anesthetized animals in response to single tones seem to reflect the individual responses of layer IV and/or layer III neurons to thalamic afferent activity observed in brain slices. The differences between NMDAR-mediated and non-NMDAR-mediated components of $L_{\Delta F/F}$ signals, and the usual inhibition of the slower NMDAR-mediated response, seem to reflect the different time courses of the NMDAR-mediated, of the non-NMDAR-mediated EPSPs, and of the GABAergic IPSPs occurring in neurons at these layers. The two $L_{\Delta F/F}$ excitatory components seem to share the same synaptic origin; and the stronger inhibition of the late NMDAR-mediated component, with respect to the non-NMDAR-mediated one, can be explained by the slower time course of the NMDAR-mediated EPSPs with respect to the earlier non-NMDAR-mediated EPSPs; the

GABAergic IPSPs may almost completely block the NMDAR-mediated EPSPs but not the non-NMDAR-mediated one which is much faster. Finally, the fact that the late optical NMDAR-mediated response survives the CNQX blocking of the early non-NMDAR-mediated response (see Figure 3-4-A) is not a surprise; if the stimulus intensity is sufficiently strong, the corresponding NMDAR-mediated EPSPs may still be observed even at deep hyperpolarizing levels (but attenuated) (see Figure 3-4- B).

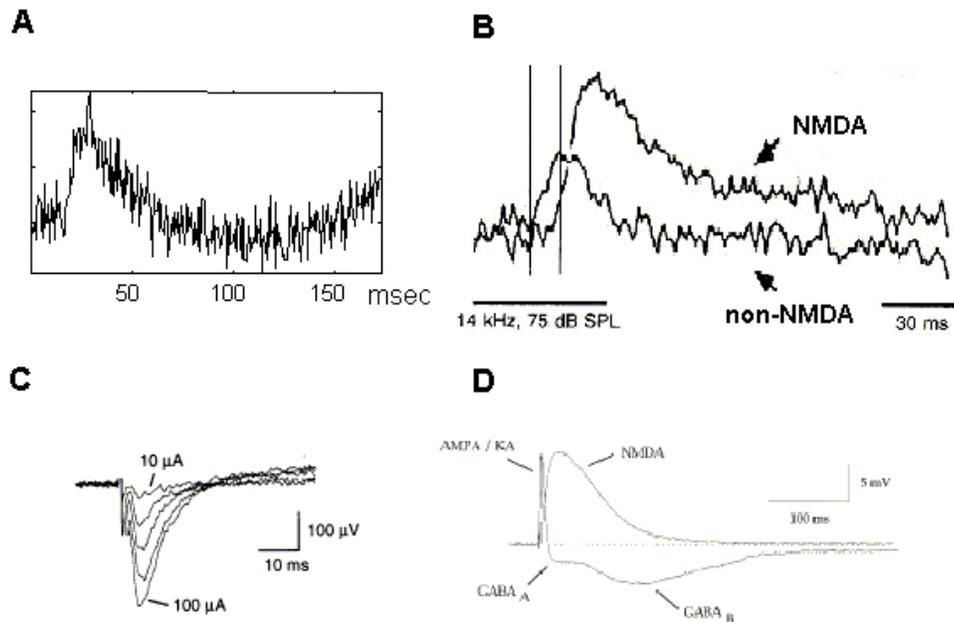


Figure 3-3, **A**: Typical single site $L_{\Delta F/F}$ signal of the in-vivo (anesthetized) guinea-pig auditory cortex response in response to single tone stimuli (10 trial ensemble average). **B**: Typical NMDAR and non-NMDAR-mediated components of the ensemble-averaged $L_{\Delta F/F}$ signal measured in response to single-tone stimuli in the guinea pig under anesthesia (Adapted from (Horikawa et al., 1996)). **C**: Short-latency LFP measured at cortical layer IV of the rat auditory cortex (in-vitro slice) in response to subcortical electrical stimuli, at different intensities (From (Metherate & Cruikshank, 1999)). **D**: Whole-cell recording from layer III pyramidal neuron (in-vitro) showing the short-latency non-NMDA and NMDA receptors-mediated EPSPs and GABAergic IPSPs in response to electrical stimulation at layer VI within the same cortical column (From (Metherate, 1998)).

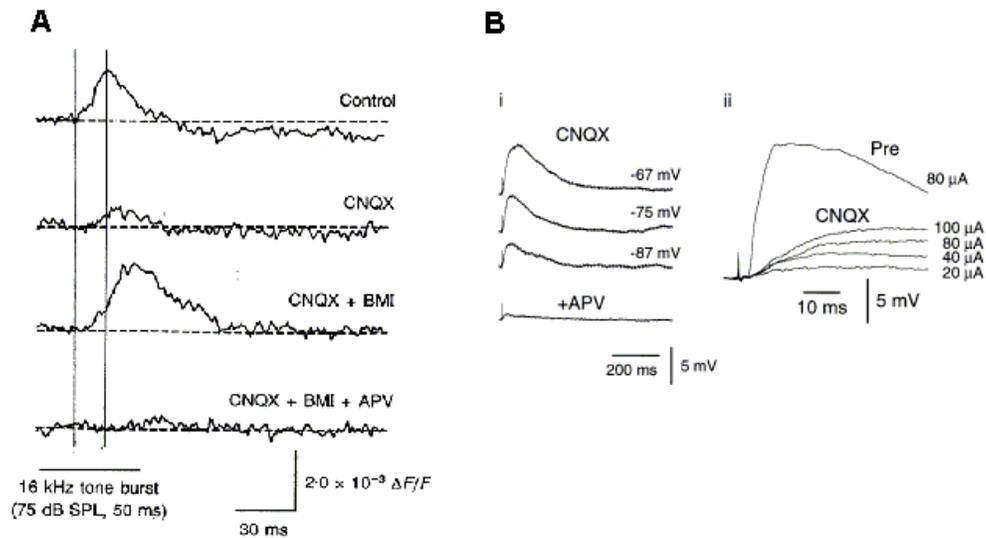


Figure 3-4, A: Optical response to single-tone stimulation (Guinea pig auditory cortex, *in vivo*, under anesthesia); typical (control) response (1st line), NMDAR-mediated response residual after CNQX application (2nd line), non-inhibited NMDAR-mediated response after BMI application (3rd line), the two glutamatergic excitatory responses and the GABAergic inhibition blocked by the concomitant application of CNQX, BMI and APV (From (Horikawa et al., 1996)). **B:** Layer IV neuron response to subcortical electrical stimulation (in-vitro mouse auditory cortex slices); dependence of the residual NMDAR-mediated EPSPs on the resting membrane potential (left) and on stimulation intensity (right) (From (Metherate & Cruikshank, 1999)).

As it has been already pointed out, not only do the short-latency non-NMDAR-mediated and NMDAR-mediated EPSPs occur in response to stimuli, but a long-latency slow depolarization accompanied by neural activity fluctuations has also been observed; extracellular and intracellular fluctuations have been observed in-vitro on layer IV when the MGB or the thalamic afferents to the auditory cortex have been stimulated (Metherate & Cruikshank, 1999), and gamma-band oscillations have been observed *in vivo* in response to click stimuli (Franowicz & Barth, 1995). Indeed, this complex activity of slow depolarization and rapid fluctuations seems to correspond to intracortically propagating polysynaptic activity, probably resulting from local interactions between glutamatergic excitatory and GABAergic inhibitory neurons (Metherate & Cruikshank, 1999).

Interestingly, the application of CNQX alone blocks out both the slow depolarization and the concomitant rapid fluctuations, but the application of APV alone only blocks the slow depolarization but not the concomitant rapid fluctuations (see figure 7A in (Metherate & Cruikshank, 1999)). Therefore, the non-NMDAR-mediated synaptic activities, but not the NMDAR-mediated ones, seem to be necessary to the generation of local oscillatory activity.

Summarizing, the most plausible interpretation of the $L_{\Delta F/F}$ signals' waveforms in response to single tones, in terms of the individual neurons' activities, seem to be the following: First, both transient non-NMDAR-mediated and NMDAR-mediated components result from the monosynaptic EPSPs at layer IV and III in response to afferent thalamocortical activation. The fast and effective GABAergic blocking of the NMDAR-mediated EPSPs, but not of the non-NMDAR-mediated ones, result in the characteristic peak of the ensemble-averaged optical responses. Second, an important source of the rapid, apparently random, fluctuations seen in single trial $L_{\Delta F/F}$ signals is surely the noise introduced by the optical recording technique, but one may suppose that another source is the occurrence of intrinsic fluctuations in neural activity, depending on stimuli and on NMDAR, non-NMDA, and GABAergic mediated activities. However, an interesting question which is still not clearly answered is: if the long-latency NMDA-receptor-mediated responses are not necessary to sustain local oscillatory activities, and if the short-latency ones are normally blocked (in anesthetized animals), then what is their function, and what is their importance in the analysis of cortical activity signals? I will discuss this issue in the next section.

3.1.3.7 NMDAR-response source and function, parallel streams in the AC

About the function of NMDA in the auditory cortex, Horikawa has suggested that inter-columnar neural processing across isofrequency bands in the same cortical field may be mediated by NMDA and GABA receptors (Horikawa et al., 1996). This conjecture suggests the existence of long-range intrinsic NMDA-receptor-mediated connections linking different isofrequency columns.

Nevertheless, I didn't find (in the reviewed literature) any convincing evidence of the existence of such long-range intrinsic horizontal connections, orthogonal to isofrequency bands, which could link pyramidal cells in distant isofrequency columns. Long (i.e. length ~ 1 mm) collateral axons seem to be restricted to the isofrequency bands (Ojima et al., 1991; Schreiner et al., 2000) and these seem to be mediated mainly by non-NMDA receptors (Horikawa et al., 1996; Kubota et al., 1997).

Moreover, the studies of Kudoh and Shibuki on the importance of the horizontal connectivity in the induction of LTP in the rat AC, suggest that long-range axon collaterals are not critical to LTP phenomena at distances longer than $500\mu\text{m}$ (even along isofrequency bands) (Kudoh & Shibuki, 1997); although it seems to be important at shorter distances thanks to a high density of horizontal collateral axons. Because NMDAR-channel activation is supposed to be one important mechanism for the facilitation of LTP (Schiller et al., 2000; Shors & Matzel, 1997)), and in particular in the auditory cortex where it clearly correlates with LTP (Kudoh & Shibuki, 1994; Seki et al., 1999), the physical substrate for NMDA related intracortical connectivity seems to be restricted to a range of columnar size ($\sim 500\mu\text{m}$) from a focal stimulation point, within the AC.

A related question is: why do latencies and durations of measured activity in single photodetectors differ across adjacent fields (A and DC in the guinea pig)? Taniguchi et al. have proposed that "the sound information processing initiates at field A, and its outputs are

transferred to field DC, which is probably a hierarchically higher center” (Taniguchi et al., 1992). Nevertheless, latency differences being around 2msec seem to be too short to result from axonal activity propagation along intracortical paths, as this is the typical time needed for the activity to cross a single photodetector. Moreover, as I have already pointed out, there’s no clear evidence of the kind of long range intracortical connections required.

An interesting alternative may be that the two fields work as two parallel complementary modules, or streams, processing different features of the same sensory object, each one with its own dynamics and functional maps (as has already been explained in the first section of this chapter). Then, we may be looking at two different parallel interrelated systems, and NMDA related activity may have some role in their intercommunication, even if we still don’t know how it is done.

If this is true, an important question is how can we study the hypothetical NMDA-mediated long range interactions (if any) between parallel modules in the optical signal during normal cortical activity?

3.1.3.8 NMDA, long range synchronization, perception, and anesthesia

The most interesting point about the function of NMDA is the conjecture of some researchers who propose that it is related to the mechanism giving rise to sensory perception and consciousness (e.g., (Freitas da Rocha et al., 2001; Phillips & Singer, 1997; Singer, 1999)). For instance, Singer and Philipps propose that the “glue” linking parallel neural information processing modules or streams, and therefore creating unitary representations of sensory objects from diverse sensory features, is the long range synchronization of gamma band oscillations between distant neural modules or streams; where synchronization is established thanks to a “context” NMDAR-mediated channel supported by long range intracortical or cortico-cortical connections (Phillips & Singer, 1997; Singer, 1999). In this paradigm, even if enough glutamate binds to a NMDAR due to presynaptic activity, the channel would not be opened immediately; NMDAR-mediated EPSPs generation is delayed until the next depolarizing cycle that removes the Mg^{2+} block from the NMDAR-channel, allowing EPSPs generation and effectively synchronizing distant synaptic activities. Synchronization is therefore obtained in a context depending manner thanks to the horizontal NMDAR-mediated modulation between distant activated columns.

This is very important for the analysis of cortical activity signals because much data is gathered from anesthetized animals. In fact, the amplitudes of NMDAR-mediated responses depend on the level of anesthesia; they are strong in awake or lightly anesthetized animals and smaller or inexistent in deep sleeping or in anesthetized animals. Anesthesia may cause the inactivation of the NMDA synapses during slow-wave sleep or deep anesthesia, blocking spike generation, cortical oscillations, synchronization, and any perceptual process. This inactivation may occur by direct or by indirect anesthetic action; for instance, via the enhancement of GABAergic inhibition (Antkowiak & Kirschfeld, 2000). This is further supported by the recent observations of Herculano-Houzel et al. (Herculano-Houzel et al., 1999); even if local coherent oscillatory behaviour has initially been reported by Gray and Singer to be independent of the anesthetic

level (Gray & Singer, 1989), recent experimental evidence by Herculano-Houzel has shown that gamma-band oscillatory activity and synchronization are indeed strongly determined by central activation, even completely disappearing at states of low activation (both results reported for the cat visual cortex).

Therefore, the type and level of anesthesia is an important parameter determining local cortical oscillatory activity. For instance, compare the experimental data and results of Gray and Herculano-Houzel (70% N₂O, 30%O₂, 0.1%-1% Halothane) where gamma oscillations observed, with those of Arieli (Arieli et al., 1995) and our own experimental data (Pentothal, Nembutal, 10-20 mg/Kg), where no gamma oscillations were observed. These two anesthetic agents have different effects, barbiturate anesthetics have a direct inhibitory action similar to GABAergic inhibition and are known to decrease REM sleep activity, while inhalation anesthetics like halothane desensitize cells, blocking ionic movement across the membrane. Moreover, pentobarbital anesthesia has a clear inhibitory effect in the auditory cortex that increases frequency tuning of cortical cells and decrease the overall response (Gaese & Ostwald, 2001). This fact is in good agreement with the observations of Horikawa (under barbiturate anesthesia) (Horikawa et al., 1996), who proposes that isofrequency bands are shaped by a strong GABAergic inhibition.

In conclusion, as NMDA receptors may have a very important role in long range neural interactions and perception, and long range synchronization seems to be its signature; then we must look for this signature in the optical (or LFP) signals. Nevertheless, it is essential to take into account the level of anesthesia; it is very possible that optical signals under barbiturate anesthesia, or during intervals of slow-wave sleep, reflect no more than the thalamic input to the cortex (i.e. postsynaptic activity due to thalamic input may still be observed in LFP and LIMP signals during slow-wave sleep and deep anesthesia, but it may be invisible to neurons' somas (Contreras et al., 1997)).

Finally, several dynamic properties of cortical activity, and consequently of optical signals' waveforms and spatial patterns, may depend on NMDA related micro-phenomena. These properties will be presented in a later section on synchrony and coincident activity in the cortex (section 3.1.6.5).

3.1.4 *Microscopic sources distribution*

Neocortical neural networks have space-filling branching patterns, with each cell trying to fill its own surrounding space and with dendrites accounting for most of the neuron's membrane surface, leaving only about 20% of the cortical volume to the extracellular space, 12% to cell bodies of neurons and glia cells, and 4% to blood vessels (Changizi, 2001). Most membrane potential fluctuations occur as synaptic activity in the dendrites spines of cortical pyramidal neurons, with more than 90% of excitatory synapses occurring in their fine spines (Stuart et al., 1999), which account to almost 78% of all synapses (DeFelipe, 1997). There are typically some few thousands of spines in each pyramidal cell's dendrite, with spines' lengths and separations

between them of the order of some few μm , contributing substantially to the total cell membrane's area because of their number and density (Fiala & Harris, 1999). One can then assume that the optical signals recorded from the cortex reflect mostly membrane potential fluctuations that have their origin in the dendrite's spines.

While neuron density differs across cortical areas and species, the synaptic density remains the same through different regions of the neocortex, and through different species (Changizi, 2001); it is of the order of magnitude of 10^9 synapses/ mm^3 . The number of synapses per neuron is proportional to the cortical volume occupied by the neuron. Given that the neuron fills the volume with its branches, the synapse density is invariant with respect to gray matter volume (Changizi, 2001). In small rodents like the guinea pig, neuron density is of the order of 10^5 neurons/ mm^3 and the number of synapses per neuron is of the order of 10^4 . Empirical average values have been determined to be about 8.200 synapses/neuron, 9.2×10^4 neurons/ mm^3 , and 7.2×10^8 synapses/ mm^3 , in the neocortex of the mouse (Schuz & Palm, 1989).

Even if the density of neurons is not invariant, it tends to increase as cortical thickness decrease, so that the number of neurons under a given cortical surface area (neuron's surface-density) tends to be invariant across cortical regions (Schuz & Palm, 1989). Even if neuron's surface-density is almost invariant between similar species, it may significantly increase in superior primates, with values ranging from about $6,5 \times 10^4$ in the rat, through $5,5 \times 10^4$ in the cat, to about $10,5 \times 10^4$ in the macaque (and probably similar values in the human) (Robert, 1999).

- *Given that the optical signals reflect membrane potential fluctuations having their origin mostly in synaptic activity, and because synaptic density is invariant across cortical areas, one may assume a spatial homogeneity of the signal sources' distribution across the observed cortical area. Therefore, one can assume that any spatial inhomogeneity in the emitted fluorescence across neighboring cortical sites is due to differences in average synaptic activity; the spatial covariance of optical signals is then supposed to reflect the functional structure of the underlying cortical neural networks and their dynamics during spontaneous activities or evoked responses to afferent excitations.*

3.1.5 Excitatory and Inhibitory events

Excitatory circuits are dominant: About 85% of neocortical neurons are pyramidal cells (Changizi, 2001); their abundance and profuse axonal arborizations forming local recurrent circuits and connections with other cortical zones make them the most important components of intracortical circuitry (DeFelipe, 1997).

The membrane surface sensitive to excitatory inputs is more extensive than the surface sensitive to inhibitory inputs (see Figure 3-1-B): A great majority of synapses (75% to 95%) are of the so-called "asymmetric" type, synapses of this kind have an excitatory function. They are

localized mainly on dendrite's spines, and their input comes from other spiny (pyramidal and stellate) cells and from many cortical afferents (DeFelipe, 1997).

Fetz et al. (2000) have shown, in the sensorimotor cortex of monkeys, that synchronous EPSPs occur more often than non-synchronous EPSPs, that average synchronous EPSPs (ASEPs) (measured in neighboring neurons) have a high amplitude related to single EPSPs, to IPSPs, and to average synchronous inhibitory potentials (ASIPs), and that their amplitude increase during cortical oscillatory activity (Fetz et al., 2000). They have also shown that ASEPs occurring in that data result from the sum of 4.7 EPSP, in average, while ASIPs result only from 2.1 IPSPs (assuming linear summation of PSPs). Another conclusion from Fetz et al. work is that synchronous EPSPs forming ASEPs are more dispersed in time and space than IPSPs forming ASIPs, suggesting that synchronized excitation can involve more widely distributed connections than synchronized inhibition, which may occur in a relatively localized, and so smaller, group of neurons.

Moreover, recent results suggest the existence of complex mechanisms that may greatly amplify and prolong the contribution of each EPSP to the LIMP signal. It has been shown that single EPSPs occurring at distal dendrite's spines propagate successfully to the soma without significant attenuation thanks to an increase in synaptic conductance of individual synaptic inputs with distance from the soma; this mechanism amplifies distant EPSPs, and normalizes their efficacy at the soma (Hausser, 2001; Williams & Stuart, 2000b). An important increase in the amplitude, duration and effect of single EPSPs occurring in distant synapses can also happen under nearly coincident excitatory input, thanks to backpropagating action potentials (Larkum et al., 1999a; Larkum et al., 1999b; Stuart & Hausser, 2001; Williams & Stuart, 2000a), or voltage-dependent amplification mechanisms at the soma (Andreasen & Lambert, 1999); voltage-dependent amplification of coincident excitatory inputs can also occur thanks to NMDA receptor-mediated spikes generated in basal dendrites (Schiller et al., 2000; Schiller & Schiller, 2001).

On the other hand, the soma and axon initial segment receive only synapses of the so-called "symmetrical" type, which have an inhibitory function. These inhibitory inputs are less abundant; they are a minority at dendrite's spines and become increasingly important as the distance to the soma diminishes (DeFelipe, 1997). Moreover, intracellular measures of synaptic interactions between cortical neurons reveal that mesoscopic (population-averaged) noticeable hyperpolarization events, due to synchronous inhibitory potentials occurring during oscillatory and non-oscillatory activity, are far less abundant, and smaller, than mesoscopic depolarization events. In addition, synchronized inhibitory activity seems to be restricted in time and in space, unlike excitatory activity that seems to involve widely distributed connections (Fetz et al., 2000); IPSPs occur in general at or near the soma, in response to EPSPs, as a means to control spike generation.

Therefore, thanks to the overwhelming majority of excitatory synapses over the dendritic surface, and to the synaptic amplification mechanisms, EPSPs are expected to make a big contribution to the total voltage-dependent fluorescence emission fluctuations. In particular, coincident EPSPs are expected to be greatly amplified, so that eventual population excitatory postsynaptic activity synchronization at one measuring site may be readily distinguishable from background activity. One may suppose that fluorescence changes due to dendritic

depolarization would be more noticeable than those due to hyperpolarization. The average direct contribution of individual IPSPs to mesoscopic fluctuations of membrane potential would be less important than those due to EPSPs, but their effect would be noticed indirectly by the diminution of general tissue excitation and responsiveness.

Strong dendritic depolarizations may be seen even during sleep or when using anesthetics. These slow (7 to 14 Hz) but strong membrane potential positive fluctuations result from thalamic inputs to cortical neurons. However, they are controlled by an also strong GABAergic inhibition that diminishes the probability of spike generation (Contreras et al., 1997), effectively restricting their propagation on the cortical tissue. Therefore, important optical fluctuations reflecting thalamic input to the cortex may be observed even without an increase in spike generation and without an increase in intrinsic cortical activity.

- *One can thus assume that EPSPs constitute the most important source of the optical LIMP signal fluctuations and that inhibitory activity is probably not directly observable as IPSPs. Nevertheless, inhibition is an important factor to take into account when interpreting optical signals. In particular, because of inhibition, fluorescent signals from the anesthetized cortex may reflect thalamocortical excitatory input rather than intracortical excitatory processes.*

3.1.6 Dendrites' properties, synaptic coincident events, oscillations, and synchrony

One important factor that defines the properties of the LIMP signal is the functioning mode of the underlying pyramidal neurons in response to incoming synaptic events, which depends on the effective duration of the “integration time window” where summation of incoming synaptic potentials is done. If the neuron basic function is the temporal integration of postsynaptic potentials, because of a long summation interval, then the neuron will be blind to fine temporal structure in arriving PSPs. In this case we can assume that the LIMP signal will probably be smooth, with a shape depending mostly on neurons population's firing rate changes. On the other hand, if the neuron is sensible to PSPs temporal structure, having a short integration interval, the neuron would function as a coincidence detector, incoming synaptic events need to be highly synchronized in order to successfully propagate its information; if this is the case, one can expect neural activity to be coherent over an important fraction of neurons in the observed volume and then the shape of the LIMP structure will reflect the synchronous postsynaptic activity temporal structure.

In the following paragraphs, some important issues on the dendrite's membrane properties will be addressed, and their relationships with the optical LIMP signal properties will be pointed out.

3.1.6.1 Basic dendrite's membrane behavior

The basic “passive” electrical behavior of an unbranched dendrite's section of constant diameter at subthreshold conditions may be described by the cable equation for a leaky transmission line:

$$\kappa_m \frac{dV_m(x,t)}{dt} + i_m(x,t) = \frac{D}{4\rho_a} \left(\frac{\delta^2 V_m(x,t)}{\delta x^2} \right)$$

The terms κ_m and ρ_a are the specific membrane capacitance (expressed in $\mu\text{F}/\text{cm}^2$) and the specific axial resistance (i.e. resistivity, expressed in Ωcm), respectively. $V_m(x,t)$ is the membrane's potential difference between the interior and the exterior of the cell as a function of length and time, and $i_m(x,t)$ is the total ion leakage current density crossing the membrane (expressed in A/cm^2). Noting that $i_m \rho_m = (V_m - V_{m(\text{rest})})$, this equation may be rewritten as:

$$\rho_m \kappa_m \frac{\delta V_m(x,t)}{\delta t} + (V_m(x,t) - V_{m(\text{rest})}) = \rho_m \frac{D}{4\rho_a} \frac{\delta^2 V_m(x,t)}{\delta x^2}$$

Defining the longitudinal parameters: $r_m = \rho_m/(\pi D)$ (Ωcm), $r_a = 4\rho_a/(\pi D)$ (Ω/cm) and $c_m = \kappa_m * \pi D$ this equation reads:

$$r_m c_m \frac{\delta V_m(x,t)}{\delta t} + (V_m(x,t) - V_{m(\text{rest})}) = \frac{r_m}{r_a} \frac{\delta^2 V_m(x,t)}{\delta x^2}$$

Or equivalently:

$$\tau_m \frac{\delta v_m(x,t)}{\delta t} + v_m(x,t) = \lambda^2 \frac{\delta^2 v_m(x,t)}{\delta x^2}$$

Where, $\tau_m = \rho_m \kappa_m = r_m c_m$, and $\lambda = \sqrt{(D\rho_m)/(4\rho_a)} = \sqrt{r_m/r_a}$, are the time and the “electrotonic” length constants of the dendrite, respectively; and where $v_m = (V_m - V_{m(\text{rest})})$, and $V_{m(\text{rest})}$ is the membrane's resting potential.

Injecting an instantaneous unit current at the origin ($i(x,t)$) can be expressed as:

$$\tau_m \frac{\delta v_m(x,t)}{\delta t} + v_m(x,t) + r_m i(x,t) = \lambda^2 \frac{\delta^2 v_m(x,t)}{\delta x^2}$$

The response of this system to $i(x,t)$, where $i(x,t) = I_o \delta(t) \delta(x)$ and $I_o = IA$, is given by the Green's function ($G(x,t)$) for this partial differential equation problem:

$$v_m(x,t) = \int_{-\infty}^{\infty} \int_{u=0}^{\infty} G(x-v, t-u) r_m I_o \delta(u) \delta(v) du dv = I_o r_m G(x,t)$$

Where:

$$G(x,t) = \frac{I}{\lambda \sqrt{\pi t / \tau_m}} \exp\left(\frac{-(x/\lambda)^2}{4(t/\tau_m)}\right) \exp\left(\frac{-t}{\tau_m}\right) \hat{H}(x) \hat{H}(t)$$

for a semi-infinite cable with sealed end at $x=0$, and

$$G(x,t) = \frac{I}{2\lambda\sqrt{\pi t/\tau_m}} \exp\left(\frac{-(x/\lambda)^2}{4(t/\tau_m)}\right) \exp\left(\frac{-t}{\tau_m}\right) \hat{H}(t)$$

for an infinite cable ($\hat{H}(x)$ being the heaviside function).

The input resistance ($R_{+\infty}$) of a semi-infinite passive dendrite with sealed end at $x=0$ is given by $\sqrt{r_m r_a} = r_m \lambda = r_a \lambda$, and the input resistance for an infinite dendrite (R_∞) is half of it. Then, for a semi-infinite cable with sealed end at $x=0$ we can write:

$$v_m(x,t) = \frac{I_o r_m}{\sqrt{\pi \lambda^2 t / \tau_m}} \exp\left(\frac{-(x/\lambda)^2}{4(t/\tau_m)}\right) \exp\left(\frac{-t}{\tau_m}\right) \hat{H}(x) \hat{H}(t)$$

$$v_m(x,t) = I_o R_{+\infty} \frac{I}{\sqrt{\pi t / \tau_m}} \exp\left(\frac{-(x/\lambda)^2}{4(t/\tau_m)}\right) \exp\left(\frac{-t}{\tau_m}\right) \hat{H}(x) \hat{H}(t)$$

Whereas for an infinite cable the impulsive reponse is given by:

$$v_m(x,t) = \frac{I_o r_m}{\sqrt{4\pi \lambda^2 t / \tau_m}} \exp\left(\frac{-(x/\lambda)^2}{4(t/\tau_m)}\right) \exp\left(\frac{-t}{\tau_m}\right) \hat{H}(t)$$

$$v_m(x,t) = I_o R_\infty \frac{I}{\sqrt{\pi t / \tau_m}} \exp\left(\frac{-(x/\lambda)^2}{4(t/\tau_m)}\right) \exp\left(\frac{-t}{\tau_m}\right) \hat{H}(t)$$

Assuming ρ_a and κ_m constant along the dendrite's length, the most important biophysical parameter controlling the dendrite's response to a voltage change at the synapse in this model is ρ_m . The effective value of this parameter may vary due to the increase in ionic channels opening during normal *in vivo* activity, dynamically changing the extent and magnitude of the voltage attenuation along the dendrite, and setting the filtering properties of the membrane during normal *in vivo* activity. It is readily seen that if $\rho_m \ll \rho_a/D$ then λ vanishes and the local membrane's potential behaviour will be determined only by the values of ρ_m and κ_m . In addition, the value of ρ_m sets the frequency response to input signals; slow signals ($f < 5f_m$, with $f_m = 1/(2\pi\tau_m)$) are unaffected by the filtering properties of the dendrite's membrane and their attenuation as they travel along the dendrite is determined solely by the value of the "static" electrotonic length constant (λ). On the other hand, for small and fast ($f > 5f_m$) signals, such that $(V_m(x,t) - V_{rest})$ is small with respect to its time derivative, an equivalent small-signal dynamic length constant can be defined as:

$$\lambda_f = \sqrt{\frac{D}{4\pi f \rho_m \kappa_m}}$$

One can see that attenuation becomes stronger for fast signals than for slow depolarizations, and becomes independent of the value of ρ_m . This seems to be a big problem for some cells, like layer V cortical pyramidal neurons, that have very long apical dendrites (lengths ~ 1 mm), where

rapid (non-NMDA) EPSPs occurring at the apical tuft will be restricted to the more superficial layers and will have severe difficulties to reach the soma.

References: Cowan, 2001; Dayan & Abbott, 2001; Plonsey & Barr, 2000.

3.1.6.2 EPSPs propagation and attenuation

The activation of a single synapse by an incoming presynaptic spike generates an inward current density (i_{syn}), space localized at the site of the synapse ($x = x_o$), and a total inward current I_{syn} . Then one may define the single synaptic activation as $i_{syn}(x,t) = I_{syn}(t)\delta(x-x_o)$. Simulations by Jaffe's and Carnevale (Jaffe & Carnevale, 1999), showed that excitatory synapses in pyramidal cells tend to work as current sources (i.e. EPSPs amplitudes ($V_{syn}(t)-V_{rest}$) are very small compared to the driving force at the synapse ($E_{syn}-V_{rest}$); so for a given synaptic conductance change, the amplitude and time course of the synaptic current (I_{syn}) is almost the same independently of synapses' locations). Therefore, I_{syn} is almost proportional to the synaptic channel conductance (g_{syn}):

$$I_{syn}(t) = g_{syn}(t)(V_{syn}(t) - E_{syn}) = g_{syn}(t)((V_{syn}(t)-V_{rest}) - (E_{syn}-V_{rest}))$$

$$I_{syn}(t) \approx g_{syn}(t)(V_{rest}(t) - E_{syn})$$

(E_{syn} = reverse potential of the synapse, ~ 0 for excitatory synapses)

For a single synaptic activation at the distal end (sealed end) of the dendrite the membrane potential is given by:

$$v(x,t) = r_m \int_0^\infty \int_{u=0}^\infty G(x-v,t-u) r_m I_{syn}(v)\delta(u) du dv$$

The typical passive dendrite membrane specific resistance of cortical pyramidal neurons measured in-vitro, without any background synaptic activity, may be very high ($\rho_a \approx 100 \text{ k}\Omega\text{cm}$, see Table 3-1). These high values result in long membrane time constants ($\tau_m \approx 100 \text{ msec}$ if $\kappa_m \approx 1 \mu\text{F}/\text{cm}^2$) and long electrotonic length constants (λ of the order of 1 mm, and $\rho_a \approx 200 \Omega\text{cm}$). However, EPSPs attenuation increases as synaptic activity (excitatory or inhibitory) increases, because of a decrease of the effective ρ_m (see Table 3-1); such that at typical *in vivo* background synaptic activity rates (1 ~ 5 Hz, (Amit & Brunel, 1997)) the effective membrane resistance may be much smaller ($\rho_{meff} < 10 \text{ k}\Omega\text{cm}^2$). This dynamic increase in membrane conductance results in much shorter membrane time constants ($\tau_m < 10 \text{ msec}$) and in shorter electrotonic length constants (λ of the order of 100 μm) (Bernander et al., 1991; Rudolph et al., 2001).

- *Therefore, one may assume that at physiological conditions, and in absence of some other amplification mechanism, rapid (non-NMDAR-mediated) EPSPs at distal synapses extinguish very rapidly and are restricted to the neighborhood of the synapse. This phenomenon becomes more evident when dendritic shafts and somas are inhibited (e.g. when using anesthesia), because of the increase of total channel conductance that diminish even more the effective membrane resistance. This has potential implications*

for the interpretation of optical LIMP measures, because it gives a hint of the kind of dendritic events that can be actually observed during *in vivo* experiments depending on anesthesia and other experimental conditions.

For instance, the theoretical (passive) membrane potential response to a single AMPAR-mediated synaptic activation of $g_{max}=1nS$ is depicted in Figure 3-5. Under normal *in vivo* conditions the EPSP amplitude is very small (less than 1mV), consistent with numerical simulations (Bernander et al., 1991) and with real *in vivo* EPSP intracellular recordings (Matsumura et al., 1996) of cortical pyramidal cells. Moreover, it is rapidly attenuated, almost vanishing, in less than 0.5mm. Given that dendrites' lengths of cortical pyramidal neurons may reach several hundreds of microns (more than 1mm for apical dendrites of deep pyramidal cells), single non-NMDAR-mediated EPSPs occurring in distal synapses hardly have any effect on the somatic potential.

Several mechanisms have been proposed to explain the way information from far synapses might successfully reach the soma in cortical pyramidal cells during normal *in vivo* activity (Andreassen & Lambert, 1999; Hausser, 2001; Jaffe & Carnevale, 1999; Larkum et al., 1999b; Williams & Stuart, 2000b).

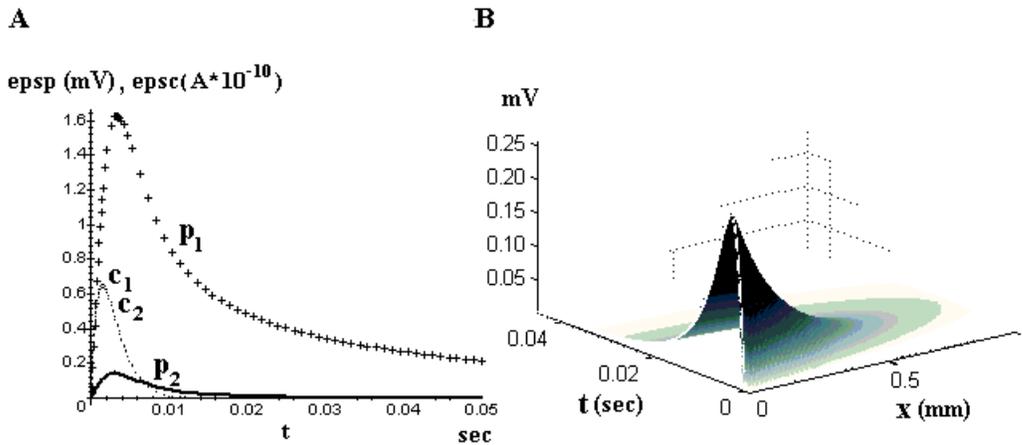


Figure 3-5. A: Theoretical AMPAR-mediated EPSPs occurring in an infinite length dendrite, as they will be measured at the synapse site; at rest (*in-vitro*) (p_1) and *in vivo* (p_2) conditions. Membrane parameters: $\rho_{m(rest)} = 100K\Omega cm^2$, $\rho_a = 200\Omega cm$, $\kappa_m = 1\mu F/cm^2$, $\rho_{m(effective)} = 10K\Omega cm^2$ (at $f \sim 1Hz$), $D = 1\mu m$, $g_{syn} = 1nS$, $\tau_{syn} = 1.5 msec$, $V_{rest} = -66 mV$ ($\lambda_{rest} = 1.118 mm$, $\tau_{m(rest)} = 100msec$, $\lambda_{eff} = 0.354 mm$, $\tau_{meff} = 10msec$). EPSCs amplitudes and time courses at rest (c_1) and *in vivo* (c_2) are almost the same. **B:** *In vivo* EPSP propagation following a synaptic activation at the start point ($x=0$) of a semi-infinite dendrite, with the same parameters as in (A) and $V_{rest} = -64mV$.

Parameter	Value	Source
κ_m (Specific Membrane Capacitance)	1 $\mu\text{F}/\text{cm}^2$	(1,2)
$\rho_{m(\text{rest})}$ (Specific Membrane Resistance) (At rest conditions in absence of synaptic activity.)	100 $\text{k}\Omega\cdot\text{cm}^2$	(1,2)
$\rho_{m(\text{effective})}$ (Specific Membrane Resistance) (At 1Hz background activity.)	6 – 35 $\text{k}\Omega\cdot\text{cm}^2$	(1)
D (Dendrite diameter)	1-4 μm (Proximal), 0.2-2 μm (Distal)	(5)
L (Dendrite extent)	200 μm (basal) -1000 μm (Apical)	(5)
ρ_a (Specific axial resistance)	100 - 400 $\Omega\cdot\text{cm}$	(1,4)
g_{syn} (AMPA peak synaptic conductance, per synaptic event.)	1.2 nS	(3,6)
τ_{synA}	0.2 -0.8 msec (at synapse), 0.6 (at soma)	(6,7,8)
τ_{synD} (AMPA activation and decay synaptic time constants, from EPSCs measured at synapse and at soma)	1.3-2 msec (at synapse) , 3-6.6 (at soma)	

Table 3-1 Typical values of dendrites' functional parameters on pyramidal cells Sources: 1- (Bernander et al., 1991), 2- (Dayan & Abbott, 2001), 3- (Rudolph et al., 2001), 4- (Contreras et al., 1997), 5- (Fiala & Harris, 1999), 6- (Jonas et al., 1993), 7- (Kleppe & Robinson, 1999), 8- (Conti & Weinberg, 1999).

Jaffe and Carnevale have shown, using T-Circuit theory, that if synapses work as current sources then it is the transfer impedance ($Z_c = (V_{\text{soma}} - V_{\text{rest}})/I_{\text{syn}} \mid I_{\text{syn}} = 0$) between the synapse and the soma that best describes the propagation of synaptic information to the soma (i.e. $(V_{\text{soma}} - V_{\text{rest}}) = I_{\text{syn}} Z_c$). Therefore, if Z_c is independent of the distance from the synapse to the soma, a passive normalization of V_{soma} will be done by the dendrite's electrical properties, resulting in a low variability of the amplitude of somatic EPSPs with respect to dendrite's location.

However, Z_c depends on the neuron's morphology, and the passive normalization mechanism doesn't seem to work for some cells like the layer V cortical pyramidal neurons because of their apical dendritic tuft (Jaffe & Carnevale, 1999). For these cells, Z_c and V_{soma} show a significant decrease along the apical dendrites with respect to synapse's distance to the soma ($V_{\text{soma}}/V_{\text{syn}} < 0.1$ in less than 200 μm from the soma, (figure 4 in Jaffe & Carnevale (1999))), and the input impedance ($Z_{N_{\text{syn}}} = (V_{\text{syn}} - V_{\text{rest}})/I_{\text{syn}} \mid I_{\text{soma}} = 0$) is almost constant. However, synapses at the apical tuft and at the basal dendritic arbor do show a passive normalization with respect to their origin (i.e. the soma and the distal extreme of the apical dendritic shaft, respectively). In other words, EPSPs elicited at synapses in the apical tuft are smaller when measured at the soma than the ones elicited in the basal dendritic arbors, but the amplitudes of EPSPs measured at the soma are comparable for synapses within the same dendritic field (apical or basal), if elicited by comparable synaptic conductance changes.

Therefore, an important attenuation of rapid EPSPs occurring at distal synapses seems to be the rule on cortical pyramidal neurons with long apical dendrites.

3.1.6.3 Spike rate integration or coincidence detection?

Other passive and active mechanisms have been proposed to explain neural information transmission and processing. Some of these mechanisms may drastically modify the basic dendrite's integration properties. At least two different ways in which neural information processing can be done have been proposed, either input spike's rate integration or coincidence detection. Which one of these information paradigms prevails in cortical neurons?

As has been previously pointed out, both LIMP and LFP fluctuations reflect mostly synaptic activity occurring on the superficial dendritic arbors of the observed neural networks. Then, it is important to take into account the dendrite's properties during physiological activity in order to make a good guess of what kind of information may be extracted from the signals.

Realistic simulations made with computational models of neocortical neurons working under normal *in vivo* levels of synaptic background activity have shown that the effective dendrite's membrane parameters may radically change under normal "noisy" *in vivo* conditions compared to quiescent states; effectively changing their integration properties (Bernander et al., 1991; Rudolph et al., 2001), and consequently modifying cortical neural networks' dynamics and modes of operation.

The results obtained by Bernander et al. (Bernander et al., 1991) using models of a typical layer V pyramidal neuron of the cat's striate cortex indicate that as the background synaptic activity increases, some important modifications on dendrites' dynamic properties occur due to the added tonically-activated synaptic membrane conductance (G_{syn}): the neuron's effective membrane resistance (ρ_m) and time constant (τ_m) diminish, while its electrotonic length constant (λ_m) increases. As a result of this dynamic modification of the membrane's parameters, the equivalent "electrotonic" distance of any particular synapse to the soma effectively stretches by a factor dependent on its physical distance to the soma, with basal dendrites stretching more than apical dendrites. This effect is counterbalanced by a simultaneous rise on the resting potential at the soma that facilitates action potential generation.

As a result of the combination of these two effects the neuron's firing probability, conditional on the coincidence of EPSPs generation, increases as the rate of the background activity increases, effectively putting the neuron in a coincident detector mode.

Furthermore, recent results indicate a normalization of the efficacy of synaptic inputs at the soma, contrary to the wide assumption that the synaptic potentials attenuate as they propagate to the soma. EPSPs' filtering seems to be compensated by an increase on synaptic conductance at distal synapses, so a distal synapse activation produce an equivalent depolarization at the soma as the one produced by the activation of a more proximal synapse (Hausser, 2001; Williams & Stuart, 2000b).

Recent results obtained by Rudolph et al. (2001) further corroborate Bernander's results, and extend them to neurons of different morphologies, different cortical layers (II-III,V,VI), and different areas (parietal cortex). Furthermore, their simulations show that active action potential propagation along the dendrites (either backpropagating from the soma to distal dendrites, or propagating from distal sites to the soma) is almost unaffected by background activity. The combined effect of the two phenomena (dendrite's stretching and active spike backpropagation) is that, under *in vivo* physiological conditions, EPSPs arrive to the soma without much attenuation and even amplified, depending on the level of background activity correlation (input coincidence).

The results of these simulations are in good correlation with the experimental work of Williams and Stuart on the neocortical pyramidal cells of the rat as they have shown that backpropagating action potentials are amplified during physiological synapse activity conditions. This effect shows to be very effective to assure the transmission of physiological temporal patterns arriving to distal synapses (Williams & Stuart, 2000a).

Summarizing these facts:

1. One may assume that if many EPSPs occur in coincidence in a population of neurons, this will increase the instantaneous firing intensity of the population, propagating information coded in this coincidence of afferent activity. In other words, all this evidence supports the population time-coding hypothesis, which states that the propagation of information in the cortex is done by the activation of synchronous neural assemblies (Singer, 1994).

2. Furthermore, as the electrotonic length constant (λ_m) increases, the effective isolation between dendritic segments, as well as the effective separation between synapses, increases. Then we have a special situation where the integration of synaptic activity can be done independently in each segment. Hence, at *in vivo* background activity levels, the $L_{\Delta F/F}$ signal may be assumed to reflect the linear sum of activities occurring in independent dendritic segments. In other words, we may assume a physical independence of the microscopic $L_{\Delta F/F}$ signal sources (i.e. synaptic activity in different dendritic segments), and the linear summation of the “microscopic” signals as they reach the photodetector.
3. In addition, since the average intra- and cortico-cortical excitatory synapses are very weak (Abeles, 1991), we can assume that the occurrence of positive time-localized transients on the integrated synaptic activity recorded at one cortical site, reflect coincidences on the arrival times of spikes to the synapses, and that these coincidences reflect the activation of presynaptic neural assemblies (assuming a good SNR ratio).
4. The electrotonic isolation of distal dendrites, when the animal is anesthetized, implies that $L_{\Delta F/F}$ signals, which reflect the LIMP time course on superficial cortical layers (II, III), will not only reflect coincident activity but also the background synaptic activity. Then, one may assume that optical $L_{\Delta F/F}$ signals reflect both the rate of, and the coincident events occurring on, the synaptic activity.

3.1.6.4 Local oscillations

Local oscillatory behaviour in the cortex occurs both during the waking (or lightly anesthetized) state and during natural sleep (Contreras et al., 1997), but their physiological origin, temporal structure, and function differ. Local oscillatory activity during sleep spindles results from the local inhibitory control of excitatory synchronized thalamic inputs, forming regular EPSPs/IPSPs sequences with low frequency content (7-14 Hz), and resulting in a relatively low activation of cortical cells. In contrast, local oscillatory activity in awake and lightly anesthetized animals, and during REM sleep states, has higher frequency content (20-70 Hz, gamma band), a more complex time structure, and is related to a higher central activation (Herculano-Houzel et al., 1999).

Stoop et al., (2000) propose that the origin of this local coherent oscillatory activity lies on the spiny stellate neurons in layer IV, which are major postsynaptic targets of thalamic input and seem to have a strong tendency to sustain this kind of collective oscillatory behaviour. Spiny stellate neurons project their axons vertically to granular layers, propagating its activity to the dendritic arbors of pyramidal cells. Therefore, if mesoscopic oscillatory bursting activity is observed in $L_{\Delta F/F}$ signals, it may be reasonable to assume a local origin (directly under the recording site). For Freeman, gamma oscillations result from non-linear interactions between populations of neurons with multiple feedback loops, and may occur at a local level (e.g., minicolumns) (Freeman & Jakubith, 1993). If this was the case for the auditory cortex minicolumn, locally observed gamma oscillations may still have a local origin.

In contrast, Llinas et al. propose that gamma oscillations may have a thalamic origin, and that the local cortical minicolumn has mainly a coincident detection role between specific and non-specific thalamic inputs arriving to different cortical layers (i.e. a binding mechanism between the external sensory information and the internal significance information), and that information about this coincidence returns to the thalamus, establishing a thalamocortical resonant columns that can sustain coherent oscillations (Llinas et al., 2002). In this case, locally observed oscillations may not be originated at the observed site.

Finally, Synchronization between neural populations is related to population mean activity levels (Chawla et al., 1999). Therefore, one may expect the occurrence of local oscillations to be related to higher firing rates (i.e. high $L_{\Delta F/F}$ amplitudes).

3.1.6.5 NMDA-receptor-mediated coincidence detection and long range synchrony

An important feature of the NMDA receptor (NMDAR) channels is the existence of a voltage-dependent blockade of the channel pore by Mg^{2+} ions, the channel is activated only when the membrane is depolarized and it is blocked at resting membrane potentials. This feature of the NMDAR channel allows a great variety of (potential) information processing mechanisms at the synapse.

For instance, one important effect of the relief of this Mg^{2+} voltage-dependent block is the boosting of a powerful coincident-detection mechanism on individual dendritic segments, mediated by NMDAR-dominated spikes (or action-EPSP). These coincidence-detector dendritic spikes are generated by a supralinear amplification phenomenon induced by the co-activation of multiple neighboring non-NMDA synaptic units on the same dendritic segment, effectively detecting the coincidence in the synaptic input, and amplifying and widening the synaptic response. This mechanism may also enable parallel information processing in several integrative dendritic subunits (Schiller et al., 2000; Schiller & Schiller, 2001).

Another important consequence of the voltage-dependent property of the Mg^{2+} block is that the action of the intracortical NMDAR-mediated connections has a modulatory action, instead of being a primary drive of the target cell. The activation of the NMDA channel boosts the summation of non-NMDAR-mediated EPSPs, providing a gain-control mechanism that can be used by local (i.e. measured by a given photodetector) and non-local (measured by a distant photodetector) active minicolumns that enhances and synchronizes their activity.

Phillips and Singer argue that this mechanism is used by the neocortex to discover coherent relationships between different features of a sensory or an internal object, depending on a context field signal (CF), providing the means to dynamically group different features of a single object into a single coherent percept. In this theory, afferent receptive field (RF) input arrives mainly at non-NMDA synapses, and CF input arrives mainly at the modulatory non-NMDA synapses. The existence of the CF channel allows not only for internal synchronization within the same cortical area but also for more global synchronization with other cortical areas or other brain structures. In particular, attentional mechanisms may use this channel to

selectively enhance perception processes (Phillips, 2001a; Phillips, 2001b; Phillips & Singer, 1997; Singer, 1999).

Nevertheless, the NMDAR-mediated channel activation is very effectively suppressed by GABAergic interneurons during normal physiological conditions (Horikawa et al., 1996), restricting its action to non-inhibited cortical columns. Therefore, NMDAR-mediated modulatory interactions may occur mainly among separated active cortical columns (due to the inhibitory regions surrounding activated columns), providing an effective way to link different combinations of stimuli features that lie in separated areas of the auditory cortex, and discovering relationships between sensory clues that describe the auditory objects.

- Because local synaptic activities synchronization, local oscillations, and coherence of the activity between distant cortical sites, all them depend on these underlying dendritic mechanisms; then, local and non-local properties of the optical multisite signals may depend on dendrites' physical parameters. In particular, they clearly depend on the state of the NMDA channel.

3.1.6.6 Some evidence supporting the existence of EPSPs coincidence events in neural activity

In vivo recordings of cortical neurons typically exhibit a high firing irregularity. This fact has led to the formulation of several, sometimes contradictory, mechanisms of spike generation, synaptic events temporal distribution, and neural information coding strategies. Some have argued that this irregularity is incompatible with the classical integrate-and-fire model of the neuron function under *in vivo* natural cortical conditions and that cortical neurons may rather function as coincidence detectors (Softky & Koch, 1993; Stevens & Zador, 1998).

Even if contradictory opinions exist at this respect (Shadlen & Newsome, 1998; Softky & Koch, 1993), there exist some experimental evidence that support the idea that only a strong correlation among individual synaptic events can explain the high variability in the firing of real cortical neurons (Softky & Koch, 1993; Stevens & Zador, 1998).

Recent experimental studies of spike-correlated synaptic interactions in the sensorimotor cortex of awake and lightly anesthetized monkeys show that synchronous excitatory synaptic potentials are far more common than asynchronous events (Fetz et al., 2000; Matsumura et al., 1996), supporting the hypothesis that cortical neurons' activity is dominated by coincidence detection. It is interesting to note that coincident EPSPs occur both during oscillatory and non-oscillatory activity, with the number of coincident potentials increasing during oscillatory activity (Fetz et al., 2000).

3.2 Interpretation of the $L_{\Delta F/F}$ signal in terms of its neural sources

The properties of the optical LIMP signal depend on many factors, as has been shown in the precedent paragraphs; namely: the fluctuations in instantaneous rate of neural event's generation, their amplitude, their spatial distribution, the conduction velocity of the dendrite's membrane, and the shape of the synaptic events themselves; in addition to complex effects due to the interaction of different neural events. I will first try to retain here, based on physiological evidence, some important facts about the neural process that condition the $L_{\Delta F/F}$ signal waveform, rather than take into account all the complex factors involved in the cortical neural activity.

3.2.1 *Summary of basic facts and assumptions about the sources of the $L_{\Delta F/F}$ signal*

1. Action potential contribution to the $L_{\Delta F/F}$ signal is negligible. Even though many neurons within the observed volume fire, it will still be difficult to distinguish action potentials from noise because of the low SNR of the fluorescent technique, because of the too long sampling interval (0,576msec), and because of the small stained membrane's surface involved.
2. The optical signal is composed mainly by EPSPs. Thanks to the overwhelming majority of excitatory synapses over the dendritic surface, and to the amplification mechanisms, EPSPs are expected to make a big contribution to the total voltage-dependent fluorescence emission fluctuations, much more than single IPSPs. One may further assume that inhibition manifest itself mainly by a decrease in EPSPs generation probability (even if it is probably an abuse on simplification, this assumption is justified in this context because only the signal shape is of interest and no detailed model of the signal generation is needed).
3. The optical signal reflects the sum of synaptic activities of neurons situated at different layers, and different columns of the cortex. Dendritic activity from layers II, III, V, and probably IV and I, sum to produce the signal. Neurons participating to the observed activity may be located both in and out of the observed volume (e.g. apical dendrites of pyramidal cells of layer V reach the observed superficial layers so their dendrites are visible in that volume, and recurrent collaterals of stem axons of pyramidal cells in supragranular layers project horizontally reaching distant columns).
4. Synaptic activity varies between a completely random process and a highly time structured process, the optical signal may reflect a sum of both of them. Cortical neurons' modes of operation vary between two extremes depending on dendrites' integration properties: either spike coincidence detection or spike integration. Each of these extremes reflect a different mode of interaction between related populations; either

local synchrony and time-structured patterns; or unstructured, uncorrelated “noisy” activity.

5. During normal *in vivo* activity, cortical neurons work mainly in coincident detection mode. The continuous shower of spikes arriving to every synapse maintains the dendrites’ membrane potentials high, increasing their effective electrotonic lengths and putting the neurons near threshold and in coincident detection mode.
6. At any instant, at mesoscopic scales, the fraction of the synapses in the observed volume that reflect coincident afferent activity is much smaller than the fraction reflecting random afferent activity. This is assumed to be true only for signals at coarse mesoscopic scales, involving many different minicolumns (according to Freeman, uncorrelated activity accounts for more than 99% of total activity, so covariant activity accounts for less than 1% (Freeman, 1996)). For signals at fine mesoscopic scales involving single minicolumns this assumption may not hold.
7. During local synchronization activity, at coarse and fine mesoscopic scales, the neurons’ activity of a fraction of neurons in the population is tightly time-locked. The small fraction of synapses in the population involved in a synchronous neural assembly, receive either “near coincident” or uncorrelated input. This means that synchronization of synaptic activity result in a relatively weak transient signal with low time dispersion.
8. The optical signal can be separated in two different components, one reflecting local synchrony, the other reflecting uncorrelated background activity. However, these two components might not be independent. Actually, experimental and theoretical hypothesis about the independence of synchronization events and synaptic rate are contradictory (e.g., compare the theoretical basis of dependence given in: (Chawla et al., 1999), with the experimental evidence of independence found in: (Steinmetz et al., 2000)).
9. Synaptic activity integration is supposed to be done independently in each dendritic segment. No physical dependence exists among EPSPs created in different dendritic segments. Individual dendritic segments are electrotonically isolated from each other due to the non-null (*in vivo*) background synaptic activity (sleep and some kinds of anesthesia are expected to reinforce the electrotonic isolation because of the inhibition acting near to the soma).
10. The $L_{\Delta F/F}$ signal results mainly from the linear sum of individual EPSPs occurring in many dendritic segments. This follows the previous assumption. If the background activity sets the dendrites’ membrane in a state with long electrotonic lengths, then individual EPSPs are restricted to the dendritic segment where they occur and their contribution to the optical signal is proportional to their amplitudes. Nevertheless, this holds only during anesthesia; during wakefulness, NMDAR-related mechanisms, spike backpropagation EPSPs amplification, and other non-linear mechanisms may create a more complex scenario.

11. The L $\Delta F/F$ signal represents the summed activity on different points of the cortical circuitry, no cortical layer or module can be independently observed. Even if the optical instrument is focused mainly at layers II and III, neurons from other layers send their dendritic arbors to these layers. Furthermore, the EPSPs' generation probability at these dendritic arbors depends on the firing probability of presynaptic excitatory and inhibitory neurons; some of them localized on different layers, columns, cortical areas or brain structures (e.g. thalamocortical inputs).
12. Normalization of EPSPs' waveforms. Even though synaptic potentials' waveforms surely vary among individual dendritic segments, I have assumed a constant typical waveform in the analysis, neglecting EPSPs' variations. This assumption is justified for data that has been obtained under deep anesthesia and in response to short single-tone stimuli. However, this assumption is clearly invalidated if the animal is not anesthetized, because significant variations caused by complex dendritic phenomena (e.g. spike backpropagation) may occur. Moreover, it is also invalidated if more complex stimulation is used, because of frequency-dependent modifications of the synapses' responses (Tsodyks et al., 1998).
13. During deep anesthesia, the optical signal reflects mostly thalamocortical or corticocortical excitatory activity arriving to the cortex. In these circumstances cortical intrinsic excitatory activity is greatly inhibited. In particular, under barbiturate anesthesia, NMDAR-mediated activity is almost inexistent. Under these circumstances, neural activity diffusion and/or interactions among different layers or columns are greatly restricted.

3.2.2 *Theoretical analysis of the optical signal under anesthesia*

In a first approximation one may assume that the ideal (noise free) L $\Delta F/F$ signal, that represents the evolution of the total instantaneous synaptic activity $s(t)$, results from many distributed point process $\{t_i\}_n$, each one representing the activation process of one synaptic channel in response to one input spike train. Each single binary pulse train is convoluted with a typical synaptic response waveform, resulting in a continuous PSP waveform that is then lowpass filtered by the dendritic membrane (electrical filtering during the propagation of pulses to the soma). Finally, each fluorescent dye molecule produces an analog fluorescent signal that is low-pass filtered by the optical instrument and scattered by both the biological tissue and the air before arriving to the optical instrument.

Thus, $s(t)$ may be represented by a simple linear combination of prototypical random EPSPs and averaged synchronous excitatory postsynaptic potentials (ASEP) waveforms, translated, and filtered (ASEPs reflect coincident synaptic events; a more detailed description is given in section 3.3.3). Nevertheless, complex phenomena (e.g., NMDA dendritic spikes, slow depolarizations and hyperpolarizations, synaptic depression, etc.) may turn this picture to a much more complex one.

In the simplest case of cortical activity under anesthesia, during both background ongoing activity and evoked activity in response to simple short single-tone stimuli, one may safely assume that only non-NMDAR-mediated EPSPs, of thalamocortical or corticocortical origin, may occur; and that complex phenomena is negligible (see section 3.1.3.8). Under these circumstances the input point process may be modeled by a stochastic poisson process (Abeles et al., 1993b), and the synaptic response by a single prototypical EPSP (ASEPs result from the sum of almost coincident non-NMDAR-mediated EPSPs, see section 3.3.3).

The more complex case of lightly anesthetized or awake animals, and complex stimuli, is much more difficult to analyze. In addition, given that our data has been gathered from deep anesthetized animals I have restricted the analysis to the simple case.

3.2.2.1 *The EPSP as the basic $L_{\Delta F/F}$ signal synthesis element*

Under deep anesthesia, the (noise free) $L_{\Delta F/F}$ signal may be assumed to be composed almost exclusively of non-NMDAR-mediated excitatory synaptic activity (see sections 3.1.3.6 and 3.1.3.8). The amplitude of (*in vivo*) non-NMDAR-mediated EPSPs on cortical pyramidal neurons is typically very small (< 1 mV), just a small fraction of the driving force $(V_{m(\text{syn})} - V_{\text{rest}})/(E_{\text{syn}} - V_{\text{rest}}) < 10\%$; therefore, these rapid non-NMDAR-mediated synapses work almost as current sources; that is, excitatory postsynaptic currents (EPSCs) are almost proportional to conductance changes and their amplitudes are independent of the distance to the soma (see section 3.1.6.2). In contrast, the rapid EPSPs are strongly attenuated (see Figure 3-6-D), such that the synaptic potential propagation may be effectively restricted to a very small neighborhood of the synapse (see section 3.1.6.1 and 3.1.6.3).

Therefore, the assumption of an integrated non-NMDAR-mediated EPSP as the basic $L_{\Delta F/F}$ synthesis function (under anesthesia) has some sense. Because integration may be effectively restricted to a very small neighborhood of the synapse, one may assume that the propagation of each synaptic event is restricted to the area of a single photodiode, if the size of the photodiode is similar to the electrotonic length constant of the dendrite.

It can be seen in Figure 3-6-D that a single (theoretical) EPSP occurring at the distal end of a dendrite will have only 20% of its amplitude at $x = \lambda$ and less than 8% at $x = 2\lambda$. For typical *in vivo* dendrite parameters $\lambda \approx 350 \mu\text{m}$, this value is very similar to the size of the cortical region observed by a single photodetector in typical optical imaging experiments (250 – 350 μm). Observed amplitudes of single EPSPs in response to subcortical electrical stimulation may be higher than 1mV (intracellular; 100 μV extracellular) (Hsieh et al., 2000; Metherate, 1998; Metherate & Cruikshank, 1999). Nevertheless, *in vivo* intracellular recordings of somatic EPSPs show amplitudes of the order of 100 μV , this is the expected attenuated amplitude of EPSPs occurring far ($x \sim \lambda$) from the soma (compare Figure 3-6-B and Figure 3-6-D). Finally, typical durations of AMPA EPSPs in the auditory cortex are of the order of 10 milliseconds, as can be seen in Figure 3-6-A.

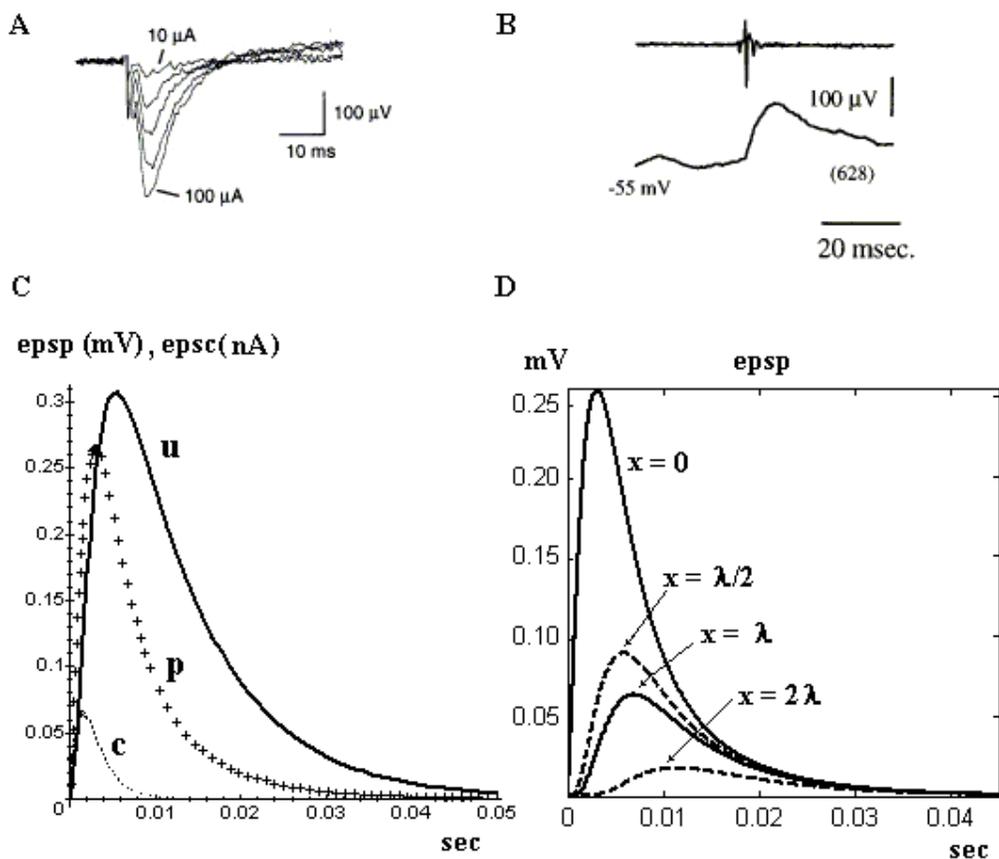


Figure 3-6. A: Extracellular potential recording at cortical layer IV of the rat auditory cortex (in-vitro slice) in response to a transient subcortical electrical stimuli (0.1-0.2 msec), at different intensities of stimulation. (Copied from (Metherate & Cruikshank, 1999)). **B:** Intracellular recording of somatic EPSP in a layer V pyramidal neuron in response to a triggering spike in a neighboring neuron ($\sim 0.5\text{mm}$ in the tangential direction) (estimated by spike-triggered averaging); recorded from the anesthetized monkey's motor cortex (Adapted from (Matsumura et al., 1996)). **C:** Theoretical *in vivo* dendrite's response to a single synaptic activation at the distal tip of the dendrite (at $x=0$, semi-infinite cable model). The EPSC ($c(t)$), and the corresponding (non-NMDAR-mediated) EPSP ($p(t)$) calculated with typical *in vivo* synaptic and membrane parameters: $\rho_a = 200 \Omega\text{cm}$, $\kappa_m = 1 \mu\text{F}/\text{cm}^2$, $\rho_m(\text{effective}) = 10 \text{K}\Omega\text{cm}^2$ (at $f \sim 1\text{Hz}$), $D = 1 \mu\text{m}$, $g_{\text{syn}} = 1\text{nS}$, $\tau_{\text{syn}} = 1.5 \text{msec}$, $V_{\text{rest}} = -64 \text{mV}$ ($\lambda = 0.354 \text{mm}$, $\tau_m = 10\text{msec}$). The space-integrated EPSP is also shown ($u(t)$). **D:** The same theoretical EPSP measured at $x = 0$, $x = \lambda/2$, and $x = \lambda$, showing the attenuation suffered by the potential fluctuation along the dendrite.

Then, let us define $e_s(t)$ as the prototype of each (space-integrated) EPSPs in each synapse. This $e_s(t)$ can be roughly modeled as a low-pass filtered version of the synaptic conductance impulse response ($c_s(t)$), which can be modeled by an alpha function (Bernander et al., 1991). The (passive) low-pass filter $h_s(t)$ include the temporal filter equivalent to the spatial integration of

spatiotemporal dendrite's response and the filtering of the $L_{\Delta F/F}$ fluctuation as it crosses the tissue and arrives to the photodetector (here it is assumed that the membrane electrical filtering is much higher than optical filtering of the fluorescence signal).

$$e_s(t) = (h_s(\bullet) * c_s(\bullet))(t) \quad \text{Equation 3-1}$$

Where,

$$c_s(t) = c_{max}(e/\tau_{syn}) te^{-t/\tau_{syn}} \hat{H}(t)$$

and,

$$h_s(t) = (K/\tau_m) e^{-t/\tau_m} \hat{H}(t)$$

where $\hat{H}(t)$ is the heaviside function.

Typical waveforms of $c_s(t)$ and $e_s(t)$, calculated with typical membrane parameters during normal background synaptic activity, are shown in Figure 3-6; along with experimentally observed synaptic responses to presynaptic spikes. One can readily see that the filtering introduces some symmetry to the EPSP function, at the expense of a non negligible delay.

3.2.2.2 The $L_{\Delta F/F}$ signal as a spike intensity estimator

If one assumes a low variability of the EPSPs amplitudes and lengths, one may think of the optical signal as a filtered instantaneous estimate of the underlying presynaptic spiking instantaneous rate (intensity). Because of the high number of synapses in cortical pyramidal neurons' dendrites, the total spiking rate computed over the volume observed by one photodetector may be relatively high, even at low background activity. Stochastic afferent spiking activity at low rates (1 Hz) arriving at a single dendrite arbor with 4000 synapses represents an effective 4 kHz rate signal when observed at a mesoscopic scale; therefore, the time interval between arriving spikes may be much shorter than the typical EPSPs length, and the basic EPSPs waveform may be seen as the impulse response of the rate estimator.

Let us define $S_p = \{s_n\}$ (with $n = 1, 2, \dots, N$) as the set of synapses contained in the volume observed by the p^{th} photodetector (V_p) where the total number of synapses (N) is supposed to be high and constant (e.g., $N > 10^7$ for a photodetector of $(250 \mu\text{m} \times 250 \mu\text{m})$, observing a volume of depth $200 \mu\text{m}$, in a small rodent brain cortex (10^9 synapses/ mm^3)).

Let us define the sequence $\{ti\}_n$ as the sequence of spikes arriving at each synapse in the observed volume V_p . In a first approximation, we may assume that S_p is constituted only by excitatory synapses; or more precisely that only EPSPs are observable. We may assume that IPSPs don't generate direct measurable fluorescence fluctuations because of their low number and that they are localized mainly near or in the neuron's soma, contrary to excitatory synapses

that populate dendrites' spines. Nevertheless, presynaptic inhibition is included implicitly in the statistical properties of $\{ti\}_n$.

It must be noted that presynaptic neurons may or may not be contained in V_p , and some neurons contained in V_p may be have simultaneously presynaptic and postsynaptic roles in the circuits involved in the generation of the spiking signal.

At any time a fraction $(N-N_I(t))$ of the N synapses is randomly activated by uncorrelated sequences $\{ti\}_n$, each one independently of any other in the same volume. At the same instant the other $N_I(t)$ synapses are transiently co-activated and participate to the activity of a single synchronous neural assembly.

Nevertheless, because of the strong GABAergic inhibition occurring under deep anesthesia conditions, we assume that the fraction $N_I(t)$ is negligible. Under these conditions, NMDAR-mediated activity is strongly inhibited, preventing any synchronization that will otherwise be facilitated by the activity of this receptor (see Section 3.1.3.8). Furthermore, intracolumnar feedback and oscillations are suppressed, synaptic information transmission (spike rate => PSPs waveform) and somatic information transmission (PSPs waveform => spike rate) are linear, and neurons populations' gains are very low (Freeman & Jakubith, 1993).

Assuming that the observed neural tissue consist of a homogeneous population of neurons, all receiving the same information coded in the presynaptic spike arrival rate, then the single-site $L_{\Delta F/F}$ signal (if we neglect noise and artifacts) may be readily interpreted in terms of this arriving neuronal firing rate:

1. Single EPSPs occurring in different dendritic segments are independent and generated by a non-homogeneous random Poisson process with intensity function $\lambda_n(t)$ in each synapse.
2. EPSPs occurring at each isolated dendritic segment sum linearly within that segment, and the resulting fluorescence fluctuations generated at each segment sum linearly at the photodetector to create the $L_{\Delta F/F}$ signal. Then, the resulting signal is a linear superposition of non-homogeneous Poisson process, which is itself a Poisson process with intensity $N\lambda(t)$ (Assuming equal intensity functions $\lambda_n(t) = \lambda(t)$ for every synapse).
3. If we look at the resulting superposed process, in a given interval $[0, T]$, we have a total of M_T EPSPs occurrences, and the expected value of M_T is:

$$E[M_T] = A(T) = \int_0^T N \lambda(u) du = N \int_0^T \lambda(u) du,$$

and the instants of occurrences of EPSPs are all equally distributed as a sample of density: $g(t) = N\lambda(t)/A(T)$, in the interval $[0, T]$.

4. Let us use the prototype of each EPSPs in each synapse ($e_n(t)$) defined in Equation 3-1 as the filtering kernel:

$$e_n(t) = (h_n(\bullet) * c_n(\bullet))(t),$$

5. Then, the optical signal observed in the interval $[0, T]$ can be expressed as:

$$s(t) = \sum_{n=1}^N \int_0^T e_n(u-t) \sum_{i=1}^{M_n} \delta(u-t_{(n)i}) du = \sum_{n=1}^N \sum_{i=1}^{M_n} e_n(t-t_{(n)i}),$$

where the instants of occurrences of EPSPs in each synapse $\{t_{(n)1}, t_{(n)2}, \dots, t_{(n)M_n}\}$, and where M_n is the total number of EPSPs in the n^{th} synapse.

Furthermore, if we suppose that e_n is very similar for all synapses, we may define a mean synaptic response ($e(t)$) and simplify to get:

$$s(t) \approx \sum_{i=1}^{M_T} e(t-t_i)$$

Because N is very large ($N > 10^7$) and the typical spike rate arriving at each synapse in the cortex varies between 1 Hz and more than 25 Hz, we may approximate $s(t)$ by its mean waveform that is given by:

$$E[s(t)] = \sum_{m=1}^{\infty} E\left[\sum_{i=1}^m e(t-t_i) \mid M_T = m\right] P(M_T = m),$$

Hence:

$$s(t) \approx E[s(t)] = \sum_{m=1}^{\infty} m P(M_T = m) \int_{u=0}^t e(t-u) g(u) du = \Lambda(T) \int_{u=0}^t e(t-u) N \lambda(u) / \Lambda(T) du ,$$

$$\Rightarrow s(t) \approx N \int_{u=0}^t e(t-u) \lambda(u) du$$

Equation 3-2

- Then, in a first approximation, the optical signal under anesthesia conditions can be understood as a population spike intensity estimator (with a constant of proportionality). One can readily see that each dendrite is estimating the arriving spike rate using a “kernel” $e_n(t)$, and that the observed signal is the ensemble mean value of all the estimations done through the dendritic arbors of the local population of neurons. The shape of the kernel being the shape of the prototypical EPSP integrated as it propagates along the dendrite, and the resolution would be given approximately by:

$$\sigma = \sqrt{\int_{-\infty}^{\infty} t^2 e(t) dt - [\int_{-\infty}^{\infty} t e(t) dt]^2}$$

Where $e(t)$ is the typical non-NMDAR-mediated (space-integrated) EPSPs waveform.

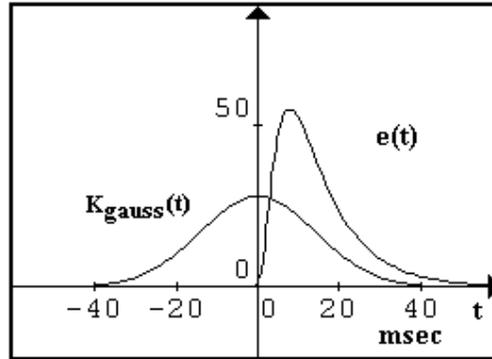


Figure 3-7. The prototypical EPSP waveform ($e(t)$) is shown, along with a gaussian kernel of equivalent resolution ($\sigma = 14.2$ msec).

For typical *in vivo* membrane's parameters, under low background synaptic activity ($\tau_m = 7$ msec, $\tau_s = 2.5$ msec), $\sigma \approx 14$ msec. As can be seen in Figure 3-7, the EPSP is asymmetric; the estimation filter is causal and introduces a significant delay ($\tau_d(e_{\text{peak}}) \approx 10$ msec). Nevertheless, since the spiking rate increases during stimulation, the effective membrane resistance is expected to diminish; in this case, the estimation resolution may increase, and the estimation delay may diminish correspondingly.

Therefore, the optical signal (under anesthesia) may effectively reflect the afferent presynaptic spiking intensity arriving to the volume observed by the photodetector, within a single trial, and with a relatively high resolution (in a similar fashion as the kernel rate estimation technique proposed by Nawrot et al. (Nawrot et al., 1999)). In addition, an adaptive kernel resolution property may exist, because an increase in spiking activity increases the resolution of the estimator.

This result is highly compatible with Tsodyks' and Arieli's experimental observation in anesthetized cats (Tsodyks et al., 1999); in that average $L_{\Delta F/F}$ signal fluctuations seem to be simply related to changes in the firing rate of postsynaptic neurons.

Finally, I want to stress that no complex synaptic properties have been taken into account. In particular synaptic depression, that has been proposed as an important mechanism to dynamically modify the synaptic function (Tsodyks et al., 1998), and which has been proposed to be the underlying mechanism setting important properties of auditory information processing (Denham, 2001). A future study must take into account this synaptic depression phenomenon, as well as more complex properties of the dendrites and the more complex case of non-anesthetized cortical activity.

3.2.3 Single-site L_{ΔF/F} signal expected properties

Based on the previous study, we may list the following expected properties of the noiseless L_{ΔF/F} signal waveform (under anesthesia), before sampling.

1. Continuity: The basic synthesis element, the (space-integrated) EPSPs, is a continuous function of time (Figure 3-6); therefore, the optical LIMP waveform is expected to be a continuous function of time too.

2. Global regularity: The noiseless L_{ΔF/F} signal ($s(t)$), as modeled by Equation 3-2, is *a priori* a non-smooth function (in the classical sense of the smoothness concept). The global regularity of $s(t)$ can be characterized by the decay of the magnitude of its Fourier transform ($|S(w)|$) as $w \rightarrow \infty$, if there exist a constant K and $\varepsilon > 0$ such that $|S(w)| \leq K/(1+|w|^{p+\varepsilon})$ then the signal is bounded and p times continuously differentiable (Mallat, 1999). Since we modeled the basic synthesis element $e(t)$ of $s(t)$ with an α function, whose first derivative is discontinuous at $t = 0$ and whose Fourier transform decays only as $|w|^{-2}$ when $w \rightarrow \infty$, then $s(t)$ is *a priori* not continuously differentiable for any $p \geq 1$ (i.e. it is not globally regular). In addition, since the intensity of the underlying spiking process is expected to vary, the signal is expected to show non-uniformly distributed singularities.

2. Local regularity: The L_{ΔF/F} signal is supposed to reflect the underlying spiking process. Since this spiking process is supposed to be stochastic, and since important coincidence events involving many neurons are supposed to occur, $s(t)$ is expected to show important time-localized variations, as well as more scattered weak fluctuations. The characterization of the local regularity of the signal at any point or interval depends on the time distribution of singularities; isolated singularities can be characterized by Lipschitz exponents or by the asymptotic decay of its wavelet transform (Mallat, 1999), while non-isolated singularities can be characterized by the wavelet singularity spectrum. The wavelet transform $W_s(a,b)$ of the L_{ΔF/F} signal is therefore expected to show local maxima lines decaying slowly as $a \rightarrow \infty$ and converging to the time-localization of important variations.

3. Randomness: The stochastic nature of the spiking process arriving at each synapse together with the existence of a singularity on the basic synthesis element $e(t)$ at $t = 0$, imply that the time distribution of singularities on $s(t)$ is stochastic too. In addition, the amplitude and length of each EPSP waveform measured by the photodetector are random variables in real signals, adding more randomness to the signal instantaneous value. The signal $s(t)$ could thus be represented by a complex stochastic process. However, the high variance of the noise introduced by the voltage-dependent fluorescence measurement is expected to outweigh most of this variability.

4. Spike rate dependence: The time evolutions of the amplitude and regularity of $s(t)$ reflect the evolution of the instantaneous rate of arriving spikes, as it has been already pointed out. Therefore, it would be possible to study the properties of the underlying spiking process by

means of the signal amplitude and regularity. Nevertheless, the high measurement noise level is expected to limit this possibility. In this case, only strong well localized variations and the amplitude drift are of interest.

5. Local Fluctuations related to coincidence events: Near-coincident synaptic events may be observable as local signal fluctuations over noise levels during *in vivo* $L_{\Delta F/F}$ measurements. The properties of these local fluctuations may be related to the underlying neural process, and therefore, they may contain important information about physiological and cognitive events (However, one may take into account the fact that deep anesthesia may prevent these events to occur).

6. Positivity: Because the $L_{\Delta F/F}$ signal is an intensity estimator reflecting mostly excitatory activity, it is expected to be a positive signal.

3.3 Characterizing the Single-Site Cortical Activity

Bearing in mind that the final objective of this study was the analysis and characterization of the *spatiotemporal* activity of the auditory cortex during sound stimuli perception, and in particular that it was of major interest to describe and characterize the functional interactions between cortical sites during the auditory perception process, it was important to define a conceptual framework for the characterization of the cortical activity at a single recording site.

Many stochastic spatiotemporal models used to represent biological populations (neuron populations in this case) are based on a lattice structure, which describes the spatial organization of the individuals composing the population or the spatial discretization of a measurement process over the population (e.g., (Bascompte, 2001; Hiebeler, 1997)). In these models, a simple binary state description for each site on the lattice is frequently used (i.e. in our case a site will be either active or inactive); and independence between sites is usually assumed (so that the activity at any site is *a priori* independent of the activity of any other site). This simple description allows the use of relatively well-known spatial statistical methods (see Durrett, (1999)). This is the kind of models usually proposed to analyze neural data observed at microscopic scales (this will be developed in section 6.3), where the spike activity carries the information. Some other spatiotemporal models have been proposed for the analysis of real valued process (Stroud et al., 1999; Wikle et al., 1998). The real quantity measured at each site usually reflects spatial averaging occurring at each site when data is obtained at a macroscopic scale (such as EEG or MEG data), or time averaging occurring on data obtained at microscopic scales (e.g., intracellular recordings of the membrane potential are real valued, reflecting incoming spike train activity filtered by the dendrites).

However, our problem is to describe and analyze neural data that is neither at microscopic nor at macroscopic scales, but at *mesoscopic* scales ($\sim 250\mu\text{m}$), involving some thousands neurons per site (the scale of observation may eventually go as fine as $50\mu\text{m}$ with new measuring techniques, involving only a hundred neurons or less (Shoham et al., 1999)). In addition, we

don't observe binary spike trains, but averaged dendrites' membrane potential fluctuations in response to them. Therefore, one may characterize the signal at each site by its real valued amplitude or a real valued function of it. Nevertheless, we may still want to define a binary activity because of multiple reasons, of which we can list at least three. First, since we may be able to use relatively simple statistical spatiotemporal models to describe the activity data. Second, because we are observing the neural process at scales where local collective behaviour (related to the neural information processing activity) may be seen, and this local collective behaviour might be summarized by a binary variable. Third, because of the nonlinear transfer function of local neuron populations (i.e. the sigmoid or hard threshold function) that may limit the useful information to "high" or "low" rates (under some experimental conditions).

Therefore, we may define different kinds of local activity at a site, depending on our aims in the modeling.

We may raise the following questions about this problem:

1. When we measure a local value $z_k(t)$ at site k at specific time t , what does this value means in terms of the functional state of the neuron population at that site ?
2. How can we define the notion of "activity" for a single site at this scale and with this kind of measure; i.e. what does it mean when we say that a cortical site have a specific value of "activity"?
3. How can we extract the information contained in a single-site optical LIMP signal about the activity of the underlying neurons, and label any significant feature related to it, so that the resulting representation describes the functional process occurring at that site adequately and with parsimony?
4. Is this notion of "activity" unique in this context, or are there different kinds of "activities"?

When studying the neural activity at the microscopic scale, with single unit electrode recordings, the answer to the first question is not difficult: the signal is either near rest, meaning that the observed neuron is inactive, or the signal is transitorily high during one spike, meaning the neuron is momentarily active. One may define the activity in many ways. For instance, one may define an instantaneous spiking activity, where a site is either active or inactive at a given instant (1 if there's a spike at time t , 0 if not). In this case the information is easily retrieved with a simple threshold detector; the description can be done simply by specifying the series of instants of occurrence of each spike ($\{t_j\}$) and the characterization of the evoked response will typically be done by studying the conditional probability of the spike train given the stimulus ($P[\{t_j\}|u(t)]$) (Rieke, 1997). Alternatively, we may define a mean activity estimated from the number of spikes occurring during some finite time window where the neuron is supposed to have a stationary spiking activity, and from this we may define a binary mean activity using a

threshold. This is the way activity is defined in the Hopfield model (Hopfield, 1982) (i.e. the activity of a neuron is 0 if the neuron firing at low rate, and it is 1 if it fires at a high rate). Finally, we may define a continuous activity at a single site based on the time evolution of the probability of occurrence of an action potential at that site. *Therefore, in this case, the answer to the last question is negative*, we can choose a definition of activity depending on practical issues.

When studying neural population data obtained with fluorescent dyes or with LFP electrodes, we want to obtain a suitable single-site activity representation ($a_k(t)$) that resume the information contained in the data $z_k(t)$ collected at detector k , and that describes as precisely as possible what is happening at that site:

$$a_k(t) = \phi(z_k(t), t)$$

Doing this for each recording site results in a spatiotemporal description for the neural activity²:

$$A(t) = \{a_k(t)\}_{k \in \{1, \dots, N\}},$$

where N is the number of photodetectors. This representation is supposed to describe the collective behavior of the cortical area under study during a cognitive or perceptual process. However, it can be too redundant (e.g., 144 variables for our data) and difficult to interpret. A proper spatiotemporal modeling that summarizes the information contained in $A(t)$ in a small number of variables ($\Theta(t)$) can provide a better framework to study this collective behavior; this problem will be addressed in chapter 6. The spatiotemporal response of the cortex to stimuli could then be described by the conditional probability, with respect to stimuli, either of the original multisite activity representation ($P(A(t)|u(t))$) or of the reduced variable representation ($P(\Theta(t)|(a(t)))$).

However, in this case the answer to the first three questions, and the choice of the single site activity representation ($a_k(t)$) are not so easy as in the single unit case. One must first try to understand what kind of information about the neural function represents the process $z_k(t)$, in order to define a suitable activity representation. The characterization of the optical signal at one site may be done in many different ways, on the specific cortical area under study, on the spatial scale (the size of the area observed by each detector), and at different levels depending on the final aim of the analysis. Hence, the notion of activity in $L_{\Delta}F/F$ signals may have different meanings, so the answer to the last question in this case is “no”, there’s no unique definition of activity.

Here we are studying the cortical electrical activity measured on a region of the cortex at a mesoscopic scale, at multiple sites with a discrete bidimensional grid of detectors, with

² Here we assume that the cortical activity observed at one photodetector at site k is restricted to a local cortical area centered on that site and that there’s no overlapping between the areas observed by neighboring photodetectors; so that each site is separately processed. This hypothesis is of course not true for these kind of signals, because the regions observed by any two neighboring photodetectors surely overlap each other; first, because of light scattering; and second, because the observed neurological substrate at these scale and for this kind of measure, presents an intrinsic physical dispersion (see section 3.1.3.1).

fluorescent dyes. The recorded $L_{\Delta F/F}$ signals provide information about the sum of synaptic activities on the dendrites of the neurons in the population, rather than action potentials.

In this case one may define a concept of activity similar to the ones defined for single unit recordings. For instance, we may define the activity of a site using a threshold function: either the site is active, or it is not, depending on the amplitude of the $L_{\Delta F/F}$ signal (this was the approach used in: (Francois et al., 2000a; Francois et al., 2000b; Litaudon et al., 1997)). But in that case, how must we choose the threshold, and what does this activity measure mean in terms of the physiological process under study? It may not be easy to understand what the concept of activity defined in this manner represents in terms of the neural physiology and of the information processing occurring in the cortex.

On the contrary, we may define a continuous range of activity, where ϕ is simply the identity function, or a normalization function, for example. Nevertheless this is all but parsimonious. Moreover, none of these “low level” definitions of activity takes into account the signal details or its temporal correlations, which may carry important information about the physiological process.

A more precise definition of activity must take into account the interpretation of the optical signal in terms of its microscopic sources (see section 3.1 and section 3.2), so that the resulting representation of the cortical activity effectively resumes and describes the functional process going on at that site. One can expect to obtain at least two different kinds of information about the state of the cortical tissue from the optical signal, either information about the local average synaptic activation rate, or information about local synchronous neural assembly activity (see section 3.2). Assuming that the occurrence of an important cognitive event at any instant is signaled by a significant synchronous synaptic event, the neural population activity at the “high” level (i.e. cognitive or perceptive level) can be defined by the occurrence of a single rapid localized fluctuation, or by a fast oscillatory event. The detection and characterization of these hypothetical perception-related synaptic events may let us characterize and study the perception process itself (even without any knowledge of the corresponding action potential activity). That is, even if one doesn’t know exactly what the neurons’ “orchestra” is playing, one may at least guess the rhythm and detect instants of synchrony that reveal if they play “neural music” or simply uncorrelated “noise”.

We will develop these different ways to characterize the data in section 3.3.1.

Finally, the extraction of the information contained in the signal is not necessarily as easy as in the case of single unit recordings, and one may need to develop a specific methodology to do it. This will be discussed in chapter 5.

3.3.1 Synaptic rate and cortical activity characterization

The most simple and obvious definition of mesoscopic cortical activity in the context of $L_{\Delta F/F}$ signals is based on the assumption that the level of activity at one recording site is a function of the mean synaptic activation rate on the observed region. As optical signal fluctuations directly reflect excitatory synaptic activity, while inhibitory synaptic activity is less directly detectable, one may assume that the level of mesoscopic cortical activity is a positive measure reflecting only the average synaptic excitatory activity that “survives” inhibition (see section 3.2.1). Even if there’s no manner to distinguish the two synaptic activities in the optical signal, inhibition plays an important role in shaping the $L_{\Delta F/F}$ waveform (see sections 3.1.3.8 and 3.2.2). Here we suppose that an important inhibition exists because of anesthesia.

3.3.1.1 Binary state-space characterization

One of the simplest and more compact ways in which one may characterize the single-site $L_{\Delta F/F}$ signal is by the use of a nonlinear decision operator $\phi: \mathbb{R} \rightarrow \{0, 1\}$, that is function of the instantaneous signal value $s(t)$, and that takes values in a binary state-space; each observed data in a given site is assigned to one of two levels of activity (i.e. the site is either active or inactive at one instant). For instance, a cortical site may be labeled as active when synaptic rate increases over a fixed threshold and inactive below that threshold. The activity at one site is thus defined as:

$$a_k(t) = \phi(s_k(t), \theta),$$

where $\phi(\sigma, \theta) = \{ 1 \text{ if } \sigma \geq \theta; 0 \text{ if } \sigma < \theta \}$, and θ is the threshold. In the simplest case, when the stimulus is a single tone-burst, the site is simply characterized by the activity onset time (t_i), and by the duration of the activity episodes (T).

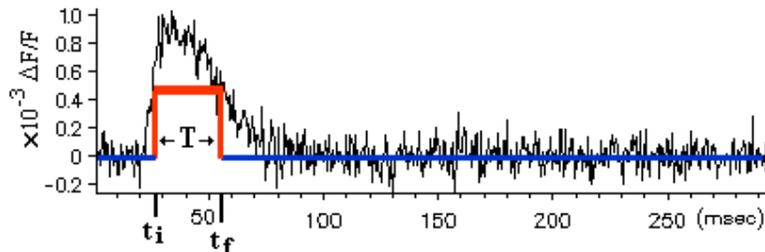


Figure 3-8. Binary state space characterization of the $L_{\Delta F/F}$ signal. Hypothetical cortical response to simple stimuli (single tone convolved with a finite length window lasting some few milliseconds). The parameters characterizing the activity are the start instant (t_i) and the duration of the activity episode ($T = t_f - t_i$).

The use of a binary state-space makes easier the spatiotemporal description and analysis of the data (see section 6.2). However, the definition of the cortical activity in this manner raises some questions:

1. How can the threshold be defined?
2. Is this a valid definition of cortical activity for real signals?
3. Does it adequately represent the underlying neural process?
4. How to implement it in real signals?

Definition of the threshold:

First let us study some simple ways to define the threshold. For instance, one may define the threshold as a function of the noise variance. If the signal is bigger than $\theta = k \cdot \sigma$, where σ is the noise variance and $k > 0$, one may decide that the site is active. This threshold definition doesn't need any other knowledge about the signal than its instantaneous amplitude, and doesn't need any knowledge of the cortical tissue properties. Nevertheless, this threshold may vary from signal to signal, under the same experimental conditions, and it doesn't have much sense from a physiological or functional point of view. In addition, it doesn't have much sense if we are simultaneously trying to denoise the signal (chapter 5).

Another possibility is to estimate the maximum expected value of the optical signal (s_{\max}) and define a threshold $\theta = k \cdot s_{\max}$, where $k < 0$. This threshold may have more sense from a physiological point of view (higher signal values are related to higher spike rates). However, it doesn't have much sense from a functional point of view if we don't know what the instantaneous value of spike intensity means in terms of the neural population function. In addition, we don't know how to find the constant k .

Supposing that each photodetector observes a single neural population (i.e. a neural mass as defined in (Freeman, 1972)), and depending on the dynamic properties of the neural populations under observation, one may, in principle, find a more suitable threshold to decide whether the neural population is active or not. In the following paragraphs we propose a methodology to define the threshold based on the theoretical transfer function of a neural population:

Each cortical site becomes active in response to innovation in the form of action potentials arriving to the synapses at that site and to synapses in the neighborhood (because local neurons send their dendrites tangentially to the neighborhood). This increase in synaptic activity produces at its turn an increase in action potential rate at the local neurons, which will propagate to other sites. If one assumes a random input activity to the population observed at one site, one may define a transfer function given by the conditional probability density (probability of firing conditional on probability of arriving spikes) that describes the neural process (Rieke, 1997). The form of this transfer function may be used to decide when the population is active with respect to the afferent spike probability density.

Freeman has shown that the transfer functions of some neural populations (e.g. olfactory bulb and olfactory cortex) are well fitted by a sigmoid function, whose gain depends on the state of awareness and motivation of the animal and on the neural population under study (Freeman, 1979b) (see Figure 3-9-A). One may expect that the same basic sigmoid shape holds for the transfer function of the observed neural populations in the auditory cortex; however, I haven't seen any experimental evidence of this in the literature.

If the transfer function ($\psi(i)$; where I is the intensity of the afferent spiking process) has indeed a sigmoid shape, and if its maximum gain value (g_{max}) is known or can be estimated, then one may define a suitable threshold (θ) that depends on the point of maximum gain of that transfer function (g_{max}) (see Figure 3-9-B). This threshold defines a binary activity: the site becomes active when the input spiking intensity is enough to saturate the output, propagating the information successfully to other neural populations, and is inactive otherwise. Because g_{max} depends on the awareness state (a), the threshold varies accordingly.

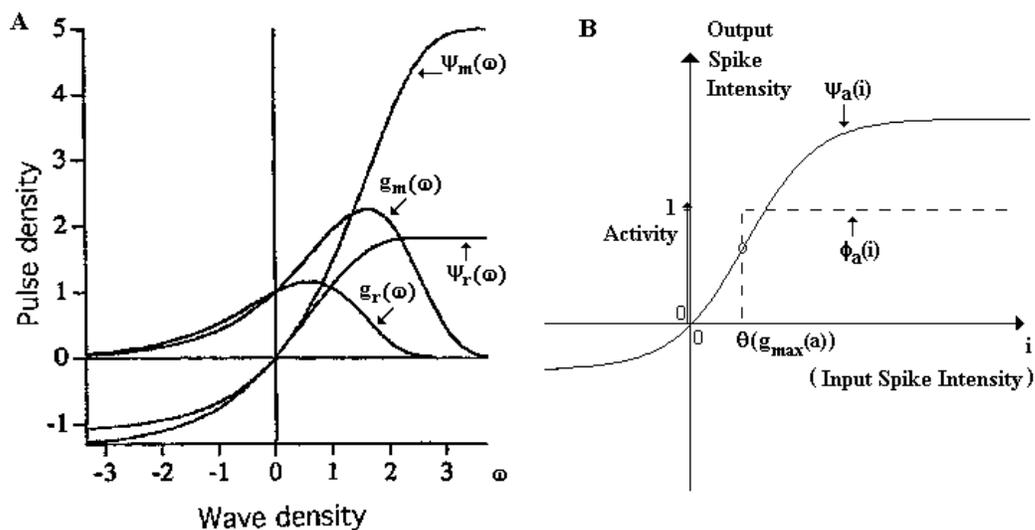


Figure 3-9. **A:** Neural population transfer function (i.e. output spike intensity/(mean rate) conditional on the EEG wave amplitude density (ω), see details in (Freeman, 1972)) for two different awareness states: motivated ($\psi_m(\omega)$) and rest ($\psi_r(\omega)$). The nonlinear gains for both states are also shown ($g_m(\omega)$ and $g_r(\omega)$, respectively). Figure adapted from (Freeman, 2000a). **B:** Proposed method of threshold estimation for the binary activity characterization operator (ϕ) of a LIMP signal. A hypothetical transfer function (i.e. output spike intensity conditional on input spike intensity (i)) of a cortical neural population is shown ($\psi_a(i)$) (for a given awareness state a). The instantaneous LIMP signal $s(t)$ measured from a cortical neural population localized in a given site is supposed to be linearly related to the input spike intensity $i(t)$ on the same site ($s(t) \approx f(i(t))$); where f is a linear low-pass filter). In addition, we suppose that the maximum value of the nonlinear gain of $\psi_a(i)$ is known or can be estimated ($g_{max}(a)$). Then one may define a threshold θ , that depends on $g_{max}(a)$ such that: if the instantaneous value of the LIMP signal surpasses $\theta(g_{max}(a))$ then $\phi_a(i) = 1$ (the observed cortical site is active), and $\phi_a(i) = 0$ (inactive) in any other case. See text for other details.

Implementation

The first simple definitions of the threshold are easily implemented. We have used the simplest of them ($\theta = 3*\sigma$) in the spatiotemporal analysis presented in section 6.4.2.1.

With respect to the estimation of the transfer function, and of the related threshold, a similar methodology as the one presented in (Freeman, 1972) can be used. However, in this case we need to have at least two different measures obtained with different techniques. That is, one must be able to record simultaneously the optical signal and the output spiking activities of the neural populations under observation. In addition, the optical signal may reflect many different afferent spike processes arriving to different neural populations (see section 3.1.3.1), and we may eventually need to measure the spiking activity of these neural populations. Since we didn't have the possibility to do this kind of measures, we couldn't use this approach.

Validity of the binary activity characterization to represent the cortical activity (questions 2 and 3):

First of all, let's study the validity of the binary activity characterization for the simple experimental conditions used in our experiments; that is, for anesthetized animals and for simple stimuli (pure tone bursts). In this case, the spike intensity arriving to one cortical site is supposed to vary as a simple fast monophasic function (see section 5.2.4). The binary characterization would indicate the occurrences of this transient increase on spike intensity, and the duration would be related to the time-dispersion of the arriving spikes. Therefore, one might assume that characterizing the multisite signal in this manner would be valid in this simple case. However, it must be stressed that what is really being observed under these experimental conditions is the afferent spike process, blurred through the synapses' filtering. Moreover, under deep anesthesia the transfer function is almost linear, and its gain approaches zero. Therefore, the $L_{\Delta F/F}$ signal, under these experimental conditions, may represent the subcortical activity rather than the cortical activity (see section 5.2.4).

For slightly more complex stimuli, such as sequential tone bursts of the same frequency of different frequencies or with FM stimuli and with the same experimental conditions, the same remark applies. For instance, a known feature of the $L_{\Delta F/F}$ signals observed on the auditory cortex, in response to this kind of stimuli, is the two tone inhibition or "busy line" property in response to repetitive stimuli (Horikawa et al., 1997). A measuring site that has been activated with a single tone will be inhibited to respond to a second tone of the same during some time; the duration of which will be set by the frequencies of the two tones and the time delay between them. This is also true for $L_{\Delta F/F}$ signals observed in response to FM stimuli which are subject to the same phenomena (Horikawa et al., 1998). However, this phenomenon is already observed in the subcortical pathway (e.g., (Ziemann et al., 1992)). In this case, the binary activity paradigm can be used to characterize this phenomenon, but one must take into account that this is more probably a characterization of the subcortical process, instead of the intrinsic cortical activity.

For signals coming from the non-anesthetized auditory cortex, the signal carries information about the cortical process itself, yet the validity of this approach is not clear; neither is the definition and estimation of the threshold an easy task. Actually, the use of a threshold based on the neural population transfer function has sense only when the animal is not anesthetized because the gain of the population transfer function goes to zero in anesthetized animals (Freeman, 1979b). However, the non-anesthetized auditory cortex shows a complex response (involving fast AMPAR-mediated EPSPs and slow, intense, long lasting NMDAR-mediated EPSPs) that don't conform necessarily to the theory developed by Freeman for the transfer function of the olfactory bulb neural populations. A detailed study of the auditory cortex neural populations' transfer functions is needed in order to use this approach.

Therefore, this characterization paradigm doesn't seem to adequately represent the cortical activity in response to stimuli. It may be used to describe the subcortical activity arriving to the cortex in response to simple stimuli when the animal is anesthetized, but for other experimental conditions, with more complex phenomena occurring in the cortex, this description of the signal gives little information about the neural underlying processes.

However, even if this analysis shows that the validity of this approach is questionable, we have used it in preliminary studies to study our multisite data (to be developed in chapter 6). The spatiotemporal analysis based on a simple binary description is not necessarily wrong. Yet, one must take into account the facts abovementioned when interpreting the analysis' results.

3.3.1.2 Continuous real state-space characterization

Given that the noiseless $L_{\Delta F/F}$ signal (optical LIMP signal) is simply related by Equation 3-2 to the underlying spiking process, a simple definition of the cortical activity as a real function of the spiking intensity may be done.

This can be done, for instance, by using the value of the intrinsic component of the real $L_{\Delta F/F}$ signal itself. In this case, one only needs simple signal transformations: the elimination of noise and artifacts from the real $L_{\Delta F/F}$ signal, and the amplitude normalization with respect to the maximum and minimum expected signal values (that can be estimated from ensemble data). In this way, one obtains a continuous function $a_k(t)$ taking values in the interval $[0,1]$, that may be related to the probability of synaptic activity at site k . This approach was used in section 6.4.2.2 to analyze real multisite data.

A more natural characterization of the activity of a site may be obtained by deconvolving the measured $L_{\Delta F/F}$ signal with a prototypical "inverse" epsp (after noise and artifact elimination), in order to estimate the underlying spiking process intensity $\lambda_k(t)$. Then, one may obtain the probability of spike arrival at each site from the Poisson formula and the estimated spiking intensity. For instance, the probability that a single spike occurs in a given time interval $\theta = [t-\Delta t/2, t+\Delta t/2]$ is given by:

$$P(1 \text{ spike in } \theta) = \exp\left(-\int_{t-\Delta t/2}^{t+\Delta t/2} \lambda_k(\tau) d\tau\right) \int_{t-\Delta t/2}^{t+\Delta t/2} \lambda_k(\tau) d\tau,$$

if Δt (i.e. the sampling interval) is small enough, this may be simplified to: $P(1 \text{ spike in } \theta) = \lambda_k(t)\Delta t$

However, there are some practical problems with this approach. First, the epsp waveform ($e(t)$) is the impulse response of a lowpass filter (see 3.2.2.1) with zeros at $|w| = \infty$ in its Fourier transform, so the deconvolution may be difficult or impossible to do. Second, even if it was possible to do the deconvolution, it will be difficult to estimate the amplitude of $e(t)$ at the photodetector, in order to have meaningful values of spike intensity. Finally, as for the binary case, this definition is valid only for deep anesthetized animals, and it represents the subcortical activity arriving to the cortex rather than intracortical activity.

3.3.2 Synchronous neural assemblies and “pulse-packets”

The classical view of neural coding has emphasized the importance of information carried by the rate at which neurons discharge action potentials. More recent proposals state the existence of a combinatorial neural code based on rapid associations of neural populations (neural assemblies) coordinating their activity at the single spike level. In this case the sensory information may be carried by precisely synchronized action potentials and propagate across cortical layers thanks to the activation of local populations of neurons.

We work with the hypothesis that the signature of sensory information processing in the neocortex, at the scale observed with the fluorescence technique, is the high correlation in the time of firing of a local population of neurons in a given area of the neocortex observed by one photodetector.

One suitable underlying model for the cortex tissue, compatible with this hypothesis, is the syn-fire chain neural network, as was proposed by Abeles, consisting of multiple layers of neurons connected with multiple diverging and converging links (Abeles et al., 1994; Abeles et al., 1993b). The theoretical conditions for the stable propagation of information across cortical layers in syn-fire chain models of the cortex, state that information propagates in volleys of tightly synchronized spikes (pulse-packets). A simple model of Gaussian-like time distributed “pulse-packets” has been proposed, with dispersion in time and amplitude of the pulse-packet being the parameters defining the information carrier (Diesmann et al., 1999).

If this paradigm of information processing and propagation actually models with enough accuracy the activity of a functional module of the cortical tissue, and if we can measure this activity and detect the unitary (spike-synchronization-related) events, then it would be possible to observe and study the spatiotemporal information processing carried out by a functional area of the cortex. We may assume that it is possible to observe events in LIMP signals related to the activity of these neural assemblies, and we must try to detect and characterize these synchrony events.

If instead of choosing the synchronous model we were to choose an asynchronous model, where transmission of information between cortical layers is done by propagation of changes in fire rates rather than synchronization of spikes, then we would not be able to detect the signature of the neural information process in the optical imaging signal because in this case the fluorescence changes would be gradual and there would be no special event to detect.

This Gaussian-like “pulse-packets” paradigm may seem too simple to be an accurate model of the membrane potential fluctuations carrying useful information about the neural process. Nevertheless, this simple model is supported by existing experimental evidence.

3.3.3 Pulse packets and membrane potential fluctuations

Taking a closer look to several examples taken from the literature, where recordings of cortical electrical activity have been obtained simultaneously with different kind of measures (LIMP, LFP, MUA), one can readily see that in many cases a simple relationship may be drawn between important events occurring in local neural population’s firing intensity (MUA), in local integrated extracellular currents (LFP) and in local integrated membrane potential (LIMP), at similar mesoscopic scales.

Simultaneous local field potential (LFP) and multiunit (MUA) recordings of cortical neurons activity usually exhibit stimulus-specific synchronous oscillations in the firing probability and in the LFP in response to optimal stimuli (Eckhorn et al., 1988; Gray & Singer, 1989). Synchronicity exists not only between nearby cells in the same functional cortical column but also between spatially separated columns (Eckhorn et al., 1988; Gray et al., 1992; Gray et al., 1989; König et al., 1995). The neuronal oscillatory firing pattern appears to be tightly correlated with the phase and amplitude of the oscillatory local field potential recorded through the same electrode (Gray & Singer, 1989), especially when synchronization between distant cortical sites occurs (König et al., 1995). This phenomenon has been observed in different areas of the visual cortex of anesthetized cats, but similar phenomena have also been observed in the auditory cortex. Because of these properties, these synchrony events have been proposed to be the experimental evidence of a temporal coding of information occurring in the neocortex (Singer, 1994).

A closer look to this data reveals that maximum firing intensity during oscillations nearly coincides with the instant of maximum slope (negative or positive depending on the polarity of the recording) of the LFP (figures 1A and 2D in Gray & Singer (1989)). Moreover, even when no oscillatory activity exists in the MUA, spike triggered averages (STA) of LFP signals exhibit a fast oscillation crossing zero, with maximum slope, nearly at 0 lag, the firing time of the trigger neuron (figure 2D in Gray & Singer (1989) and figure 4 in Arieli et al. (1995)).

Moreover, thanks to simultaneous single unit, LFP, and LIMP recordings, a clear relationship between single unit firing rate fluctuations and oscillations in LFP and in LIMP signals has been found. A local increase in the firing rate usually coincides with important oscillations in LFP

and LIMP signals, where LIMP oscillation's waveforms are similar to the ones of LFP when recorded from the same site (figure 2 in Arieli et al. (1995)).

Completing the Gaussian-like waveform picture for the integrated synaptic events resulting from the occurrence of coincident afferent activity in the form of pulse-packets, one can see that spike-related synaptic activity revealed by spike triggered averages (STA) of optical signals exhibit an almost symmetric positive fluctuation, with its peak occurring at the mean firing time of the trigger neuron, so it is centered at the time of maximum firing probability; the peak of this fluctuation nearly coincides with the zero crossing and maximum slope point of the LFP oscillation (see figure 4 in Arieli et al. (1995)).

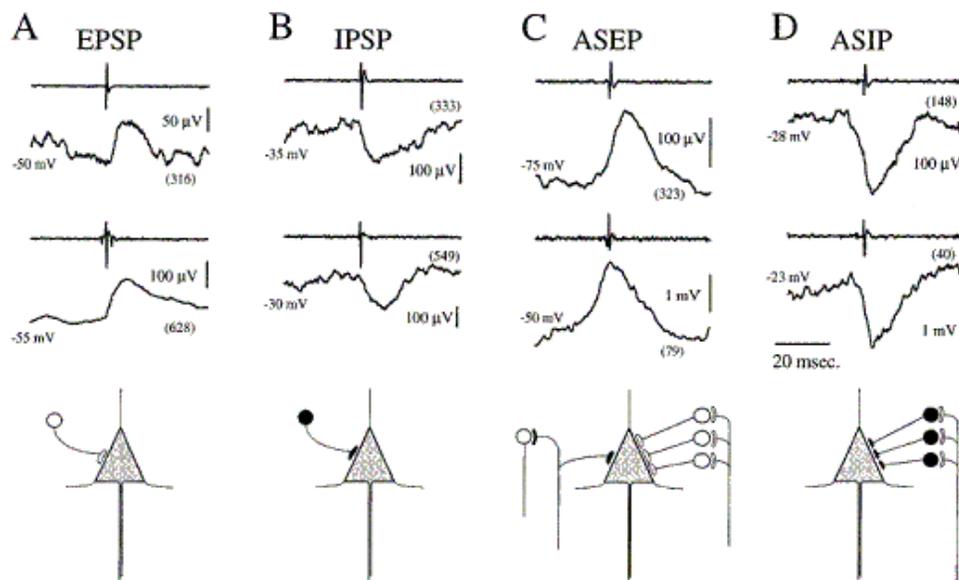


Figure 3-10. Four basic synaptic events recorded from the lightly anesthetized and awake monkey's precentral cortex (spike-triggered average estimation), and the hypothetical corresponding neural circuits; hypothetical excitatory synapses shown in white and inhibitory synapses in black (Taken from: (Matsumura et al., 1996)). **A:** Simple serial EPSP. **B:** Simple serial IPSP. **C:** Averaged Synchronous Excitatory Potentials (ASEPs). **D:** Averaged Synchronous Inhibitory Potentials.

Moreover, intracellular measures of synchronous synaptic interactions between cortical neurons also support this waveform assumption: Matsumura, Fetz et al. have shown the existence of synaptic 'average synchronous excitatory (inhibitory) potentials' (ASEPs (ASIPs)) in the sensorimotor cortex of lightly anesthetized and awake behaving monkeys (Fetz et al., 2000; Matsumura et al., 1996). These ASEPs (ASIPs) were revealed by the STA of intracellular membrane potentials recorded simultaneously in many neighbouring neurons during single,

non-oscillatory, cortical synchronization events. The ASEP's waveform is almost symmetric and resembles a Gaussian function (see Figure 3-10); ASEPs result from the sum of synchronous excitatory EPSPs correlated with spike generation, so they may correspond to the activation of a neural assembly.

Taking all these evidences together, one can draw the conclusion that short Gaussian-like LIMP peaks and rapid LFP oscillations (with Gaussian-derivative-like waveforms) are important elementary or “unitary” events that may be used as signatures of the activation of synchronous local neural assemblies. One may assume that the existence of a fast synchronization of the activity of a local neural population implies the existence of a unitary event in LFP or LIMP signals, but the detection of a unitary event in LFP or LIMP signals doesn't necessarily indicate the activation of a synchronous neural assembly.

3.3.4 Unitary Events (Neural assemblies' activation)

Definition:

A Unitary Event (UE) may be defined in the context of optical LIMP signals as a small and fast positive transient on membrane potential. The transient must be tightly localized in time and space, its amplitude must be only a fraction of the total evoked response but big enough to be detected, and its source must be restricted to a tiny cortical area. It can be modeled as a Gaussian-like pulse,

$$UE(t-t_k, \sigma_k, a_k) = a_k \exp\left(-\frac{(t-t_k)^2}{2\sigma_k^2}\right)$$

It is described by 3 parameters: time localization, duration, and amplitude; its duration and amplitude are related to the pulse-packet's time dispersion and the intensity, respectively; high amplitude and low dispersion are related to successfully propagated information.

For LFP signals the UE will be oscillatory and for UE occurring simultaneously in the same cortical site, an approximate derivative relationship between LFP UE and LIMP UE exists (i.e. LFP UE \sim d(LIMP UE)/dt). A proportional relationship between LIMP UE's duration (rapidity) and neural assembly firing dispersion (synchronization), and a proportional relationship between LIMP UE peak value and neural assembly firing intensity may be assumed as well.

This definition is based on the assumption that neurons in the sensory cortex interact in response to stimuli to form context-dependent synchronous neural assemblies (Singer, 1999), and that this synchrony events are detectable in optical LIMP signals when an important fraction of the neurons contained in the volume observed by one photodetector engage in near-coincident firing.

The term UE has been borrowed from Grün's definition where it means “the occurrence of a coincidence in firing between two or more neurons occurring significantly more often than

expected by chance, where coincidence is detected on a trial-by-trial basis” (Grün et al., 1999); Grün’s UE are defined without taking into account the physical distance between the neurons involved.

The definition used here is related to the one proposed by Grün, but is conceptually different, in this context an UE signals the occurrence of a cluster of coincident firing events, tightly-grouped in time and space, rather than a single coincident event occurring in one loosely grouped cluster.

Riehle et al. (1997) have shown that clusters of coincidence events occur time-locked to behaviorally relevant events; in particular, during planning and execution of voluntary movements in the motor cortex; and that coincident firing rate increases significantly even when there is no significant increase in single unit firing rate. Nevertheless, in this case it will be impossible to detect them in mesoscopic neural activity recordings, as they will vanish.

Parameters, duration:

Based on the difference between oscillation peaks in the spike-triggered average LFP (figure 2 in Gray & Singer (1989)), one may assume that LIMP UE last less than 10 msec. The assumption of this time scale for neural assemblies activity is supported by experimental evidence (Singer, 1999), and by theoretical studies that suggest the existence of a fine temporal structure in neural activity, and that the information processing in the neocortex may indeed occur with a temporal resolution of about 10 msec (Date et al., 1998; Date et al., 2000).

Here it is assumed that most neurons in the observed cortical layers fire only one spike each time the sum of EPSPs reaches the neuron threshold (non intrinsic bursts), and that background spike events tend to occur at low firing rates in a random fashion. Even if cortical pyramidal neurons show an intrinsic periodic firing behavior when observed *in-vitro* (i.e. single isolated neurons or tissue slices), this seems not to be the case under normal *in vivo* conditions, and may occur only at high firing rates.

Thus, the regular random spiking behavior seem to be the most common firing behavior of pyramidal cortical neurons during *in vivo* activity in the superficial layers of the auditory cortex at low firing rates (Abeles et al., 1993b).

Even if some cortical cells exhibit also bursting behavior, the average percentage of time that a firing neuron in the auditory cortex is in bursting state is very low (<3%) (Bowman et al., 1995; Valentine & Eggermont, 2001). This fact supports the assumption that synchronous assembly activity is indeed signaled by a short UE in the $L_{\Delta F/F}$ signal lasting only some few milliseconds.

The occurrence of an UE in one recording site is supposed to reflect the occurrence of a fast transitory increase in the number of neurons firing in near-coincidence in the recorded population of neurons; in other words, an increase in instantaneous firing probability over the neuron population observed at that site. This increase in neurons’ firing probability is supposed to reflect the activation of a “synchronous neural assembly” in one or a few cortical modules (one minicolumn or one column, depending on space resolution).

The coincident firing being detected in a short time-interval, integrated over the observed volume, in one single trial. Instantaneous firing probability, calculated over the observed volume, rises significantly during this interval, even if firing probability of one single neuron doesn't increase.

We assume that each UE occurs with a high time localization ($\sigma < 10$ msec), and a high spatial localization, the population of neurons firing in synchrony is supposed to be restricted to the volume observed at one specific recording site.

The pulse parameters: amplitude, time-localization and dispersion, together with the spatiotemporal structure of the pulse trains occurring in all recording sites, are expected to depend on external factors such as: stimuli characteristics, anesthesia, animal behavior, etc. So, if these parameters can be estimated, they may be used to characterize the particular perception process under study.

These rapid (5~10 msec) fluctuations of the integrated membrane potential correspond to the dynamics of the total sum of excitatory (EPSPs) and inhibitory (IPSPs) postsynaptic potentials. The peaks result from a shower of synchronized excitatory spikes arriving to the dendrites of an important population of neurons in the volume underneath a particular site of measure in the cortex.

The integrated membrane potential (together with the firing probability), at one measuring site, quickly increases following the synchronous activation of a local population of neurons (a synchronous neural assembly); then it quickly diminishes while the neural assembly "dilutes" and the site returns to a basal non-synchronized state.

One cannot actually control the activity of a cortical neural assembly (*in vivo*) in order to validate this model of the membrane potential waveform resulting from neural assembly activation; then, this simple ad-hoc model for this component is by no means "precise".

However, many theoretical and experimental arguments support the choice of synchronization of firing as the principal mean of information transmission and propagation in the cortex, and the choice of a corresponding Gaussian-like pulse waveform model to represent information-related activity in the fluorescence signal.

3.3.5 Population bursting events

Other important events that may carry significant neural information and that might be used to characterize mesoscopic cortical signals are the oscillatory "bursts" that are sometimes seen in electrophysiological recordings and that seem to be correlated with cognitive processes. (N.B. In this context the word burst refers to oscillatory fluctuations in the mean synaptic activity of local populations, not to the bursting spiking activity of single neurons.) These mesoscopic events typically last some 100 ms and are comprised of some few cycles of oscillatory activity

in the gamma band (20 to 80 Hz), and have been observed in the auditory cortex at microscopic (single unit recordings) and at mesoscopic (LFP) scales (see section 3.1.3.5).

For instance, Walter Freeman has developed a theory of perception that relies on the fact that short-oscillatory events in the gamma band occur during odor perception in the rabbit's olfactory bulb. He explains these "bursts" of oscillatory activity as a stimulus-induced unstable chaotic activity of the underlying neural circuits, and identifies them with the "carrier" of neural information during perception (Freeman, 1994; Freeman, 2000a).

For Freeman the important parameter of an oscillatory-burst event occurring at any recording site is the amplitude of the wave, regardless of its specific waveform or latency. He proposes that neural information about an odorant is coded by the spatiotemporal amplitude modulated (AM) pattern emerging from the olfactory bulb, and this information is read out by the olfactory cortex thanks to the diverging connections from the bulb to the cortex, so that extended spatial averaging of the bulbar activity will retrieve only the information carried by the oscillatory bursts of common carrier (Freeman, 1994; Freeman, 2000a) (the carrier's instantaneous frequencies being almost spatially invariant, and the spatial phase dispersion being limited to avoid degradation of the carrier).

Therefore, following Freeman ideas one may also define an "oscillatory-burst unitary event" comprised by a train of a few UE, which may be characterized only by the amplitudes of their envelopes and their time of occurrence; without taking into account the specific time structure and individual amplitudes of the train of UE.

Nevertheless, there are some problems that may prevent the use of this AM paradigm for the characterization of $L_{\Delta F/F}$ signals recorded from the auditory cortex.

First, while the majority of the connections from the olfactory bulb with the olfactory cortex do not follow a topographic mapping, the auditory cortex as other sensory cortices have a clear topographic organized input; therefore, Freeman's hypothesis of a spatial averaging that "launders" the message coming from the olfactory bulb, thanks to the oscillatory carrier, doesn't seem to be valid for other sensory cortices with strict topographic mapping.

Second, a contradiction between Freeman's oscillatory bursting "carrier" for the olfactory system and some models of neocortical activity seems to exist. For instance: In contrast to Freeman, Stoop proposes that local mesoscopic oscillatory events (population bursts) occurring in the neocortex may be related to a local synchronization-based computation, where local neuron populations carry information about the stimulus in their spatiotemporal firing patterns (Stoop & Bunimovich, 2000; Stoop et al., 2000). Indeed, in Stoop's model each neuron may show a specific temporal pattern that depends on, and carry information about, the stimulation environment; other examples consistent with Stoop's ideas will be further developed in the next section.

Actually, this doesn't necessarily contradict Freeman's hypothesis of a common oscillatory "carrier" with spatially homogeneous instantaneous frequencies and limited phase dispersion; the apparent contradiction lies in the low spatial resolution of the EEG or the ECoG. While the mean activity of local populations of neurons at relatively high spatial resolutions (30 to 100

μm) may exhibit complex temporal patterns due to synchronized chaotic behaviour, or to the rapidly switching dynamics of multistable dynamical systems under high noise levels, or to other reasons, the mean activity of a relatively large population of neurons comprising many cortical columns (as is the case in EEG and ECoG) may exhibit a regular oscillatory activity with a main frequency that is independent of the stimulus and that may be almost space invariant (Milton & Mackey, 2000; Stoop et al., 2000), giving rise to the common gamma band carrier of AM oscillatory bursts in the ECoG.

Optical imaging techniques have better spatial resolution than ECoG, at almost the minicolumn scale; therefore, some details of the complex spatiotemporal activity of columns may be better resolved. Therefore, it might be possible to obtain important information from a precise description of the temporal pattern of local coherent activity, not only from their envelope amplitudes.

3.3.6 Local cortical processors, bursting, and Unitary Events

The theory of local chaotic computation in biological neural networks proposed by Stoop (Stoop & Bunimovich, 2000; Stoop et al., 2000) is closely related to the theory of neural ensemble coding by statistical periodicity proposed by Milton and Mackey (Milton & Mackey, 2000), and join the ideas of Favorov, Shaw and McGrann (Favorov & Kelly, 1994a; Favorov & Kelly, 1994b; Favorov & Kelly, 1996; McGrann et al., 1994; Shaw et al., 1985).

For instance, McGrann and Shaw define what they call “Magical Patterns” (MP) (i.e. quasistable, periodic spatiotemporal firing patterns occurring at the columnar level, resulting from the dynamics of a network of minicolumns (trions) composing the column) as a large, but finite, repertoire of symbols used by the cortex to carry on symmetry operations at the columnar level (McGrann et al., 1994; Shaw et al., 1985).

Stoop proposes a local coding scheme based on synchronized chaotic behaviour of perturbed noise-driven neocortical networks, where any of a multitude of chaotic states can be tuned by an external perturbation (e.g. a thalamic input variation) with each synchronized-chaotic state being described by the sequences of spiking periodicities and frequencies, as the neurons travel through the phase space, resulting in a specific spiking spatiotemporal pattern (Stoop & Bunimovich, 2000; Stoop et al., 2000).

Finally, Favorov shows how the modularity of the neocortex, the diversity of stimulus specificity of neocortical cells within modules, and the connectivity patterns of the neocortical modules, can give rise to complex spatiotemporal firing patterns in response to sensory stimuli. In his model the cells’ spiking responses are very stimulus-specific, with patterns of coherence among neurons’ populations that are also stimulus-specific (Favorov & Kelly, 1994a; Favorov & Kelly, 1994b; Favorov & Kelly, 1996).

The experimental evidence of oscillatory activity in the auditory cortex is compatible with these ideas. Local (single unit) gamma-band activity fluctuations show a very variable time structure,

they smear out when multiple trials are ensemble-averaged, and they are triggered by thalamocortical afferents activity; on the other hand, mesoscopic recordings show coherent oscillatory activity over large cortical areas during sound perception (see section 3.1.3.5). As new optical imaging techniques approach fine mesoscopic scales, one may be able to retrieve information about the state of local neural computational units (minicolumns) by studying the temporal patterns of oscillatory mesoscopic activity (if any).

Because the temporal structure of local oscillations may carry information, an oscillatory burst may not be summarized only by the amplitude of its envelope or by its mean frequency, and does not represent an elementary “neural activity” event. The oscillatory burst may be defined as a sequence of more elementary events, the already defined UE. The UE clearly defines an elementary “neural activity” event, each UE occurring at a single recording site represents a peak on the activity at a local processor at that site (n.b. indeed, it will signal a peak on the mean activity of a few neighboring local processors, the number of which depends on the spatial resolution). The temporal pattern of a train of UE at a given recording site will be related to the computation done at that single site, and the $L_{\Delta F/F}$ signal may be characterized by the description of the temporal structure of the trains of UE.

3.3.7 Coexistence of rate and synchrony coding

As it has been shown, we can assume that if the underlying neural activity is essentially random, without any specific time structure, and supposing that information is coded in the neural circuits only by spike rate fluctuations as classic neuroscience theories state, then the intrinsic activity signal will reflect this spike-rate coded information.

On the other hand, there are theoretical arguments that suggest the existence of a cortical neural code based on synchronous neural assemblies and that propose that the propagation of their spiking activity is done in tightly time-locked pulse packets across the cortex layers. These ideas are supported by experimental observations that suggest that specific time-localized waveforms of average synaptic activity (ASEPs) correlate to coincident neural activity. Therefore, if information is indeed coded in the precise coincidence of spike occurrence over a significant number of neurons, then we can assume that the occurrence of small but significant details similar to ASEPs, that we call “Unitary Events” (UE), may reflect the activation of local neural assemblies.

However, one can expect these two phenomena to occur simultaneously. At any time a group of synapses is being activated randomly and independently, while the other is being activated in synchrony. Because coincidence activity is facilitated at high synaptic rates (Bernander et al., 1991; Chawla et al., 1999; Chawla et al., 2000), these two components may be related. At high rates, the probability of observing a UE will be higher. However, synchronization events and rate fluctuations seems to be independent and complementary phenomena; they seem to be differentially involved in neural information processing, at least this is what seems to happen in the motor cortex according to: (Riehle et al., 1997). Therefore, the intrinsic activity signal may

reflect both of them, and the two phenomena may provide useful information to understand the cortical function.

Another interesting possibility is the regulation of the neural code, between coincidence and rate codes, by synaptic mechanisms. This may occur thanks to the regulation of neurotransmitter release probability, depending on the relative timing of almost coincident spikes in presynaptic and postsynaptic neurons (Senn et al., 2001; Tsodyks et al., 1998).

Even if other kind of neural code can also occur, such as temporal order codes (Van Rullen & Thorpe, 2001), this kind of information will be difficult to detect in an average signal such as LIMP or LFP recordings and so I have not taken them into account.

3.4 Single-site L_ΔF/F signal model

Let be $s_p(t)$ be the LIMP waveform at a single cortical site, observed with an ideal noise free instrument; and let $(z_p(t))$ be the raw L_ΔF/F signal obtained at the output of one single photodetector (p) on a real instrument. The fluorescence intensity fluctuations are supposed to be simply related to the total microscopic synaptic membrane potential fluctuations, integrated over the effective cortical volume “seen” by the photodetector at that site (V_p^{eff}). Therefore, the instantaneous value of $z_p(t)$ is supposed to be a measure of the instantaneous value of $s_p(t)$.

Noiseless signal:

According to what has been exposed in sections 3.2 and 3.3, $s_p(t)$ can be written in the following way:

$$s_p(t) = f_p(t) + u_p(t)$$

where $f_p(t)$ reflects the synaptic activity in response to a random spiking input, and $(u_p(t))$ reflects the occurrences of strong local synchronization events.

A usual hypothesis states that during both evoked and spontaneous cortical activity, the intensity of the afferent synaptic activity increases significantly, producing important membrane potential fluctuations. The LIMP fluctuations produced by this random activity are thought to dominate the L_ΔF/F signals. However, we have shown (Annexe 1) that under anesthesia, the spontaneous cortical activity observed in L_ΔF/F signals is almost negligible. Therefore, we will suppose that $f_p(t)$ mostly reflects the spike intensity fluctuations related to stimulus presentation.

Observed (noisy) signal:

The signal measurement is corrupted by additive noise and artifacts that can easily mask the intrinsic neural LIMP fluctuations ($s_p(t)$). Therefore, $z_p(t)$ is composed by two main contributions: one is composed by intrinsic activities related to signal fluctuations of neural origin ($s_p(t)$), and another of extrinsic contamination ($b_p(t)$), basically noise ($\eta_p(t)$) and artifacts ($a_p(t)$); all components being independent of each other and combining linearly. Therefore, the raw L_ΔF/F signals measured at any single photodetector can be described by the following phenomenological model.

$$z_p(t) = s_p(t) + b_p(t) = (f_p(t) + u_p(t)) + (a_p(t) + \eta_p(t)) ; t \in \mathbb{R}^+$$

This signal is sampled at a constant rate $\nu = 1/\tau$ (in our case $\tau = 0.576$ msec) and a limited number of samples (K) are collected. Therefore, the observed data can be written as:

$$z_p(k\tau) = s_p(k\tau) + b_p(k\tau) = (f_p(k\tau) + u_p(k\tau)) + (a_p(k\tau) + \eta_p(k\tau)) ; k = 1, 2, \dots, K$$

In the following section I will define more precisely the intrinsic component of the signal. The extrinsic component will be discussed in the next chapter. This simple description will be used in chapter 5 to simulate some signals and to develop a signal processing strategy and a local cortical activity characterization methodology.

3.4.1 Random spiking related component

The first intrinsic component of the signal ($f_p(t)$) reflects the changes on random spiking activity arriving at each one of the N_p synapses, contained within a volume (V_p^{eff}) under a given site (p) of the cortical surface. This component can be written as (see section 3.2.2.2):

$$f_p(t) = \int_0^T e(u-t) \sum_{n=1}^{N_p} \rho_n(u) dt, \quad \rho_n(t) = \sum_{i=1}^{M_n} \delta(t-t_{(n)i})$$

where $\rho_n(t)$ is the spike train arriving to the n^{th} synapse, and where the spiking count process:

$$v_n(t) = \int_{t-\Delta t}^{t+\Delta t} \rho_n(u) du$$

is a Poisson process with intensity $\lambda_p(t)$. This may be further simplified to:

$$f_p(t) = N_p \int_{u=0}^T e(t-u) \lambda_p(u) du$$

where $e(t)$ is the mean EPSP waveform given in section 3.2.2.1.

Therefore, we must determine the function $\lambda_p(t)$ in order to describe or simulate individual L_ΔF/F signals. We take here a simple *ad hoc* approach to construct $\lambda_p(t)$, using prototypical functions that resemble neurons' responses under anesthesia³.

The signal $f_p(t)$ is *a priori* irregular, its waveform reflects the random nature of the spiking activity and the singularities introduced by the convolution of the spikes trains with $e(t)$ are randomly distributed (see section 3.2.3). Randomness is also introduced by the variability of the real EPSPs occurring in each synapse. Therefore, the values at $t_k = k\tau$ of the intrinsic component of the optical signal $\{f_p(k\tau)\}_{k=1, \dots, K}$ can be interpreted as realizations of a non-stationary discrete-time stochastic process $\{F_p(k); k = 1, 2, \dots, K\}$ taking positive values.

For that reason, I have assumed that the discrete-time (sampled) version of the signal:

$$f_p^d(t) = \sum_{k=1}^K f_p(k\tau) \delta(t - k\tau)$$

can be written as the sum of a deterministic component $g_p^d(t)$ plus a stochastic component $\xi_p^d(t)$:

$$f_p^d(t) = g_p^d(t) + \xi_p^d(t)$$

where $g_p^d(t)$ is a discrete-time version of a function $g_p(t)$ that reflects the smoothed variations on the intensity of the underlying random spiking process (see Figure 3-11). The values of $\xi_p^d(t)$ at $t_k = k\tau$ are realizations of a zero mean stochastic process $\{\xi_p(k); k = 1, 2, \dots, K\}$, with non-zero autocorrelation and small variance, which represents the noise-free variability of the sampled L_ΔF/F signal.

Typical L_ΔF/F signals obtained from anesthetized animals in response to single-tone bursts show a short monophasic response (section 3.1.3.2), their typical waveform closely resembles the basic Post-Stimulus Time Histogram (PSTH) of a single neuron in response to a brief impulsive stimulus, as shown in (Rieke, 1997) and the impulse response of the prepyriform cortex under deep anesthesia (Freeman & Jakubith, 1993). Because of this, we suppose that the smooth signal component $g_p(t)$ can be simply modeled by a function of the form:

$$g_p(t) = C \int_{u=0}^T e(t-u) \beta_{\tau_1, \tau_2}(u - t_o) du = N_p \int_{u=0}^T e(t-u) \lambda_p^e(u) du$$

where t_o is the onset response time, $\beta_{\tau_1, \tau_2}(t)$ models the mean shape of $\lambda_p(t)$ in this experimental conditions ($\lambda_p(t) \approx \lambda_p^e(t) = K_p^e \beta_{\tau_1, \tau_2}(t - t_o)$; $K_p^e = C/N_p$) and C is a positive constant. The function $\beta_{\tau_1, \tau_2}(t)$ can be written as:

³ A more precise definition of this function can be obtained using a dynamical model of the cortex, taking into account the actual structure and physiology of the auditory cortex and of other brain structures related to the auditory system, and the complexity of internal and external interactions, such as Freeman's neural masses models of the olfactory bulb Freeman, W. J. (1972). Waves, Pulses, and the Theory of Neural Masses. In Progress in Theoretical Biology, Vol 2, R. Rosen, & F. M. Snell, eds. (New York and London, Academy Press), pp. 87-165.. However, this is a difficult task that was not needed at the signal processing stage.

$$\beta_{\tau_1, \tau_2}(t) = \hat{H}(t) \frac{1}{(\tau_1 - \tau_2)} (e^{-t/\tau_1} - e^{-t/\tau_2})$$

Equation 3-3

where $\hat{H}(t)$ is the Heaviside function. This function resembles typical PSTHs observed during *in vivo* single-unit spike recordings (Nawrot et al., 1999), and when convolved with the synaptic impulse response produce L_ΔF/F waveforms very similar to the ones experimentally observed (see Figure 3-8).

Since in real L_ΔF/F signals, under anesthesia and in response to single-tone or FM short sound bursts, the mean response typically lasts only some 30 to 50 msec, and since the duration of an AMPAR-mediated EPSP is about 10 to 20 msec (see Figure 3-3 and Figure 3-10); then τ_1 and τ_2 must be small, of about 1 millisecond.

However, $g_p(t)$ resulting from $\lambda_p^e(t)$ does not fully resemble real cortical responses. A very small and almost constant spontaneous spike intensity must be added (e.g., $\lambda_s(t) \approx 1$ to 5 spikes/sec (Amit & Brunel, 1997)). In addition, the effect of GABAergic inhibition can be included indirectly through the use of a similar spike intensity waveform $\lambda_p^i(t) = K^i \beta_{\tau_1, \tau_2}(t - t_{io})$, delayed some few milliseconds from $\lambda_p^e(t)$, lasting some 100 milliseconds and representing the intensity of incoming spikes that are inhibited at any instant (and such that: $\lambda_p(t) \approx \lambda_p^e(t) + \lambda_s(t) - \lambda_p^i(t) \geq 0$). This simple description of the inhibitory activity reflects our current knowledge about the electrophysiology of the auditory cortex (see section 3.1.3), where the GABAergic inhibition seems to be a simple delayed mechanism in response to stimulation (Horikawa et al., 1996; Metherate, 1998).

Responses to a sequence of tones, under the same experimental conditions, can be modeled by a sum of basic smooth functions:

$$g_p(t) = \sum_{i=1}^I g_p^i(t) = \sum_{i=1}^I C_i \int_{u=0}^T e(t-u) \beta_{\tau_1, \tau_2}(u - t_{o(i)}) du$$

with onset times $t_{o(i)}$ and different amplitudes C_i that must reflect the tone to tone inhibition phenomenon that is typically observed in anesthetized animals (i.e. The value of C_{i+1} depends on the distance $\tau_{i+1} = t_{o(i+1)} - t_{o(i)}$, and on the activity of neighboring sites (see (Horikawa et al., 1997; Ziemann et al., 1992), and Figure 3-11). The situation is illustrated in Figure 3-11-A.

For example, in the case shown in Figure 3-11, each synapse is receiving with high probability few (~1) spikes localized in a time-window of about 10 msec in response to two short-lasting sound bursts. However, responses to more complex stimuli and/or different experimental conditions may not conform to this simple model.

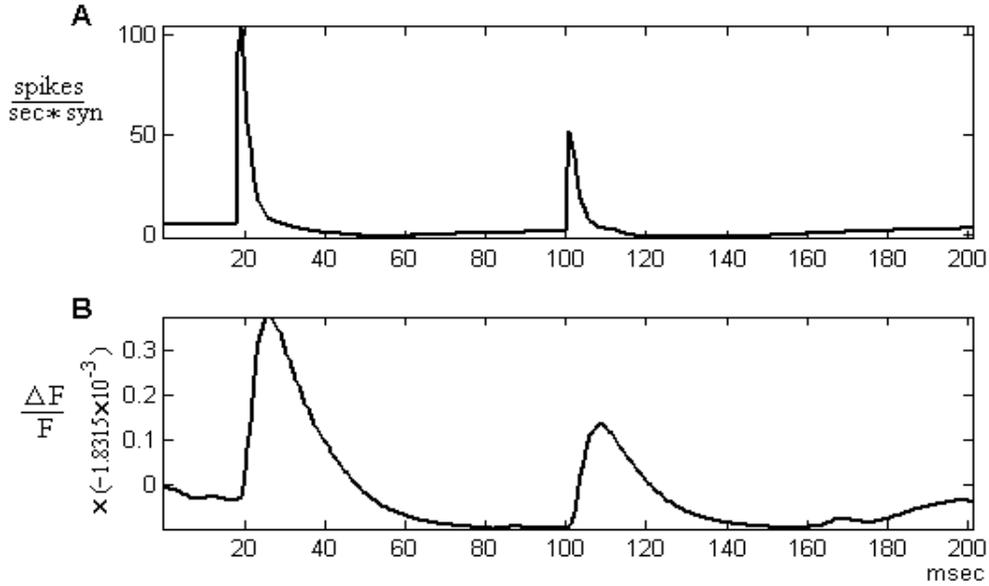


Figure 3-11. Simulation of the intrinsic component of a hypothetical $L_{\Delta F/F}$ signal recorded from the cortex of an anesthetized animal, at a single site, in response to two consecutive simple stimuli (e.g., each one a single tone burst and separated by 82 msec). **A:** Hypothetical spike intensity function ($\lambda(t)$) underlying the $L_{\Delta F/F}$ signal (spikes per second, per synapse). It starts with a low intensity spontaneous activity of 5 spikes/(sec*synapse) that is followed at 18 msec by a time-localized activity of about one spike per synapse each 10 msec. This activity is followed by a strong long lasting inhibition. The pattern repeats for the second stimulus, but with a weaker intensity. **B:** Intrinsic component of the $L_{\Delta F/F}$ signal ($g_p(t)$): the EPSPs resulting from the intensity function in (A) are integrated over the volume observed by a single photodetector. The amplitude was rescaled in order to match typical experimental data amplitudes. The different amplitudes illustrate the tone to tone inhibition phenomenon that is typically observed in anesthetized animals (see Horikawa et al. (1997) and Ziemann et al. (1992)).

3.4.2 Local synchronized neural activity ($u_p(t)$)

The second intrinsic component ($u_p(t)$) consists of a train of UEs with different time localizations (t_k), widths (ω_k), and amplitudes (a_k), reflecting the occurrences of strong local synchronization events of the synaptic activity. Actually, each of these UEs can be modeled by the synaptic response to a highly time-localized increase on the underlying spike intensity arriving to some of the synapses contained in the observed volume (V_p^{eff}). The UE intensity function may be written as:

$$\lambda_{UE}(t) = b_k \exp(-|t-t_k|/\tau_k) \quad (\text{spikes/sec})/\text{synapse}$$

with τ_k of about 1 msec, and b_k small because only a small subset of synapses in V_p^{eff} is supposed to be activated (see Figure 3-12-A). After integrating the synaptic activity over all the synapses in the V_p^{eff} , each observed UE is expected to be a weak, less time-localized, asymmetric function as shown in Figure 3-12-B.

However, as has been explained in section 3.3.4, we may approximate each UE with a Gaussian. Therefore, the train of UEs can be written as:

$$u_p(t) = \sum_{k=1}^{K_p} UE(t-t_k, \omega_k, a_k) = \sum_{k=1}^{K_p} a_k \exp\left(-\frac{(t-t_k)^2}{2\omega_k^2}\right)$$

with ω_k of the order of 10 msec, and a_k much smaller than the amplitude of the first intrinsic component. Indeed, these observed UEs closely resemble the ASEPS observed by Matsumura et al. (1996) (see Figure 3-10). The actual values of the individual pulse's parameters (a_k , t_k , and ω_k), together with the spatiotemporal structure of the pulse trains occurring in all recording sites, are expected to depend on the stimuli, animal behavior; and on external factors such as stimuli characteristics, anesthesia, etc. So, if these parameters can be estimated, they may be used to characterize the particular perception process under study.

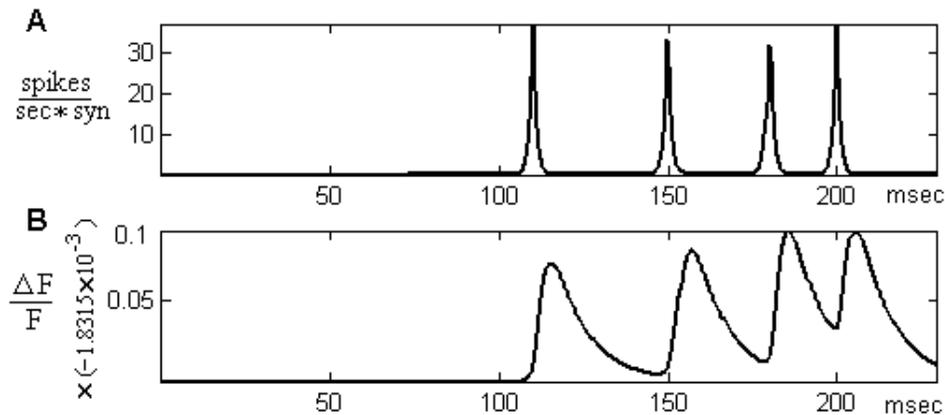


Figure 3-12. Intrinsic component of the $L_{\Delta F/F}$ signal related to local synchronization events. **A:** Underlying spiking intensity. **B:** Resulting $L_{\Delta F/F}$ waveform showing the UEs as they will be observed at one photodetector.

One cannot actually control the activity of a cortical neural assembly (in-vivo), in order to validate this model of the membrane potential waveform resulting from neural the assemblies' activations. Therefore, this simple ad-hoc model is by no means "precise". However, as has been already shown, many theoretical and experimental arguments support the choice of synchronization of firing as the principal mean of information transmission and propagation in the cortex, and the choice of the corresponding gaussian-like pulse waveform model to represent information-related activity in the fluorescence signal.

3.4.3 Total intrinsic signal

The total intrinsic signal is given by:

$$s_p(t) = f_p(t) + u_p(t) = (g_p(k) + \xi_p(k)) + \sum_{k=1}^{K_p} ak \exp\left(-\frac{(t-tk)^2}{2\omega k^2}\right)$$

For instance, a hypothetical response to a short simple stimulation is illustrated in Figure 3-13. It starts with a strong depolarization starting before 20 msec, followed by a strong inhibition, a slow recovery, and finally followed by a train of four UEs. In addition, the train of UEs is accompanied by a long lasting increase on the mean synaptic activity. Indeed, according to the experimental observations reported by Meterathe & Cruikshank (1999) (see section 3.1.3.5), and to the theoretical work of Chawla et al. (1999, 2000) and Bernander et al. (1991) (see section 3.3.7), we may suppose that $u_p(t)$ depends on the amplitude of $f_p(t)$.

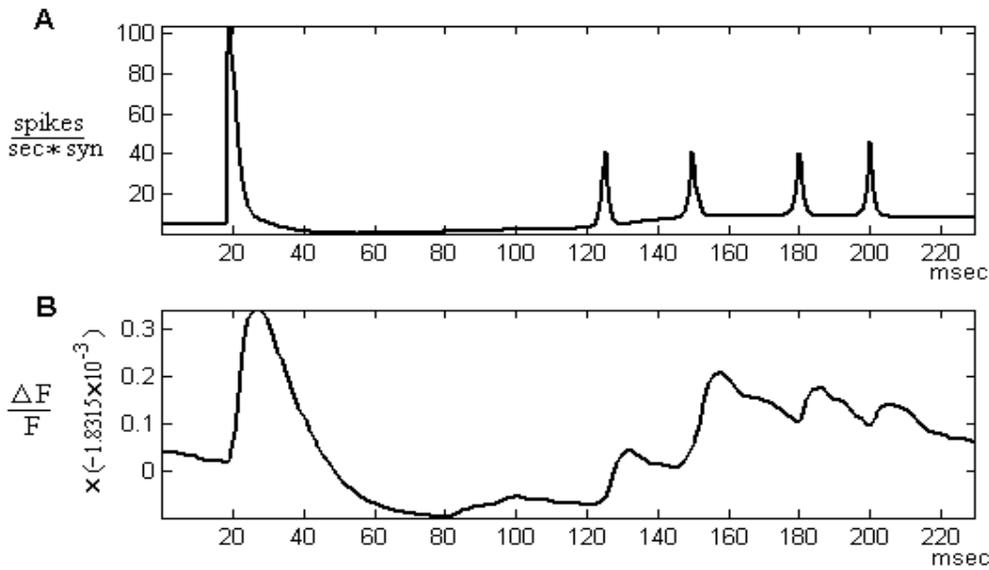


Figure 3-13. Total intrinsic component of a hypothetical $L_{\Delta F/F}$ signal in response to a short stimulation. **A:** The underlying spiking intensity starts with a low intensity spontaneous activity of 5 spikes/(sec*synapse) that is followed at 18 msec by a time-localized activity of about one spike per synapse each 10 msec. This activity is followed by a strong inhibition that lasts for almost one hundred milliseconds. Finally, a long-lasting activity consisting of a train of four pulse-packets in addition to a low level activity of some 10 spikes/sec starts at 125 msec. **B:** The resulting $L_{\Delta F/F}$ waveform showing the four UEs as they will be observed at one photodetector.

3.4.4 Some practical issues

As we have already pointed out (section 3.3), the signal $u_p(t)$ is expected to convey important information about cognitive or perceptual processing, while $f_p(t)$ is supposed to carry mostly information about the subcortical activity. Therefore, one may be interested in studying $u_p(t)$ in real signals.

However, besides the relationship between $u_p(t)$ and $f_p(t)$, the $u_p(t)$ parameters (a_k and ω_k for each UE) and the relative characteristics between these two components depend on the scale of observation (or equivalently on spatial resolution (r), where r can be defined in minicolumn size units ($30\mu\text{m}$): if photodetector's size is $30\mu\text{m}$, $r = 1$ pixel/minicolumn; if it is $300\mu\text{m}$, $r = 0.1$ pixel/minicolumn).

While at coarse mesoscopic scales ($r < 1$) the diversity of phases of local synchronizations in multiple activated minicolumns tend to average any fine time structure in $u_p(t)$, and $f_p(t)$ becomes smooth and dominant. At fine mesoscopic scales, as one approaches $r = 1$, $u_p(t)$ will be dominant in active minicolumns, and any fine time structure will be easier to identify.

For instance, since our experimental setup had a scale of observation of at least $250\mu\text{m}/\text{pixel}$ and less than $300\mu\text{m}/\text{pixel}$ then $r \approx 0.1$, such that each photodetector covers an area containing many ($\sim 10^2$) minicolumns (the diameter of a minicolumn being $\sim 30\mu\text{m}$). Then we may observe a cortical activity signal where some minicolumns may be activated in synchrony while others may not. Because of the spatial averaging, the amplitude of $u_p(t)$ might be very small, with $f_p(t)$ making the bulk of the observed neural activity. This fact predicts an important problem for the observation of $u_p(t)$ in real signals, because the UEs might almost disappear in the overwhelming noise of the recorded signals.

In addition to the resolution, the amplitudes of both $u_p(t)$ and $f_p(t)$ depend on other factors, such as the level of anesthesia, the cortical site, etc. This may be modeled by a multivariable cortical state vector (S) that takes into account stimulus parameters, anesthesia ($A(t)$), and other variables. The evolution of the cortical activity may be expressed with something like:

$$d(S(t))/dt = \Phi(S(t), stim(t), A(t), \dots, t)$$

$$u_p(t) = h_p(f_p(t), S(t), r)$$

$$f_p(t) = g_p(S(t), r)$$

For instance, a known feature of the signal results from the two tone inhibition or “busy line” property of the auditory cortex in response to repetitive stimuli; a cortical site that has been activated with a single tone will be inhibited to respond to a second tone during some time, the duration of which will be set by the frequencies of the two tones and the time delay between them (Horikawa et al., 1997). In a first approximation, this effect, intrinsic to cortical activity, may be included in the cortical state vector. Nevertheless, $S(t)$ can be very complex, it is the output of a multivariable dynamic system that depends on the stimulus properties, on intrinsic

cortical properties, and on the state of other brain structures; and I have not tried to advance any explicit model of it.

Therefore, only under appropriate experimental conditions (high SNR, good resolution, adequate stimuli, light anesthetized or awake animals), will $u_p(t)$ be detectable. If these conditions are not met the UE may disappear in the noise and in the background $f_p(t)$ signal.

CHAPITRE 4

Traitement du signal de fluorescence potentiel-dépendante

Dans ce chapitre, nous allons décrire quelques techniques d'estimation et de caractérisation des signaux d'activité électrique corticale en réponse aux stimuli, à partir des données issues de la technique de fluorescence potentiel-dépendante. Nous montrerons d'abord quelques techniques couramment utilisées, en discutant les avantages et les problèmes qu'elles présentent. Nous étudierons ensuite quelques alternatives, et notamment des techniques de traitement du signal basées sur la transformée en ondelettes. Notre but est d'estimer l'activité neuronale de manière précise et rapide, afin de pouvoir étudier la dynamique de la réponse du cortex aux stimuli et la variation de cette réponse en fonction de la variation des stimuli d'un enregistrement à l'autre.

Cette étude a été réalisée en mettant l'accent sur les connaissances que l'on a à ce jour sur l'activité neuronale, sur les sources microscopiques de cette activité, et sur certains modèles théoriques qui décrivent le traitement de l'information réalisé dans le cortex (ce qui a été développé dans le chapitre précédent). Ces informations ont servi à mieux comprendre la nature et les caractéristiques du signal $L_{\Delta F/F}$ quand il est observé directement sur le cortex à une échelle mésoscopique, ce qui nous a permis de pouvoir proposer des techniques de traitement du signal adaptées à l'analyse de ces signaux.

4.1 Description des données

Des données avec et sans présentation de stimuli ont été enregistrées de manière intercalée dans chaque site de mesure p (voir section 2.2): d'abord un enregistrement sans stimulation qui débute au temps t_1 , qu'on notera $z^A(1) = \{z^A(p,k,1)\}_{k=1,2,\dots,K; p=1,2,\dots,P}$ (où K = nombre d'échantillons par signal et P = nombre de sites de mesure) et qui dans l'idéal ne contient pas d'activité neuronale mais uniquement du bruit et des artefacts; ensuite un deuxième enregistrement avec stimulation, qui débute au temps $t_1 + T$, noté par $z^B(1) = \{z^B(p,k,1)\}_{k=1,2,\dots,K; p=1,2,\dots,P}$, et qui contient l'activité neuronale en réponse au stimulus en plus du bruit et des artefacts (où T = période du cycle cardiaque et $K\tau < T$, dont τ = période d'échantillonnage); puis $z^A(2)$ au temps t_2 , ensuite $z^B(2)$ au temps $t_2 + T, \dots$, puis $z^A(m)$ au temps t_m , ensuite $z^B(m)$ au temps $t_m + T$; et ainsi de suite pour $m = 3, \dots, M$.

On obtient donc deux ensembles de données $\zeta^A = \{z^A(m)\}_{m=1,2,\dots,M}$ et $\zeta^B = \{z^B(m)\}_{m=1,2,\dots,M}$ pour chaque expérience (où $2M$ = nombre total d'enregistrements sans et avec stimulation).

4.2 Modèle du signal

Selon le modèle développé dans le chapitre précédent, le signal $L_{\Delta F/F}$ mesuré par une photodiode quelconque p , et enregistré à partir du temps t_m ($\mathbf{z}_{p,m} = \{z^X(p,k,m)\}_{k=1,2,\dots,K; X \in \{A,B\}}$) peut s'écrire de la manière suivante (voir section 3.4) :

$$\mathbf{z}_{p,m} = \mathbf{s}_{p,m} + \mathbf{b}_{p,m} = (\mathbf{f}_{p,m} + \mathbf{u}_{p,m}) + (\mathbf{a}_{p,m} + \boldsymbol{\eta}_{p,m})$$

où $\mathbf{s}_{p,m}$ est le signal intrinsèque ou d'activité neuronale, et $\mathbf{b}_{p,m}$ est l'ensemble des bruits, interférences, artefacts, etc., qui nuisent à la mesure (composante extrinsèque). Le signal intrinsèque est constitué de deux composantes : l'une ($\mathbf{f}_{p,m}$) qui représente la réponse synaptique à un processus aléatoire d'arrivée de PA à la zone observée par la photodiode p , et l'autre ($\mathbf{u}_{p,m}$) qui reflète des événements de synchronisation de EPSP dans la même zone. Ces composantes intrinsèques sont décrites en détail dans le chapitre précédent. La composante extrinsèque est constituée principalement par un bruit aléatoire très important ($\boldsymbol{\eta}_{p,m}$), inhérent à la nature probabiliste de la mesure par la technique d'enregistrement optique, et par un artefact de grande amplitude $\mathbf{a}_{p,m}$ qui résulte de la sensibilité des colorants fluorescents à l'activité hémodynamique dans le tissu cortical (voir sections 2.1.2 et 2.3).

Nous allons maintenant nous intéresser à l'estimation de $\mathbf{s}_{p,m}$ et ses composantes de la manière la plus précise et la plus rapide possible. Cette étude s'est concentrée sur le traitement du signal mesuré sur une photodiode quelconque, sans tenir compte de la localisation spatiale du photodétecteur ni de la covariance spatiale de l'information multi-sites. On écrit donc de manière générale pour un signal quelconque :

$$\mathbf{z}_m = \mathbf{s}_m + \mathbf{b}_m = (\mathbf{f}_m + \mathbf{u}_m) + (\mathbf{a}_m + \boldsymbol{\eta}_m) \quad \text{Equation 4-1}$$

La dimension spatiale du problème de caractérisation de l'activité neuronale sera abordée dans le chapitre 6.

4.3 Estimation de l'activité électrique du cortex auditif en réponse aux stimuli auditifs à partir des signaux $L_{\Delta F/F}$

Le signal d'activité électrique corticale (\mathbf{s}_m) est issu d'un processus biologique complexe, non linéaire et non stationnaire (voir sections 3.1 et 3.2), et il est d'une faible amplitude par rapport au bruit et aux artefacts (voir section 2.3). Ce signal ne peut être estimé de manière précise ni efficace avec des méthodes linéaires conventionnelles. Nous avons exploré plusieurs techniques afin d'améliorer la précision et l'efficacité de l'estimation.

Nous allons tout d'abord rappeler dans la prochaine section la technique traditionnelle d'estimation de ce type de signaux. Cette méthode présente plusieurs inconvénients, que nous allons discuter. Ensuite, nous allons présenter plusieurs techniques d'élimination de bruit. Finalement, nous étudierons le problème de l'élimination de l'artefact hémodynamique.

4.3.1 Estimation traditionnelle

La source la plus importante d'erreur dans la mesure du signal s_m vient de l'artefact produit par le flux sanguin dans le tissu observé (a_m). Cet artefact est d'une très grande amplitude par rapport au signal de fluorescence, spécialement dans le cas du colorant utilisé dans cette étude (RH795). Cependant, sa forme est supposée similaire d'un enregistrement à l'autre ; c'est pourquoi il est habituel d'estimer s_m par soustraction d'un signal enregistré en absence de stimulation (signal qui sert comme modèle de l'artefact) à un signal enregistré en présence de stimulation ($\hat{s}(k,m) = -z^B(k,m) - z^A(k,m)$, où le sens de la soustraction a été inversé à cause de la « négativité » de la réponse du colorant RH795 aux augmentations du potentiel de membrane). Néanmoins, les résultats de cette soustraction sont encore d'une très mauvaise qualité à cause de la deuxième source d'erreur, le mauvais RSB de la mesure par fluorescence (voir Figure 2-13). Ce bruit est difficile à éliminer avec des méthodes linéaires conventionnelles puisqu'il est très grand et parce que le signal d'activité neuronale n'est pas stationnaire ni séparable du bruit dans le domaine de Fourier.

La technique habituellement utilisée pour éliminer ce bruit consiste à estimer une seule courbe moyenne libre de bruit à partir de plusieurs enregistrements réalisés sous les mêmes conditions expérimentales (i.e. mesures répétées). Cette technique est très utilisée dans le cadre de l'estimation de signaux d'origine biologique, en particulier dans le cas de l'estimation de potentiels évoqués à partir des mesures réalisées avec des électrodes puisqu'en général ces signaux sont complètement noyés dans l'EEG qui domine les mesures. En effet, quand un signal est de type répétitif, reproductible d'un enregistrement à l'autre, et quand les bruits et artefacts ne peuvent pas être éliminés avec des filtres linéaires conventionnels (quand le spectre du bruit et celui du signal se superposent ou quand le signal est non stationnaire), il est préconisé de calculer la moyenne d'ensemble pour estimer le signal. Si le bruit que l'on veut éliminer est aléatoire, de moyenne nulle et de variance constante, et qu'il est non corrélé avec le signal, alors la moyenne d'ensemble améliore le RSB par un facteur de \sqrt{m} , où m est le nombre de répétitions (Tompkins, 1993).

Dans notre cas, si la forme de l'artefact et de l'activité neuronale se reproduisent d'un enregistrement à l'autre, nous pouvons donc estimer d'abord l'artefact comme la moyenne d'ensemble ζ^A , puis de soustraire cette estimation à la moyenne d'ensemble de ζ^B :

$$\hat{s}(k) = \hat{a}(k) - \hat{s}^B(k), \text{ où } \hat{a}(k) = \Sigma_m(z^A(k,m))/M \text{ et } \hat{s}^B(k) = \Sigma_m(z^B(k,m))/M ;$$

ou de manière équivalente :

$$\hat{s}(k) = \sum_m (z^A(k,m) - z^B(k,m)) / M.$$

Cette technique se base donc sur deux hypothèses : premièrement, que s_m et a_m sont des fonctions reproductibles, pour lesquelles la variabilité d'un enregistrement à l'autre pour un même stimulus est négligeable ; deuxièmement, que toute variabilité présente d'un enregistrement à l'autre peut être représentée par un vecteur aléatoire, de moyenne nulle, et non corrélé. En outre, les signaux enregistrés *in vivo* avec le colorant RH795 présentent un très faible RSB (voir sections 2.2.5 et 2.1.2), ce qui veut dire qu'il est nécessaire d'obtenir beaucoup de mesures répétées afin d'obtenir une bonne estimation.

En pratique cette approche n'est pas très précise puisque ces conditions ne sont pas faciles à remplir lors des enregistrements de l'activité corticale. D'une part, l'activité neuronale peut être par nature très variable, et ces variations peuvent être importantes à étudier ; et d'autre part, les conditions expérimentales ne sont pas toujours faciles à contrôler d'une expérience à l'autre. Ou simplement on ne veut pas contrôler les conditions expérimentales de manière trop stricte puisque l'on veut étudier précisément les variations naturelles de certains paramètres du signal à travers les expériences en fonction de changements dans les conditions expérimentales (e.g. pendant le monitoring continu de variations des latences ou des amplitudes d'événements neuronaux), variations qui sont effacées lors du calcul de la moyenne d'ensemble. En outre, la grande quantité de mesures nécessaires pour obtenir une estimation augmente le temps d'acquisition et d'analyse. Finalement, le blanchiment naturel du colorant fait diminuer le RSB au fil des enregistrements, ce qui limite la possibilité de réaliser un grand nombre de mesures répétées, et limite aussi par conséquent la qualité de l'estimation.

Il faut aussi noter que même si le calcul de la moyenne d'ensemble semble augmenter clairement le RSB du signal moyen estimé (voir Figure 2-13), les variations temporelles rapides et les détails du signal sont souvent atténués, déformés ou effacés avec cette technique puisque ces détails ne sont pas toujours bien alignés d'un enregistrement à l'autre. Ceci est un problème important si nous nous intéressons à toute la courbe, avec les détails et variations rapides, et non seulement à la courbe moyenne. En ce cas, le RSB n'est pas nécessairement augmenté, il peut au contraire diminuer. En particulier, notre modèle de signal d'activité corticale suppose l'existence de fluctuations localisées du potentiel de membrane, événements qui représenteraient l'activation synchrone d'ensembles de neurones dans la population observée. Ces fluctuations seraient faibles, rapides, probablement oscillatoires, et une variabilité naturelle de leurs latences (et amplitudes) est possible. Ce type d'activité ne pourra pas être détecté facilement avec des mesures répétées si ces événements ne sont pas synchronisés avec le stimulus.

Finalement, il faut aussi noter que la suppression de l'artefact par une simple soustraction d'un signal acquis sans stimulation augmente la variance du bruit provenant de la chaîne de mesure (ceci sera développé dans la section 4.3.5.2). Ceci a pour conséquence l'augmentation du nombre d'enregistrements nécessaires pour obtenir un signal d'une qualité acceptable, lorsque les estimations sont réalisées en calculant la moyenne d'ensemble.

Nous allons présenter par la suite plusieurs techniques d'élimination de bruit que nous avons étudié et quelques algorithmes que nous avons implémenté. Nous allons décrire leurs qualités et

leurs défauts dans le cadre de l'estimation de l'activité neuronale à partir des mesures de fluorescence potentiel-dépendante. Le problème d'élimination de l'artefact hémodynamique sera traité dans la section 4.3.5, dans la section suivante nous supposons que cet artefact a été éliminé avec précision.

4.3.2 Techniques d'élimination du bruit

Comme nous l'avons vu dans la section précédente, la technique la plus populaire pour éliminer le bruit dans ce type de problématique est l'estimation par la moyenne d'ensemble de mesures répétées. Plusieurs techniques ont été proposées afin d'améliorer la technique de base ; en particulier, la décomposition en valeurs singulières (SVD) (aussi appelée décomposition dans la base de Karhunen-Loève (KL) ou analyse en composantes principales (PCA)) est très utilisée afin de séparer les composants du signal de ceux qui correspondent au bruit de fond ou aux artefacts (Everson et al., 1997 ; Mitra & Pesaran, 1999). Cette décomposition nécessite un ensemble de mesures répétées ($X = \{X_n\}$; $n = 1, \dots, N$) qui forme un espace de dimension N , à partir duquel on construit une base orthonormée de dimension $d < N$, qui est censée représenter de manière optimale les composants du signal et permet de les séparer des artefacts et du bruit.

Même s'il est souvent possible d'améliorer le RSB du signal avec ce type de techniques, les problèmes liés à la variabilité intrinsèque de l'activité neuronale, mentionnées dans le paragraphe précédent, ne sont pas résolus. En outre, la base KL, qui est la base optimale dans le cadre de l'approximation linéaire des fonctions, n'est pas réellement optimale dans le cadre plus général de la représentation de l'information contenue dans des signaux quelconques (voir Meyer (1994), chapitre XII). De plus, les signaux d'activité corticale en réponse à un stimulus, cachés dans les mesures bruitées observées sur chaque site du cortex, sont a priori mal approximés par des fonctions linéaires puisqu'ils sont le résultat de phénomènes synaptiques non linéaires. Dans ce cas, une approximation non linéaire peut être mieux adaptée. Finalement, dans certains cas il est simplement impossible d'obtenir plus d'un enregistrement correspondant à un seul état du cortex (e.g., enregistrement des signaux physiologiques lors des activités normales d'un animal pendant l'éveil) ; dans ce cas il est impossible d'utiliser ce type de méthodes puisque l'on ne peut utiliser qu'un seul enregistrement pour estimer le signal non bruité.

Notre but est donc d'estimer l'évolution de l'activité électrique moyenne de la population neuronale observée dans chaque site de mesure, avec une bonne résolution temporelle, tout en minimisant le nombre d'expériences nécessaires pour obtenir une seule courbe. Dans le cas idéal, il faudrait estimer l'activité neuronale à partir d'un seul enregistrement.

4.3.2.1 Filtrage Linéaire

La méthode classique, et la plus simple, d'élimination de bruit d'un signal $x(t)$ quelconque consiste à réaliser un filtrage linéaire. Cette approche se base sur l'hypothèse que le bruit et le signal utile sont séparables dans le domaine fréquentiel. Si cette hypothèse se vérifie, on peut transformer le signal à l'espace de Fourier et annuler les coefficients qui correspondent au bruit sans modifier les coefficients de la transformée qui correspond au signal. Ceci est réalisé en multipliant la fonction transformée $X(\omega)$ avec une autre fonction $H(\omega)$ définie dans cet espace ; cette fonction, que l'on appelle filtre, est typiquement une fonction complexe de la fréquence. Ensuite, le signal débruité $y(t)$ est récupéré par la transformation inverse de Fourier :

$$y(t) = \int_{-\infty}^{\infty} X(\omega)H^*(\omega)e^{j\omega t}d\omega$$

On peut aussi réaliser ce filtrage dans le domaine temporel en effectuant la convolution du signal avec la réponse impulsionnelle du filtre $h(t)$.

$$y(t) = \int_{-\infty}^{\infty} x(u)h(t-u)du$$

Cependant, cette approche suppose que le signal $x(t)$ provienne d'un système dynamique linéaire stationnaire, et le signal et le bruit sont facilement séparables dans le domaine de Fourier. Ces hypothèses sont difficilement vérifiées dans le cas des signaux d'activité neuronale observés à une échelle mésoscopique et du bruit associé à sa mesure.

Les modèles déterministes et stochastiques les plus précis de l'activité corticale aux échelles mésoscopiques sont de nature non linéaire et non stationnaire, et ne peuvent pas être décrits par une somme de signaux sinusoïdaux (Freeman, 1972; Freeman, 1979b; Stoop et al., 2000). La décomposition de Fourier n'est donc pas la plus adéquate pour ce type de signaux. En outre, dans la plupart des cas, les contenus spectraux du signal et du bruit se superposent. Ainsi, si l'on veut conserver les changements rapides du signal, on est obligé de filtrer avec une fréquence de coupure haute, et l'influence du bruit sera donc importante. Au contraire, si l'on veut diminuer la variance du bruit, il faudra filtrer avec une fréquence de coupure basse et les changements rapides dans la forme du signal seront déformés, lissés. Un problème important de cette approche est donc l'impossibilité de tenir compte des changements locaux rapides du signal qui, comme nous l'avons vu dans la section 3.3, peuvent porter de l'information sur l'activité fonctionnelle du cortex.

D'autre part, la nature des signaux d'activité électrique du cortex mesurés par fluorescence n'est pas non plus compatible avec un modèle linéaire stationnaire, et ce car le signal de fluorescence représente les variations du potentiel de membrane dendritique, et plus particulièrement les variations dans la somme instantanée des potentiels postsynaptiques excitateurs produits dans la zone observée par un photodétecteur (voir section 3.2). Etant donné que ces potentiels sont bien représentés par des fonctions positives non linéaires (voir section 3.2.2.1), que le signal de fluorescence dépend des variations de l'intensité des PA arrivant à la zone observée (e.g., voir section 3.2.2.2), et que ces variations peuvent être brusques, le signal de fluorescence peut donc avoir un caractère non stationnaire important. Ceci est confirmé par la forme du signal que l'on observe lors de l'application d'un stimulus sous anesthésie, laquelle rappelle la forme du

potentiel postsynaptique et indiquerait l'arrivée massive et quasi-simultanée des PA à la zone du cortex observée.

En conclusion, dans le cas des signaux d'activité neuronale observés à une échelle mésoscopique, le filtrage linéaire n'est pas une technique effective pour supprimer le bruit de mesure ; en outre, il déforme l'information contenue dans le signal. Néanmoins, dans le cas où l'activité neuronale serait faible, le filtrage linéaire peut être une bonne solution au problème de débruitage. C'est le cas des signaux obtenus en absence de stimulation qui sont utilisés pour estimer l'artefact cardiaque, où un simple filtrage linéaire peut être utilisé pour améliorer la qualité de l'estimation de l'artefact (voir section 4.3.5.4).

Cependant, nous avons montré auparavant (section 2.3.1) que le bruit de mesure présent dans le signal de fluorescence peut être modélisé de façon assez précise par une variable aléatoire de distribution gaussienne. Il est certain que l'on peut améliorer la qualité de l'estimation en tenant compte de ce fait ; la manière de le faire sera discutée par la suite.

4.3.2.2 *Techniques de rétrécissement et seuillage de coefficients de la transformée en ondelettes orthogonale (TOO)*

Nous avons étudié des techniques non linéaires basées sur la transformée en ondelettes, en particulier, les techniques d'élimination de bruit par seuillage et/ou rétrécissement des coefficients de la TOO. Ces techniques permettent, en principe, d'estimer le signal s_m de manière plus précise que les techniques linéaires et sans besoin de réaliser des mesures répétées. Elles sont relativement récentes mais le développement de la théorie et des algorithmes a été très rapide, et les applications sont chaque fois plus nombreuses.

Le problème à résoudre peut s'écrire de la manière suivante :

$$y_n = f(t_n) + \varepsilon_n \quad n = 1, \dots, N,$$

où les y_n sont les données observées aux instants $t_n = n\tau$ (τ est la période d'échantillonnage), f est le signal que l'on veut récupérer, et les ε_n sont des variables aléatoires qui représentent un bruit additif. La fonction f est une fonction déterministe qui peut être linéaire ou non linéaire, et pour laquelle on n'a que très peu d'information a priori.

Donoho (1993) a conçu une nouvelle méthodologie de régression non linéaire, non paramétrique, qui s'adapte très bien à cette problématique. Cette méthodologie se base sur l'application d'un opérateur non linéaire Δ sur les coefficients d'une transformée en ondelettes discrète orthogonale (TOO) afin d'approximer la fonction recherchée. Le problème étudié par Donoho consiste à récupérer des objets multidimensionnels (courbes, densités, images, etc), qui possèdent une propriété de régularité qui peut être mesurée par une norme. Le problème est donc un problème de régularisation par rapport à une norme, où la norme est choisie selon la classe d'objet à estimer (e.g., la norme de Besov pour des fonctions régulières par morceaux). En particulier, Donoho cherche à minimiser une fonction de risque.

En effet, grâce à deux propriétés de la TOO, il est possible de séparer une fonction déterministe d'un bruit additif de distribution gaussienne de manière presque optimale. D'une part, la TOO est une transformation linéaire et orthogonale, de manière que les coefficients de représentation d'un bruit non corrélé de distribution gaussienne et de variance σ^2 , dans l'espace généré par la transformation, sont aussi des variables indépendantes de distribution gaussienne et de même variance. D'autre part, la représentation dans l'espace de la TOO d'une fonction déterministe et régulière par morceaux est parcimonieuse si les ondelettes sont bien choisies, c'est-à-dire que la fonction est représentée par un faible nombre de coefficients de grande amplitude. Ainsi, si les coefficients de la transformée du signal sont suffisamment grands par rapport à σ , il est possible de modifier les coefficients de la transformée du signal bruité en utilisant une fonction non linéaire δ , de manière à éliminer ou réduire la contribution du bruit et conserver la contribution du signal (voir Figure 4-1). Selon la forme de δ , les coefficients seront modifiés de manière différente, ce qui donne lieu à plusieurs méthodes d'estimation.

Par exemple, si δ est une fonction de type :

$$\delta(x) = \begin{cases} x & \text{si } |x| \geq \theta \\ 0 & \text{si } |x| < \theta \end{cases}$$

l'algorithme de débruitage consistera donc à ne choisir que les coefficients supérieurs à un seuil θ , qui sont censés correspondre au signal, et à annuler les autres, qui sont censés correspondre au bruit (voir Figure 4-2-A). La décision de sélectionner ou d'annuler un coefficient donné peut être faite selon un seuil d'amplitude adéquat qui dépend de la variance du bruit (e.g., $\theta = k\sigma$). Les coefficients ainsi modifiés sont utilisés pour reconstruire un signal qui approxime $\hat{f}(t)$ dans les points t_n en utilisant la TOOI ; le résultat de l'algorithme est donc un signal discret $u_n \approx \hat{f}(t_n)$. Le fait de choisir les plus grands coefficients correspond à une approximation non linéaire et à un algorithme de compression des données très efficace (Mallat, 1998).

On peut résumer cette méthode en quatre temps:

1. Transformation en ondelettes (ou transformation en paquets d'ondelettes)
2. Estimation de la variance et autres paramètres du bruit
3. Modification des coefficients par une non-linéarité (dépendant des caractéristiques du bruit)
4. Transformation inverse

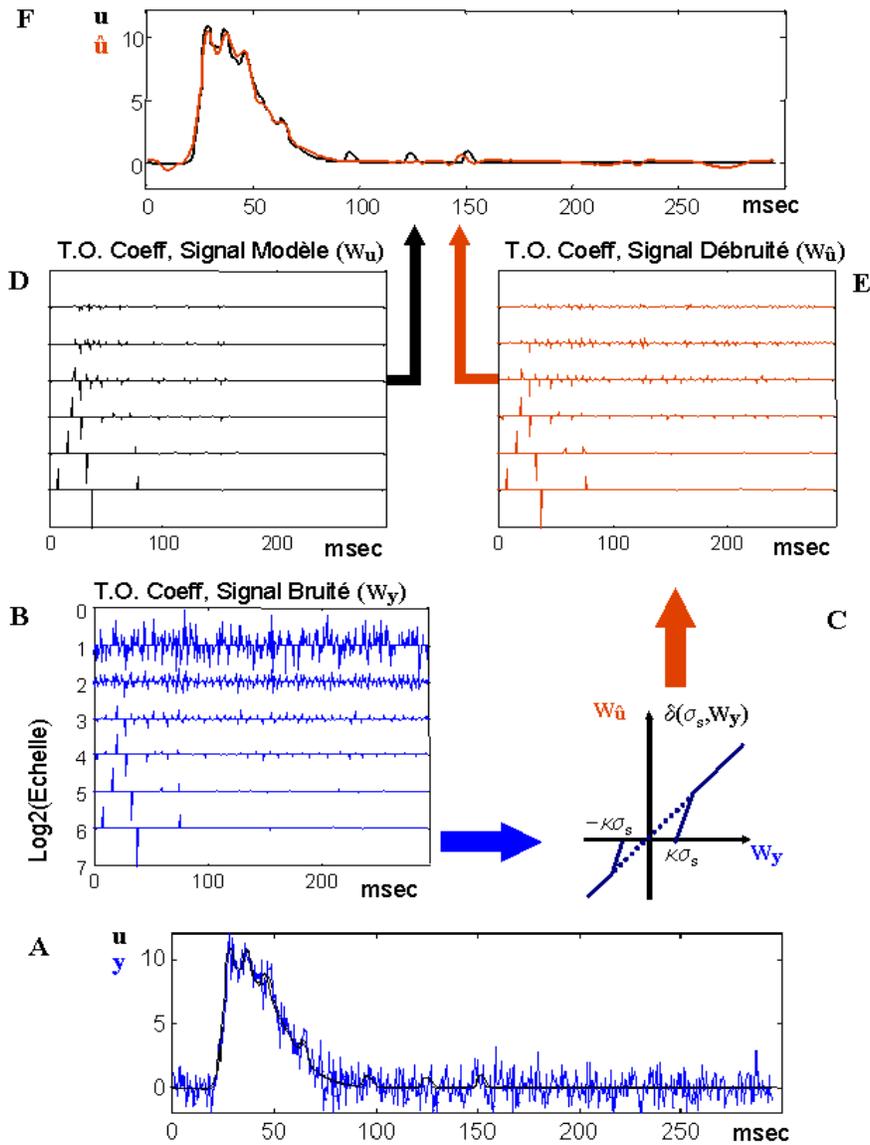


Figure 4-1. Technique de débruitage d'un signal par seuillage des coefficients de la transformée en ondelettes. **A** \rightarrow **B** : Le signal bruité ($y = u + \eta$; $\eta \sim \text{Gauss}(0, \sigma^2)$) est décomposé dans une base d'ondelettes orthonormée. **C** : Les coefficients de cette nouvelle représentation (W_y) sont modifiés par une non-linéarité (δ), qui dépend de la variance du bruit estimée à chaque échelle (σ_s), et l'on obtient la représentation du signal débruité dans la base d'ondelettes ($W\hat{u}$). **E** \rightarrow **F** : Le signal non bruité est reconstruit à partir de $W\hat{u}$. **F** : Comparaison du signal débruité (\hat{u}) et du signal non bruité original (u).

Cette approche permet d'estimer le signal non bruité de façon locale à différentes échelles, grâce à la multirésolution de la transformée en ondelettes, tout en respectant les non-linéarités et la non-stationnarité du signal. Elle permet aussi de séparer le bruit et le signal de façon

heuristique, d'une part en utilisant les connaissances a priori sur la distribution du bruit, et d'autre part grâce au choix de l'ondelette analysante qui permet de tenir compte du type de signal à estimer.

L'immense flexibilité de cet algorithme permet en principe d'obtenir de très bons résultats. Cependant, cette flexibilité introduit aussi un problème de choix : choix de l'ondelette analysante, et de la fonction de modification des coefficients, choix de seuils, etc.

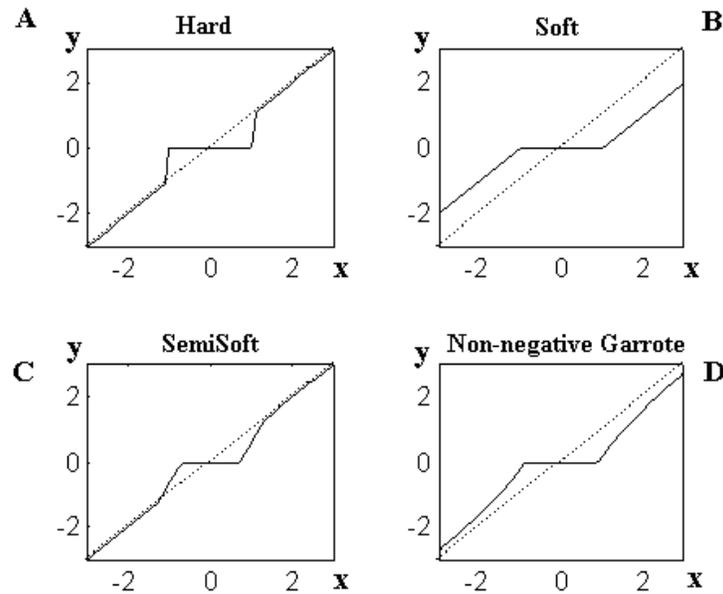


Figure 4-2. Quelques fonctions communément utilisées dans les algorithmes de rétrécissement des coefficients des ondelettes.

La façon la plus simple de modifier les coefficients est d'utiliser une fonction de décision par rapport à un seuil. Si la valeur absolue du coefficient dépasse le seuil, nous le conservons, sinon nous l'annulons (Voir Figure 4-2-A) ; cette méthode est connue par le terme *hard thresholding* (seuillage dur). Une autre façon simple de modifier les coefficients consiste à diminuer leur amplitude par une même quantité et à annuler aussi les coefficients qui ne dépassent pas le seuil (voir Figure 4-2-B) ; cette méthode est connue comme seuillage doux (*soft thresholding*). Plusieurs seuils ont été proposés dans la littérature. En particulier, le seuil « universel » de Donoho ($\theta_N = \sigma\sqrt{2\log(N)}$; N = nombre d'échantillons) est optimal asymptotiquement (i.e, quand $N \rightarrow \infty$) et donne lieu à deux méthodes de débruitage selon le type de seuillage : le *RiskShrink* dans le cas du *soft thresholding* et le *VisuShrink* dans le cas du *hard thresholding* (Donoho & Johnstone, 1994). La définition de ce seuil se base sur le fait que l'amplitude maximale des coefficients de détail, pour un bruit de distribution normale, est plus petite que θ_N avec une très haute probabilité (Donoho, 1993; Donoho, 1995; Donoho & Johnstone, 1994). La manière la plus simple de mettre en œuvre cette procédure est de définir un même seuil pour

toutes les échelles de la décomposition, mais d'un point de vue pratique le seuillage est limité aux résolutions les plus fines et le seuil est calculé pour chaque échelle séparément.

Plusieurs raffinements de cette procédure existent dans la littérature. Par exemple, Gao et Bruce (1995) ont montré que les seuils *hard* et *soft* sont en réalité des extrêmes d'une continuité des fonctions possibles. Ils montrent aussi que des fonctions de seuillage intermédiaires tels que le *semisoft* ou le *non-negative garrote* (voir Figure 4-2-C et Figure 4-2-D) donnent des estimations de meilleure qualité en termes de biais et de variance des courbes estimées (Gao, 1998; Gao & Bruce, 1995). En outre, d'autres manières de choisir le seuil existent, telles que la méthode de validation croisée, qui permet de choisir le seuil à partir des données sans supposer une structure de bruit ni un nombre infini de données (Nason, 1996).

Finalement, le choix de l'ondelette analysante dépend de la connaissance que l'on a du signal étudié et de l'information que l'on veut récupérer. De manière générale, on voudra minimiser le nombre de coefficients qui représentent le signal non bruité ; celui-ci dépend du nombre de moments nuls de l'ondelette, de la taille du support de l'ondelette et de la régularité du signal (voir Mallat (1999)). Si le signal est très régulier, une ondelette d'un grand nombre de moments nuls sera plus adaptée à la tâche. D'autre part, si le signal est plutôt irrégulier, le nombre de coefficients d'amplitude significative sera plus faible pour des ondelettes de petit support. Cependant, pour les ondelettes orthogonales, la taille du support dépend du nombre de moments nuls (si l'ondelette présente p moments nuls, son support sera au moins de longueur $2p-1$) ; ceci implique un compromis entre ces deux paramètres.

D'un point de vue théorique, les méthodes décrites précédemment sont presque optimales dans plusieurs sens, tels que l'adaptabilité spatiale ou l'estimation lorsque l'on a une méconnaissance de la régularité locale et globale de la fonction à estimer. Néanmoins, la plupart de ces méthodes ont été développées sur des hypothèses peu réalistes d'un point de vue pratique telles que la disponibilité d'un nombre infini de données, la distribution Gaussienne du bruit ou l'absence d'une connaissance a priori des propriétés du signal (mis à part son appartenance à un groupe de signaux avec certaines propriétés de régularité ; e.g., classe de Besov). Ce sont des méthodes très générales, et dans un cas pratique elles ne sont pas nécessairement les méthodes les plus performantes (Taswell, 2000). Ainsi, l'utilisation d'une méthode non optimale mais pour laquelle on peut tenir compte de la connaissance a priori des caractéristiques du signal peut donner souvent de meilleurs résultats.

Références : (Donoho, 1993; Donoho, 1995), (Donoho & Johnstone, 1994; Donoho & Johnstone, 1995; Donoho & Johnstone, 1998), (Donoho et al., 1995b), (Bruce & Gao, 1995), (Mallat, 1998; Mallat, 1999).

4.3.2.3 Techniques Bayésiennes

Les techniques présentées précédemment consistent à estimer $u_k = f(t_k)$ à partir des données y_k , en sachant que $u = \{u_k\}_{k=1, \dots, K}$ appartient à une classe de fonctions Θ , et ceci sans que nous ayons une connaissance a priori de la distribution de probabilité de u_k en Θ . Cette estimation peut être réalisée par seuillage avec le seuil universel de Donoho, ou en utilisant un opérateur

non linéaire Δ qui minimise une fonction de risque $r(\Delta, \Theta) = \sup_{u \in \Theta} E\{\|\Delta y - u\|^2\}$, et de manière à ce que $r(\Delta, \Theta)$ soit le plus proche du risque *minimax*, donné par :

$$r_n(\Theta) = \inf_{\Delta \in O_n} r(\Delta, \Theta),$$

où O_n est l'ensemble de tous les opérateurs linéaires et non linéaires de \mathbb{C}^K en \mathbb{C}^K .

Cependant, si nous connaissons la distribution a priori (π) des signaux que nous allons traiter, nous pouvons calculer plutôt le risque de Bayes, donné par :

$$r(\Delta, \pi) = E_{\pi}\{r(D, U)\} = E\{\|U - \Delta y\|^2\}$$

et nous pouvons trouver un Δ qui minimise $r(\Delta, \pi)$:

$$r_n(\pi) = \inf_{\Delta \in O_n} r(\Delta, \pi)$$

où U est un vecteur aléatoire des signaux, avec distribution a priori π , dont u est une réalisation.

En général, l'estimation Bayésienne aura une qualité supérieure à une estimation minimax puisque pour tout $\pi \in \Theta^*$:

$$r(\Delta, \Theta) \leq r(\Delta, \pi), \quad \text{et} \quad r_n(\Theta) = \sup_{\pi \in \Theta^*} r_n(\pi),$$

où Θ^* est l'ensemble de distributions de probabilité de signaux aléatoires qui ont des réalisations en Θ (Mallat, 1999). Un autre avantage des méthodes Bayésiennes sur la méthode de seuillage de Donoho est leur indépendance par rapport au nombre de données.

La théorie d'estimation Bayésienne permet l'introduction dans ce type d'algorithmes de la connaissance que nous avons sur le signal, d'une manière naturelle et réaliste. Plusieurs techniques Bayésiennes existent selon le choix de la distribution *a priori* π , et selon l'opérateur Δ . Nous avons étudié en particulier deux méthodes, la méthode *BAMS* (Bayesian Adaptive Multiresolution Smoother) de Vidakovic et Ruggeri, et la méthode *Decompshrink* de Huang et Cressie (Huang & Cressie, 2000; Vidakovic, 1998; Vidakovic & Ruggeri, 2001).

4.3.2.3.1 La méthode de Vidakovic (BAMS), règles et facteurs de Bayes

La plupart des méthodes de débruitage se basent sur l'hypothèse que le signal est représenté dans l'espace (orthonormal) des ondelettes par un nombre réduit de coefficients ($\theta_{j,k}$) de valeur significative et de moyenne zéro, et un grand nombre de coefficients nuls, tandis que le bruit est représenté par des variables aléatoires de distribution Gaussienne. Les différentes techniques de débruitage Bayésien proposent différentes distributions *a priori* des coefficients, qui modélisent cette hypothèse. Par exemple, $\theta_{j,k} \sim \pi_j N(0, \sigma_j^2) + (1 - \pi_j) \delta(0)$ (où chaque $\theta_{j,k}$ est normalement

distribué avec probabilité π_j , où zéro avec probabilité $(1 - \pi_j)$, (Abramovich & Sapatinas, 1999) est une manière relativement simple de modéliser l'hypothèse sur les $\theta_{j,k}$.

Vidakovic a proposé une méthodologie de calcul des règles bayésiennes de rétrécissement des coefficients de la TOO (Vidakovic, 1998; Vidakovic & Ruggeri, 2001). Chaque coefficient est traité de manière indépendante, étant donné que la TOO a tendance à décorréler les signaux. On notera de manière générale w et θ , pour les coefficients bruités et non bruités, respectivement.

La distribution du bruit est, comme d'habitude, la distribution Gaussienne :

$$[w|\theta, \sigma^2] \sim N(\theta, \sigma^2)$$

La distribution a priori de la variance du bruit est modélisée par une loi exponentielle, de densité :

$$f(\sigma^2, \mu) = \mu \exp(-\mu \sigma^2), \quad \mu > 0$$

où l'hyperparamètre μ est estimé à partir des coefficients du détail de la TOO à la résolution la plus fine comme $\mu = (1/\sigma_e)^2$, avec $\sigma_e = 1.5/|Q_1 - Q_3|$ un estimateur robuste de σ . A partir de $f(w|\theta, \sigma^2)$ et de $f(\sigma^2, \mu)$ on obtient la distribution marginale de w , par rapport à θ . Celle-ci est donc modélisée par une loi exponentielle double $DE(\theta, 1/\sqrt{2\mu})$ de densité :

$$f(w | \theta) \sim \frac{1}{2} \sqrt{2\mu} \exp(-\sqrt{2\mu} |w - \theta|)$$

Vidakovic recommande de modéliser les coefficients non bruités par une distribution a priori double exponentielle, au lieu de la distribution normale, plus un $\delta(0)$ de façon à forcer la règle de rétrécissement :

$$[\theta | \pi_j] \sim (1 - \pi_j) DE(0, \tau) + \pi_j \delta(0)$$

où les paramètres τ et π_j sont estimés à partir de la TOO des données (voir (Vidakovic & Ruggeri, 2001)).

Ensuite la distribution a posteriori de w est calculée selon :

$$g(w) = \int_{\theta} f(w|\theta) f(\theta) d\theta$$

et finalement, les θ sont estimés selon la loi de Bayes par :

$$\hat{\theta} = \int_{\theta} \theta g(\theta|w) d\theta = \int_{\theta} \theta \frac{f(w|\theta) f(\theta)}{g(w)} d\theta$$

Voir (Vidakovic & Ruggeri, 2001) pour les détails du calcul et de l'expression de $\hat{\theta}$.

4.3.2.3.2 La méthode de Huang et Cressie (Decompshrink), décomposition stochastique :

Dans l'approche proposée par Huang et Cressie (Huang & Cressie, 2000), le signal observé $z(t)$ est modélisé par un processus stochastique noyé dans un bruit gaussien. En ce cas, les coefficients de détail de la TOO du signal observé $\mathbf{w} = \{w_{j,k}\}_{j=J_0, \dots, J; k=0, 1, 2^j-1}$ n'ont pas une distribution centrée, au contraire de la plupart des approches. La distribution de \mathbf{w} est donnée par :

$$P(\mathbf{w}|\boldsymbol{\beta}, \sigma^2) = \text{Gauss}(\boldsymbol{\beta}, \sigma^2 \mathbf{I}),$$

où l'on suppose une distribution a priori pour les coefficients de la transformée du signal non bruité $\boldsymbol{\beta} = \{\beta_{j,k}\}_{j=J_0, \dots, J; k=0, 1, 2^j-1}$ donnée par :

$$P(\boldsymbol{\beta}|\boldsymbol{\mu}, \boldsymbol{\theta}) = \text{Gauss}(\boldsymbol{\mu}, \text{Cov}(\boldsymbol{\theta})),$$

La composante $\boldsymbol{\mu} = \{\mu_{j,k}\}_{j=J_0, \dots, J; k=0, 1, 2^j-1}$ représente la « structure » déterministe du signal, tandis que $\text{Cov}(\boldsymbol{\theta})$ est la matrice de covariance de la composante stochastique $\boldsymbol{\eta}$:

$$\boldsymbol{\beta} = \boldsymbol{\mu} + \boldsymbol{\eta}, \quad P(\boldsymbol{\eta}, \boldsymbol{\theta}) = \text{Gauss}(0, \text{Cov}(\boldsymbol{\theta})).$$

Les coefficients du signal débruité sont estimés selon la règle de rétrécissement Bayésienne :

$$\hat{\boldsymbol{\beta}} = \hat{\boldsymbol{\mu}} + \text{Cov}(\hat{\boldsymbol{\theta}})(\text{Cov}(\hat{\boldsymbol{\theta}}) + \hat{\sigma}^2 \mathbf{I})^{-1}(\mathbf{w} - \hat{\boldsymbol{\mu}})$$

Cependant, dans ce cas cette règle n'est pas complètement Bayésienne, puisque σ , $\boldsymbol{\mu}$, et $\text{Cov}(\boldsymbol{\theta})$ sont estimés à partir des données.

Le problème d'estimation de la variance est très important pour obtenir de bons résultats, et nous allons le discuter en détail dans la section 4.3.3.1. Les coefficients de la composante déterministe $\boldsymbol{\mu}$ sont estimés de manière indépendante par une règle de seuillage qui dépend de la dispersion des $w_{j,k}$ à chaque niveau de la décomposition de la TOO, et de leur distance à distribution normale :

$$\hat{\mu}_{j,k} = \begin{cases} \frac{r_{j,k}^2}{\tau_j^2 + r_{j,k}^2} w_{j,k} & \text{si } |w_{j,k}| > \lambda_j \\ 0 & \text{si } |w_{j,k}| \leq \lambda_j \end{cases}$$

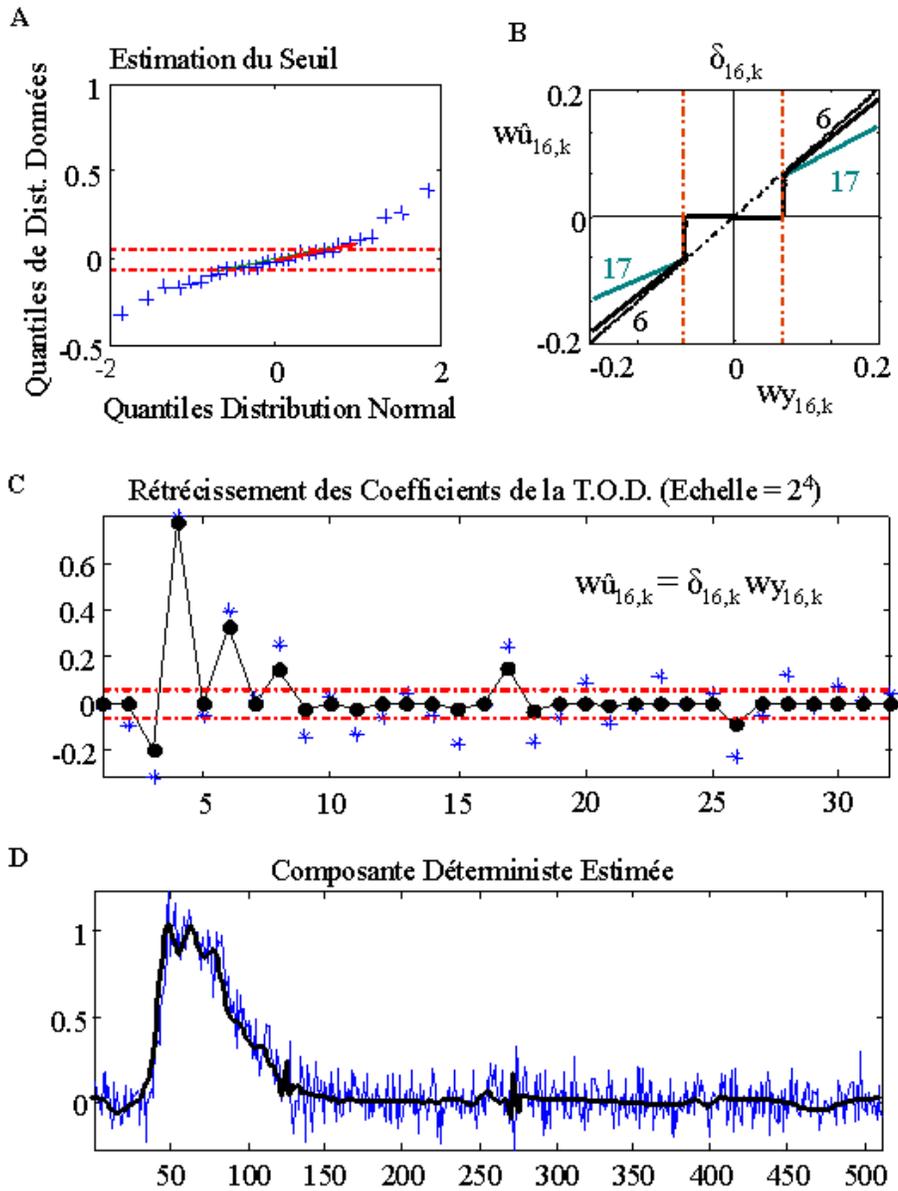


Figure 4-3. Estimation de la composante déterministe dans la méthode de Huang et Cressie. **A** : Le seuil est estimé à chaque échelle en fonction de la déviation de la distribution des coefficients par rapport à la distribution normale. **B,C** : Si un coefficient dépasse le seuil (rouge) il est rétréci, dans le cas contraire il est éliminé. **D** : Composante déterministe estimée après le rétrécissement des coefficients des quatre premières échelles de la décomposition en TOO (noir) et signal bruité original (bleu).

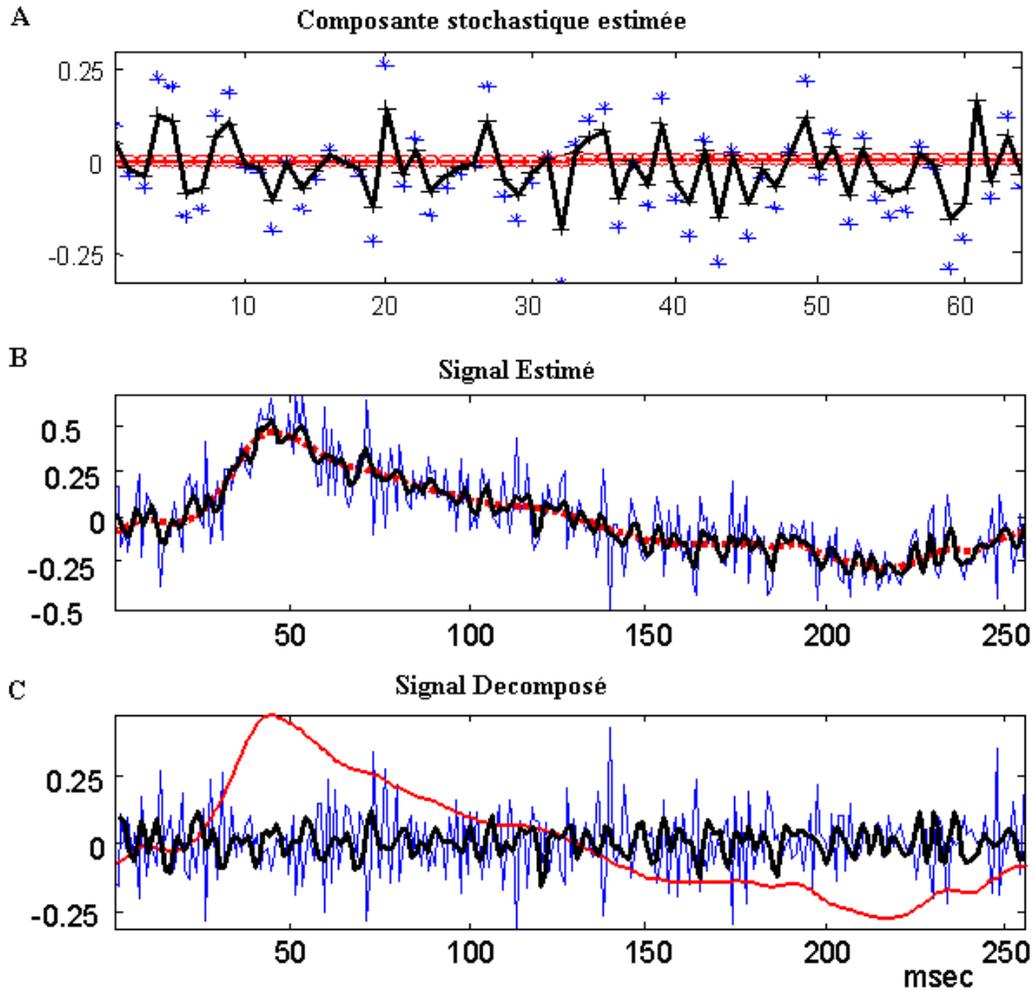


Figure 4-4. **A :** Correction des coefficients à chaque échelle afin de récupérer la composante stochastique du signal selon le modèle de Huang et Cressie (en bleu les coefficients avant correction, en noir après correction). **B :** Superposition du signal bruité (bleu), du signal débruité (noir) et de la composante déterministe estimée (rouge). **C :** Décomposition du signal dans ses trois composantes : le bruit (bleu), la composante déterministe (rouge) et la composante stochastique (noir).

où $\tau_j^2 = \text{mediane}(|w_{j,k}|)/0.6745$, est la valeur estimée de la dispersion des données au niveau j , et λ_j est le seuil estimé au même niveau (voir Figure 4-3-A):

$$\lambda_j = \tau_j^2 \max(|q_{j,k}| : |w_{j,k}| < \tau_j^2 |q_{j,k}|)$$

Cette règle est donc une règle composée, de seuillage et de rétrécissement, où le rétrécissement correspond à un filtre de Wiener pour chaque coefficient (voir Figure 4-3-B,C,D).

Ensuite $Cov(\boldsymbol{\theta})$ est estimé selon un estimateur de maximum de vraisemblance à partir de la distribution marginale des données, avec *plug-in* des valeurs estimées de $\hat{\sigma}$ et $\hat{\mu}$. Selon le modèle que l'on pose pour $\boldsymbol{\eta}$, diverses méthodes d'estimation de $\boldsymbol{\beta}$ peuvent être construites. La méthode la plus simple consiste à supposer que les $\eta_{j,k}$ sont indépendants dans chaque échelle et d'une échelle à l'autre. Ainsi, le problème se réduit à calculer pour chaque échelle : $v_j^2 = var(\{\eta_{j,k}\}_k)$.

Finalement, $\boldsymbol{\beta}$ est estimé par :

$$\hat{\beta}_{j,k} = \hat{\mu}_{j,k} + \frac{v_j^2}{v_j^2 + \hat{\sigma}_{j,k}^2} (w_{j,k} - \hat{\mu}_{j,k})$$

Cette méthode, qui a pour nom « Decompsrink I », est celle que nous avons implémentée, pour les détails voir (Huang & Cressie, 2000).

4.3.2.4 Techniques de seuillage/rétrécissement des coefficients de la TODIT

Certains problèmes d'estimation (e.g. phénomènes de « pseudo-Gibbs », élimination des fluctuations appartenant au signal et pas au bruit) peuvent se présenter quand on utilise les techniques de débruitage basées sur la TOO. Ces problèmes sont dus à la non-invariance par translation qui résulte de la décimation de la TOO ; ils ne sont pas exclusifs à la TOO mais aussi aux décompositions dans des bases d'ondelettes biorthogonales ou dans toute autre transformée non invariante par translation. Une manière de résoudre ces problèmes est donc de réaliser le seuillage/rétrécissement des coefficients d'une transformée en ondelettes invariante par translation (TODIT) (Berkner & Wells, 1998 ; Lang et al., 1996 ; Pan et al., 1999), ou de manière équivalente, de moyenner le résultat du seuillage/rétrécissement des coefficients des TOO de plusieurs copies translattées du signal (Coifman & Donoho, 1995).

Les techniques de débruitage par rétrécissement/seuillage des coefficients de la TOO ont été conçues selon l'hypothèse que les coefficients dus à un bruit de distribution normale sont indépendants et normalement distribués, c'est pourquoi on ne s'intéresse qu'à sa distribution lors de la détermination des seuils optimaux. Néanmoins, ces seuils ne sont plus optimaux si ces coefficients sont corrélés, comme c'est le cas lorsque l'on utilise la TODIT. L'utilisation des seuils optimaux correspondant à la TOO pour traiter les coefficients de la TODIT résulte en une régularisation excessive du signal. Dans ce dernier cas, la détermination des seuils optimaux doit prendre en compte les corrélations entre les coefficients introduites par la redondance de cette représentation.

Berkner & Wells (1998) et Lang et al. (1996) ont étudié le problème de détermination des seuils dans le cas de la TO dyadique (D2WT) et de l'algorithme « à-trous » ; leur raisonnement est similaire à celui utilisé par Donoho pour déterminer le seuil « universel » dans le cas de la TOO (voir section 4.3.2.2). Le seuil obtenu ($\theta_{L,phi,N} = \sigma \sqrt{2^*(1 + \delta_{L,\phi}) \log((L+1)N)}$) dépend de la structure de corrélation de la D2WT par le biais du terme $\delta_{L,\phi}$ qui est fonction de l'ondelette analysante utilisée. Le seuil $\theta_{L,phi,N}$ dépend aussi de la redondance de la représentation (qui est

fonction du nombre d'échelles dans la décomposition : L), de la variance du bruit (σ) et de la longueur du signal (N) ; en général $\delta_{L,\phi} > 0$, et $L > 1$, et donc : $\theta_{L,\phi,N} > \theta_N$. Berkner et al. ont déterminé $\theta_{L,\phi,N}$ pour les filtres « à-trous » de Lagrange (Shensa a montré que ces filtres sont équivalents à l'autocorrélation des filtres de Daubechies (Shensa, 1992)) ; ils ont montré une nette amélioration dans l'estimation des signaux, introduite par cette technique, par rapport au seuillage « universel » de la TOO avec les ondelettes de Daubechies. Néanmoins, cette approche présente les mêmes problèmes que l'approche de Donoho dans un cas pratique quand le nombre d'échantillons est fini (voir 4.3.2.2), puisqu'il se base sur l'hypothèse de la disponibilité d'un nombre infini de données.

Des procédures plus performantes existent ; on peut mentionner en particulier la méthode de filtrage multiéchelle proposé par Starck & Murtagh (1999) qui se base sur une mesure entropique de l'information qui correspond au signal par rapport à l'information qui correspond au bruit dans chaque coefficient de la TODIT. Cette technique est indépendante du nombre de données, mais dépend des caractéristiques du signal ; le traitement de chaque coefficient est fait de manière indépendante, échelle par échelle, avec un algorithme de minimisation d'entropie. Selon les auteurs, cette technique donne des très bons résultats ; cependant, les temps de calcul peuvent être importants puisqu'il faut réaliser une optimisation pour chaque coefficient, et une recherche des paramètres de régularisation pour chaque échelle.

4.3.2.5 *Autres techniques*

La plupart des algorithmes de débruitage par ondelettes sont issus de l'approche proposée par Donoho (Donoho, 1993). Ces techniques suivent toujours la même méthodologie de base (TOO \rightarrow seuillage/rétrécissement \rightarrow TOOI), et les variations plus importantes se trouvent dans la forme de la fonction de seuillage/rétrécissement. Cependant, il faut mentionner que Mallat et Hwang ont eu l'idée d'éliminer la contamination des signaux par un bruit gaussien à partir d'un traitement non linéaire des coefficients de la transformée en ondelettes, probablement avant Donoho (Mallat & Hwang, 1992). La méthode de Mallat consiste à détecter et caractériser les singularités de la fonction recherchée dans sa D2WT (transformée dyadique), en les discriminant des singularités qui correspondent au bruit, et finalement à effectuer la reconstruction de la fonction recherchée à partir des seuls maxima locaux correspondant au signal. La reconstruction exacte ne peut être toujours réalisée, mais il existe plusieurs algorithmes qui permettent d'obtenir des approximations (Mallat, 1999). L'approche de Mallat et al. a l'avantage sur celle de Donoho (dans le cadre du traitement du signal) d'être invariante par translation (grâce à l'utilisation de la TOD2) ; néanmoins, la simplicité de l'approche de Donoho et la parcimonie de la représentation obtenue avec la TOO font que cette dernière approche est plus populaire. Cependant, l'approche proposée par Mallat et Hwang continue à être étudiée et de nouvelles méthodes de débruitage basées sur la détection de singularités ont été récemment proposées. On peut mentionner en particulier l'approche de (Hsung et al., 1999), qui propose une combinaison entre le principe de détection de singularités de Mallat et celui du seuillage des coefficients proposé par Donoho, ce qui résulte en un algorithme plus performant que celui de ses deux précurseurs. Nous n'avons pas eu le temps d'étudier cette approche dans le cadre de nos expériences, mais c'est une piste intéressante d'approfondir par la suite.

Par souci de ne rien omettre, on peut mentionner une autre technique de débruitage non linéaire développée par Chung et Kennedy (Chung & Kennedy, 1991) pour traiter des signaux biologiques. Ils proposent un algorithme ad hoc pour l'estimation d'événements biologiques transitoires (voir l'Annexe 2, section 9.11.1, pour les détails de cet algorithme). Cette technique a été utilisée par Litaudon et al. (1995) pour l'élimination du bruit et pour l'estimation de l'activité corticale à partir des signaux de fluorescence. Même si cette technique est capable de récupérer l'activité neuronale et de rejeter le bruit, tout en respectant les détails du signal, elle présente aussi quelques inconvénients qui rendent son utilisation déconseillée dans un cadre plus général. Cette technique a été conçue spécifiquement pour récupérer des transitoires dans des signaux de comportement assez agité et dominés par le bruit. Ce type de comportement est typique aux échelles microscopiques, dans ce cas on s'intéresse aux sauts presque instantanés de l'amplitude du signal tels que l'ouverture des canaux ioniques ou les courants postsynaptiques. Cependant, les signaux d'activité corticale obtenus grâce à la technique de fluorescence représentent l'activité postsynaptique des grandes populations de neurones, où l'intégration spatiale des activités microscopiques a tendance à adoucir les transitoires, et où la dynamique des réseaux est supposée produire d'autres phénomènes tels que des oscillations rapides. Finalement, même si l'algorithme est censé être adaptable à d'autres situations par un changement de paramètres (Chung & Kennedy, 1991), sa phase est imprévisible, et selon Litaudon et al. (1995) la sensibilité de l'algorithme au choix des paramètres provoque des discontinuités et des distorsions dans le signal estimé. En conclusion, même si cet algorithme est intéressant lorsque l'on étudie des signaux agités à l'échelle microscopique, les problèmes qu'il peut introduire (distorsion, déphasage, discontinuités) limitent son utilité lorsque l'on a besoin d'estimer avec précision l'occurrence d'événements importants dans le signal optique.

4.3.3 Débruitage des signaux de fluorescence : mise en œuvre des algorithmes

Nous allons comparer la qualité des estimations obtenues avec deux méthodes Bayésiennes de rétrécissement de la TOO : *Decompshrink I* et *BAMS*. Nous avons étudié aussi d'autres algorithmes non Bayésiens (VISU hard et soft et SURE) ; cependant, nous n'allons pas montrer ces analyses ici étant donné la qualité nettement supérieure des résultats obtenus avec les algorithmes Bayésiens (pour une étude comparative des approches Bayésiennes et non Bayésiennes voir (Huang & Cressie, 2000; Vidakovic, 1998; Vidakovic & Ruggeri, 2001)).

Le signal d'activité neuronale que l'on souhaite récupérer n'est pas un signal déterministe, des fluctuations aléatoires dans l'activité du cortex peuvent se produire et ces fluctuations peuvent contenir de l'information sur le processus de perception que l'on veut étudier (voir chapitre 4, section 3.2.1). D'un autre côté, nous avons vu dans la section 2.3.1 que le bruit instrumental peut être modélisé par un vecteur aléatoire de distribution Gaussienne non corrélé. Nous avons donc supposé que toute composante aléatoire corrélée fait partie du signal que l'on veut estimer. Ainsi, parmi les algorithmes étudiés, la méthode de décomposition déterministe/stochastique (Huang & Cressie, 2000) nous a semblé, dans un premier temps, la plus appropriée pour estimer notre signal d'activité neuronale. Cependant, cette méthode dépend d'une estimation précise de

la variance de la composante non corrélée du signal observé ; nous allons traiter ce sujet dans la section suivante.

4.3.3.1 Estimation de la variance du bruit

Le paramètre le plus important dans l'implémentation de la plupart des algorithmes de seuillage ou de rétrécissement des coefficients de la TOO est la valeur de la variance du bruit que l'on veut éliminer. Il est souvent supposé que le bruit est non corrélé et que sa variance est connue ou que l'on peut l'estimer avec précision à partir des données. Cependant, certains algorithmes dépendent fortement des erreurs d'estimation de ce paramètre.

Ces algorithmes d'élimination du bruit se basent sur l'hypothèse que la fonction à estimer est régulière, et que le bruit est additif, non corrélé, de distribution gaussienne. Selon cette hypothèse, les coefficients de détail de la TOO d'un signal bruité présentent une distribution particulière dans les échelles fines, avec une partie centrale proche de la distribution gaussienne (correspondant aux coefficients de la transformée du bruit) et des longues queues (les valeurs extrêmes représentant les coefficients de la transformée du signal). Ces valeurs extrêmes ne font pas partie du bruit, mais si l'on estime la variance du bruit avec la variance empirique à partir des données, ces valeurs extrêmes faussent l'estimation ; c'est pourquoi il est nécessaire d'estimer la variance avec un algorithme plus robuste. L'estimateur robuste le plus couramment utilisé pour estimer la variance des coefficients de détail de la transformée en ondelettes est le MAD (*Median Absolute Deviation*), son utilisation a été proposée par Donoho et al. dans le cadre de l'estimation d'une fonction régulière noyée dans un bruit gaussien (Donoho & Johnstone, 1994). En effet, la valeur espérée de la médiane d'un ensemble $X=\{x_p\}$ de P variables indépendantes de distribution normale ($N(0, \sigma)$) est donnée par (Mallat, 1999):

$$E[\text{Med}(X)] \approx 0.6745\sigma$$

ce qui permet d'obtenir un estimateur robuste (et non biaisé pour un bruit de distribution normale) de l'écart type donné par :

$$\hat{\sigma}_{mad} = \text{MAD}(X) = \text{Med}(|X - \text{Med}(X)|) / 0.6745$$

La plupart des algorithmes de seuillage et/ou de rétrécissement des coefficients ont été développés sous cette hypothèse trop idéale d'un bruit additif non corrélé. Néanmoins, dans le cas des données réelles de l'activité corticale cette hypothèse est difficilement vérifiée. Par exemple, dans la Figure 4-6 on observe deux cas extrêmes du bruit corrélé et non corrélé, issus des enregistrements de l'activité sur le cortex d'un animal mort (on suppose que le signal enregistré représente le bruit introduit par les instruments, et éventuellement d'autres fluctuations dues à l'activité biologique résiduelle ou à d'autres sources ; voir le chapitre 3, section 2.3.1). A gauche (A) la fonction de covariance du bruit observé dans un site de mesure, obtenu pendant un enregistrement quelconque, montre que le bruit est décorrélé ; à droite (B), la fonction de covariance du bruit observé dans un autre site pendant le même enregistrement montre au contraire un bruit corrélé. A noter qu'il est très difficile d'obtenir le même type de bruit dans deux sites de mesure différents pour un même enregistrement, sa distribution peut

varier énormément d'un site à l'autre sur l'ensemble des sites de mesure, ceci pour les cas où l'enregistrement est fait avec la lumière d'excitation pour le colorant. Dans le cas contraire, si la lumière d'excitation est éteinte et que par conséquent le colorant n'est pas stimulé, les statistiques du bruit mesuré sont beaucoup moins variables (voir le chapitre 3, section 2.3.1).

L'estimateur MAD ne semble pas être approprié à cette tâche puisqu'il ne peut pas différencier les coefficients de détail de la TOO dus au bruit et les coefficients dus aux composantes stochastiques de l'activité neuronale ; cet estimateur surestime donc la variance du bruit. Afin d'estimer de manière précise la variance du bruit dans les coefficients de détail de la TOO, Huang et Cressie (2000) proposent un nouvel estimateur de la variance au lieu du MAD. La méthode se base sur le calcul du semivariogramme des coefficients de détail de la TOO à chaque échelle pour $\tau \neq 0$; le semivariogramme ($\gamma(\tau)$) du signal observé s'écrit de la manière suivante :

$$\gamma(\tau) \equiv \text{var}(Y_{t+\tau} - Y_t) / 2 = \begin{cases} \sigma^2 + C(0) - C(\tau), & \text{si } \tau \neq 0 \\ 0, & \text{si } \tau = 0 \end{cases}$$

où Y_t est le signal observé, $C(\tau)$ est la covariance du signal qu'on veut récupérer ($S(t)$) et :

$$\text{cov}(Y_t, Y_{t+\tau}) = \begin{cases} C(0) + \sigma^2, & \text{si } \tau = 0 \\ C(\tau), & \text{si } \tau \neq 0 \end{cases}$$

L'extrapolation de $\gamma(\tau)$ dans $\tau = 0$ sert à estimer la variance de la composante non corrélée puisque :

$$\gamma(\tau) \longrightarrow \sigma^2 \text{ quand } \tau \longrightarrow 0.$$

L'estimateur de Huang et Cressie est donné par :

$$\hat{\sigma}_{\text{svag}} = \begin{cases} \sqrt{\frac{k_2 \hat{\gamma}(k_1) - k_1 \hat{\gamma}(k_2)}{k_2 - k_1}}, & \text{si } k_2 \hat{\gamma}(k_1) \geq k_1 \hat{\gamma}(k_2) \geq k_1 \hat{\gamma}(k_1) \\ \sqrt{\frac{\hat{\gamma}(k_1) + \hat{\gamma}(k_2)}{2}}, & \text{si } \hat{\gamma}(k_2) < \hat{\gamma}(k_1) \\ 0 & \text{en tout autre cas} \end{cases}$$

pour $k_2 > k_1 > 0$ (e.g., $k_1=1$ et $k_2=2$), et pour $\hat{\gamma}(\tau) = \frac{1}{2}(\text{MAD}(Y_{t+\tau} - Y_t))^2$

Selon Huang et Cressie, cet estimateur est beaucoup moins biaisé que l'estimateur MAD pour la plupart des signaux de test qu'ils ont utilisés (i.e. signaux purement déterministes et signaux composés par une partie déterministe et un processus AR de premier ordre, noyés dans un bruit blanc de distribution normale). Il faut noter que leurs résultats ont été obtenus sur des signaux peu bruités ($\text{RSB} = (C(0))^2 / \sigma^2 = 49$), beaucoup moins bruités que les signaux obtenus avec la technique de fluorescence ($\text{RSB} \approx 1$). Nous avons donc testé ces deux méthodes d'estimation de variance pour la méthode *Decompshrink I*.

4.3.3.2 Extraction des fluctuations d'origine neuronale

Un autre problème que nous avons étudié est celui de l'extraction des fluctuations où oscillations faibles et rapides d'origine neuronale qui sont masquées par le bruit des instruments. Comme nous avons indiqué dans la section 3.2.3, le signal $L_{\Delta F}/F$ n'est pas régulier globalement, et sa régularité locale dépend du processus neuronal sous-jacent. De plus, comme nous avons discuté dans les sections 3.3 et 3.4, la présence de fluctuations rapides et très localisées peut indiquer l'occurrence d'événements neuronaux importants, corrélés aux processus perceptifs ou cognitifs. C'est pourquoi nous voulions récupérer la totalité du signal utile avec ses fluctuations (que nous avons appelé événements unitaires), de manière à les caractériser et à les étudier ultérieurement. L'utilisation de la technique de décomposition stochastique/déterministe proposée par Huang et Cressie s'avère donc très utile pour représenter et récupérer les fluctuations du signal.

Néanmoins, en général les techniques d'élimination de bruit par ondelettes basées sur la TOO présentent aussi des problèmes dans la représentation et récupération de ce type d'événement. Ces problèmes sont dus principalement à la représentation sous-optimale des transitoires (par rapport au nombre des coefficients qui les représentent), mais aussi aux erreurs d'approximation dans les environs des singularités. La nuisance de ces problèmes est plus importante quand ces transitoires et ces singularités ne sont pas alignées proprement par rapport à la base d'ondelettes analysantes de la TOO.

Il se présente donc deux cas différents, mais connexes : d'une part, si un événement unitaire se produit en décalage par rapport à deux ondelettes de la base analysante, à une échelle proche de la sienne, il sera représenté par deux coefficients de la TOO au lieu d'un seul, et son énergie sera donc partagée entre ces deux coefficients, de sorte qu'il sera plus difficile de discriminer les amplitudes des coefficients qui correspondent au bruit de ceux qui correspondent aux fluctuations. Ainsi, alors que des événements neuronaux importants peuvent se manifester par des fluctuations faibles mais relativement importantes par rapport à la variance du bruit, s'ils sont mal localisés par rapport aux ondelettes analysantes, ils seront probablement éliminés. D'autre part, ces algorithmes produisent souvent des artefacts qui peuvent être faussement interprétés comme des événements unitaires.

Ces problèmes ont une relation directe avec la non-invariance par translation de la TOO ; une manière d'améliorer la représentation des événements unitaires serait de décomposer le signal par une TODIT et de réaliser le seuillage de ses coefficients au lieu d'utiliser la TOO. Cependant, vu les bons résultats obtenus avec la méthode *decompshrink* par rapport aux autres techniques étudiées, et vu la difficulté que supposait l'adaptation de cette technique à la TODIT, nous avons choisi de retenir cette technique et de traiter le problème d'estimation des fluctuations avec une technique plus simple.

4.3.3.3 Correction du biais des estimateurs : « Itération et translation »

Au lieu d'utiliser l'algorithme de débruitage basé sur la TODIT, ce qui est équivalent à débruiter la TOO pour toutes les translations circulaires du signal et à calculer la moyenne empirique, nous avons développé une procédure itérative, ad hoc, plus simple et assez efficace, basée sur le même principe. Les données ($\mathbf{Z} = \mathbf{S} + \mathbf{B}$; où $\mathbf{B} \sim \text{Gauss}(0, \sigma\mathbf{I})$) sont débruitées par une des méthodes de rétrécissement/seuillage des coefficients de la TOO mentionnée auparavant, ce qui donne une première estimation ($\mathbf{S}^1 = D(\mathbf{Z})$, où D est l'opérateur non linéaire de débruitage). Ensuite, les résidus ($\mathbf{R}^1 = \mathbf{Z} - D(\mathbf{Z})$) sont décalés d'un échantillon à droite (ou à gauche) et sont débruités. Le résultat est décalé d'un échantillon dans le sens inverse puis accumulé avec la première estimation : $\mathbf{S}^2 = \mathbf{S}^1 + \xi(D(\xi(\mathbf{R}^1, 1), -1))$, où $\xi(\cdot, i)$ est l'opérateur de translation circulaire et i est le nombre d'échantillons de décalage à droite (+) ou à gauche (-). Cette procédure est appliquée à nouveau k fois, ce qui donne l'algorithme suivant :

$$\mathbf{S}^0 = 0$$

$$\mathbf{R}^0 = \mathbf{Z}$$

$$\mathbf{S}^k = \mathbf{S}^{k-1} + \xi(D(\xi(\mathbf{R}^{k-1}, k-1), -(k-1)))$$

$$\mathbf{R}^k = \mathbf{R}^{k-1} - \xi(D(\xi(\mathbf{R}^{k-1}, k-1), -(k-1))), \quad k = 1, 2, \dots, K;$$

Cette simple technique se montre assez efficace pour la réduction du biais des estimateurs. De manière générale (pour des signaux modèles), le biais de l'estimation est bien corrigé, des fluctuations très faibles par rapport au bruit sont bien récupérées et les résidus sont mieux décorrélés. Bien que les propriétés de cet estimateur n'aient pas été étudiées de manière théorique, les tests empiriques réalisés pendant cette étude ont montré que d'une manière générale l'algorithme converge rapidement, en quelques itérations (1 à 3).

Néanmoins, étant donné qu'à chaque itération la variance est recalculée sur les résidus de l'itération antérieure, cette technique a tendance à augmenter la variance des courbes estimées. Nous avons résolu ce problème en ne calculant qu'une seule fois la variance, dans la première itération. Cette valeur est ensuite utilisée dans les itérations suivantes.

L'idée de corriger le biais par itération de l'estimation n'est certainement pas nouvelle ; il existe des études à ce propos⁴. Elle a été étudiée d'un point de vue théorique par Stuetzle & Mittal (1979), qui lui ont donné le nom de « twicing » et qui ont montré que c'était une manière effective de diminuer le biais d'un estimateur. De plus, il a été montré récemment, dans le cas des estimateurs non paramétriques par noyau, que parmi les techniques de correction de biais plus utilisées la technique de *twicing* est celle qui donne des estimateurs moins variables asymptotiquement (Kauermann et al., 1998). Dans ce cas, l'incrément dans la variance de l'estimateur avec ce type de correction du biais est indépendant du problème, elle dépend uniquement du noyau de l'estimateur. Néanmoins, il n'existe pas, à ma connaissance, des études

⁴ Néanmoins, je n'avais pas pris connaissance de ces études au moment d'implémenter l'algorithme. Je remercie le Professeur Anestis Antoniadis de m'avoir dirigé postérieurement vers la littérature à ce sujet.

sur l'application de cette technique aux méthodes d'estimation par seuillage/rétrécissement de la TO.

4.3.3.4 Problèmes de déphasage

Un problème que présente ce type d'algorithmes est celui du déphasage introduit par les filtres miroirs conjugués, utilisés dans les bancs des filtres à reconstruction parfaite qui servent à décomposer le signal dans la base d'ondelettes orthogonale. Bien que ce déphasage ne soit pas très important lorsque l'on s'intéresse à l'estimation du signal à partir des données bruitées, il représente un problème lorsque l'on s'intéresse à l'estimation précise des latences ou des durées d'événements dans le signal estimé. En particulier, lorsque l'on s'intéresse à la caractérisation d'événements rapides superposés à un signal plus lent, tels que les fluctuations transitoires du potentiel de membrane que l'on a appelé « événements unitaires » dans la section 3.3, on est obligé de tenir compte de ce déphasage. Même si l'on arrivait à récupérer et à détecter un événement unitaire masqué par le bruit, il pourrait être difficile d'estimer sa localisation exacte à partir de la décomposition dans l'espace généré par la base d'ondelettes.

Ce déphasage dépend de l'ondelette utilisée. La seule manière de l'éviter est d'utiliser des filtres qui présentent une phase linéaire. Cependant, le seul filtre miroir conjugué, réel, de support compact, avec une phase linéaire est le filtre de Haar ($\phi = \mathbf{1}_{[0,1]}$); mis à part ce cas, il est impossible d'obtenir une phase linéaire à partir des fonctions d'échelle de support compact (Daubechies, 1992). De plus, l'ondelette de Haar n'est pas adaptée à l'approximation des fonctions régulières étant donné qu'elle n'a qu'un seul moment nul. Par contre, il est possible d'obtenir des filtres de phase presque linéaire (« symmlets » de Daubechies), et dans certains cas des corrections peuvent être réalisées sur les filtres de manière à obtenir une phase presque nulle (McCoy et al., 1995).

Cependant, comme on l'a vu précédemment, ce problème n'est pas gênant dans le cadre du débruitage, mais il est gênant si l'on ne veut pas seulement restaurer ces événements mais également les détecter et les caractériser. Nous avons donc séparé les deux problèmes (élimination de bruit / détection et caractérisation des événements unitaires). Le deuxième problème a donc été traité en dehors du cadre du débruitage, il est présenté dans la section 4.4.

4.3.3.5 Choix de l'ondelette

Le choix du type d'ondelette orthogonale n'a pas un rôle déterminant dans la qualité des courbes estimées. Néanmoins, nous avons choisi d'utiliser des ondelettes de type *symmlets* (i.e. ondelettes de Daubechies les moins asymétriques) ce qui permet de réduire au maximum le déphasage introduit par les filtres à chaque échelle et facilite l'analyse visuelle du signal dans l'espace généré par la base d'ondelettes. Étant donné que la régularité du signal n'est pas connue d'avance, des tests simples ont été réalisés avec des ondelettes de plusieurs ordres, et des *symmlets* de 6 ou 8 moments nuls ont été utilisés.

4.3.3.6 Problèmes de calcul de la TOO pour des données de longueur finie

En pratique, les signaux étudiés ont une longueur finie, tandis que la TOO est définie sur des signaux de longueur infinie. Il existe plusieurs manières de résoudre ce problème, tels que la décomposition du signal sur une base d'ondelettes périodiques ou la décomposition sur une base d'ondelettes définies sur l'intervalle $[0,1]$ (Mallat, 1999); nous avons choisi l'algorithme périodique pour sa simplicité conceptuelle et d'implémentation.

Les algorithmes de calcul de la TOO périodique se basent sur des convolutions circulaires, et supposent que le signal a une longueur L dyadique (i.e. $L=2^N$; $N \in \mathbf{Z}_+$). Cependant, les signaux étudiés ont en général une longueur non dyadique ; ils doivent être étendus de manière à ce que le signal étendu ait une longueur dyadique. Cette extension peut être réalisée de plusieurs façons, telle que l'extension du signal par des zéros ou l'extension par répétition des valeurs aux bords. Cependant, ce type d'extension introduit des discontinuités qui produisent des artefacts dans la TOO du signal. Des extensions plus performantes qui évitent ces artefacts existent (e.g., (Brislawn, 1995; Brislawn, 1996 ; Silva & de Sá, 1999)). Nous avons choisi d'utiliser une extension du signal par réflexion asymétrique, de façon à ce que la pente du signal au bord soit la même que celle au début de l'extension (i.e. discrétisation de la condition de continuité de la dérivée aux bords pour un signal continu de longueur finie) et ainsi éviter des artefacts dus aux sauts dans le signal ou sa dérivée.

Un dernier problème doit être considéré : étant donné que le calcul d'une convolution circulaire peut être assimilé à celui d'une convolution normale sur une version périodisée du signal par répétition sur l'axe du temps, l'algorithme périodique peut introduire des artefacts puisque des sauts peuvent se présenter dans les points d'union des bords des copies du signal étendu. Ce problème, qui peut être résolu grâce à certaines méthodes d'extension, n'est pas résolu avec l'extension par réflexion. Cependant, étant donné que la longueur de nos données est typiquement de 300 échantillons, ce qui est beaucoup moins que la longueur de nos données étendues (512), ces artefacts sont négligeables si le signal est étendu par un nombre similaire d'échantillons à chaque côté (i.e. si le signal original se localise au milieu du signal étendu) ; ainsi, nous récupérons comme résultat de la reconstruction uniquement les 300 points du milieu qui correspondent au signal non étendu.

4.3.3.7 Implémentation des algorithmes

Pour les calculs de la décomposition dans la base d'ondelettes orthogonales nous avons utilisé la librairie de fonctions « *Wavelab* », développée dans le département de statistiques de l'université de Stanford (Buckheit et al., 1995 ; Donoho et al., 1995a). En particulier, nous avons utilisé les fonctions de calcul de la TOO et de la TOOI périodiques (`fwt_po`, `iwt_po`), où les filtres sont implémentés avec des convolutions circulaires.

Nous avons réalisé l'implémentation de l'algorithme *Decompshrink* sur Matlab à partir des fonctions de *Wavelab* mentionnées précédemment ; une première version de cette implémentation a été incluse dans la librairie des fonctions pour le débruitage des signaux par ondelettes « *GaussianWaveDen* », disponible dans. (Antoniadis et al., 2001) D'autre part,

l'algorithme *BAMS* a été adapté à partir d'un algorithme de démonstration disponible sur la page web de l'auteur (Brani Vidakovic, <http://www.isye.gatech.edu/~brani/>).

4.3.4 Débruitage des signaux de fluorescence : Résultats et analyse

Nous avons testé plusieurs méthodes de débruitage parmi celles qui ont été décrites précédemment (celles qui se basent sur la TOO). Les résultats obtenus avec les méthodes *Decompshrink I* et *BAMS* sont en général très supérieurs à ceux obtenus avec d'autres méthodes non Bayésiennes (*VISU (hard et soft)*, *SURE*). Nous nous sommes donc intéressés principalement aux deux techniques Bayésiennes, dont nous allons présenter quelques résultats par la suite.

Afin d'analyser les différentes méthodes d'estimation nous avons utilisé des signaux $L_{\Delta F/F}$ simulés (voir Figure 4-5), issus du modèle présenté dans la section 3.4, représentant l'activité corticale en réponse aux stimuli simples (une bouffée sonore mono-tonale ou FM). Ces signaux contiennent des faibles fluctuations d'origine neuronale (UE, voir 3.3.4 et 3.4.2) noyées dans un bruit très important. L'amplitude de la réponse corticale moyenne (simulée et réelle) est d'environ : 0.5, et celle des UE (simulées) est d'environ 0.1 (Valeurs adimensionnelles, proportionnelles à $\Delta F/F$).

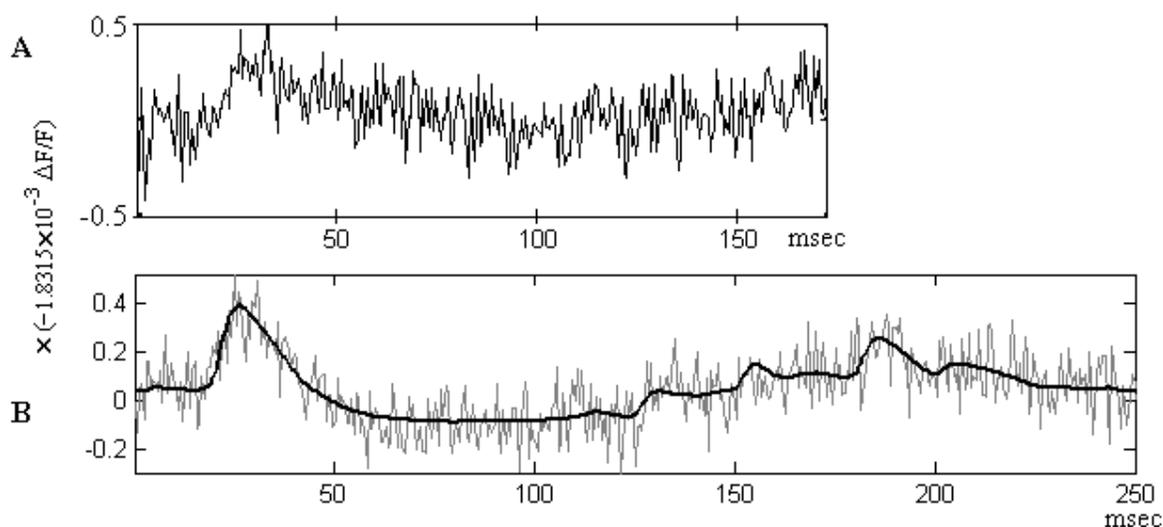


Figure 4-5. Exemple d'un signal $L_{\Delta F/F}$ réel (A) et d'un signal simulé (B) (le signal bruité en gris et le non bruité en noir), le RSB est proche de 1 dans les deux cas. Le signal simulé présente d'abord la réponse à une première activation qui commence vers 18 msec, et puis quatre UE qui se produisent vers 125, 150, 180, et 200 msec. L'amplitude des UE dans les signaux simulés est aléatoire ; la durée des UE est aussi aléatoire, de l'ordre de 10 msec.

4.3.4.1 Estimation de la variance du bruit pour la méthode « Decompshrink I »

Nous avons testé la méthode (*Decompshrink I*) telle qu'elle est décrite par Huang et Cressie, sur des signaux simulés et réels, en estimant la variance du bruit par $(\hat{\sigma}_{svag})^2$. Les résultats obtenus avec des signaux de test déterministes et noyés dans un bruit blanc de distribution normale relativement faible (i.e. $RSB > 10$) sont aussi bons que ceux de Huang et Cressie. Cependant, les résultats obtenus sur des signaux de fluorescence simulés et réels (lesquels sont beaucoup plus bruités : $RSB \approx 1$) ne sont pas toujours très bons. En outre, un examen visuel nous a montré que les signaux estimés de cette manière (avec $(\hat{\sigma}_{svag})^2$ comme estimateur de la variance du bruit) peuvent être parfois plus imprécis que les résultats obtenus en utilisant l'estimateur $(\hat{\sigma}_{mad})^2$ ou la variance empirique des coefficients $(\hat{\sigma}_{svar})^2$. En plus, la qualité de l'estimation peut varier énormément d'un enregistrement à l'autre et d'un site de mesure à l'autre pour un même enregistrement, ce qui pose beaucoup de problèmes dans le cas de notre application.

La Figure 4-6 illustre la raison de ce problème. Nous avons étudié les semivariogrammes de quelques signaux observés dans des sites différents lors d'un même enregistrement sur le cortex d'un animal mort. Ces signaux sont contaminés par le bruit des instruments et en principe libres d'activité physiologique ; néanmoins, des fluctuations d'origine inconnue peuvent se produire (e.g, des activités biologiques résiduelles ou fluctuations de la source de lumière d'excitation du colorant). A gauche (**C,E**) nous observons le semivariogramme dans le cas où le signal observé contient uniquement un bruit non-corrélé ; à droite (**D,F**) nous observons le cas où le signal contient aussi une composante stochastique corrélée d'origine inconnue. Nous avons comparé les valeurs de variances obtenues avec les trois estimateurs, par rapport au semivariogramme. Dans le second cas (**F**), nous obtenons les résultats attendus : les estimateurs $(\hat{\sigma}_{mad})^2$ et $(\hat{\sigma}_{svag})^2$ donnent des valeurs très similaires et beaucoup plus précises que $(\hat{\sigma}_{svar})^2$ (i.e. proches de la valeur théorique : $\gamma(\tau)$ quand $\tau \rightarrow 0$), $(\hat{\sigma}_{mad})^2$ étant légèrement supérieur que $(\hat{\sigma}_{svag})^2$. Néanmoins, dans le premier cas (**E**) l'erreur d'estimation de $(\hat{\sigma}_{svag})^2$ est très grande par rapport à celle des deux autres méthodes ; tandis que les valeurs de $(\hat{\sigma}_{mad})^2$ et $(\hat{\sigma}_{svar})^2$ sont pratiquement égales et apparemment très proches de la valeur du semivariogramme quand τ tend vers zéro (selon une estimation visuelle), la valeur de $(\hat{\sigma}_{svag})^2$ sous-estime clairement la variance du bruit.

Aussi nous pouvons voir que l'erreur dans l'estimation de la variance par $(\hat{\sigma}_{svag})^2$ est due à la variabilité du semivariogramme. Etant donné que cet estimateur est obtenu par une simple extrapolation linéaire de $\hat{\gamma}(\tau)$ en $\tau = 0$ en utilisant deux valeurs de la courbe $\hat{\gamma}(\tau)$, et étant donné que cette courbe est elle-même très variable, la valeur estimée aura une grande variance puisque l'extrapolation en $\tau = 0$ est très sensible à la variabilité de $\hat{\gamma}(\tau)$. Il est évident que la méthode proposée par Huang et Cressie est de moins en moins précise que $\hat{\gamma}(\tau)$ est plus variable, puisque l'extrapolation linéaire dépend directement de la valeur estimée de $d\hat{\gamma}(\tau)/d\tau$ quand $\tau \rightarrow 0$, et la dérivation amplifie énormément les effets nuisibles de la variabilité.

Nous pouvons donc en conclure que l'estimateur $\hat{\sigma}_{svag}$ n'est pas très robuste quand les signaux sont très bruités. Pour des signaux relativement peu bruités, comme ceux utilisés par Huang et Cressie ($RSB \approx 50$) l'erreur d'estimation est faible, mais pour les signaux de fluorescence, où le $RSB \approx 1$, la variance de l'estimateur peut être très importante. En outre, même si nous n'avons pas étudié plus en détail le biais et la variance de cet estimateur, l'examen visuel des signaux

estimés $\hat{\sigma}_{svag}$ semble sous-estimer la variance du bruit de manière consistante (voir aussi Figure 4-6 (E et F)).

On pourrait penser qu'il est préférable d'utiliser l'estimateur $\hat{\sigma}_{mad}$ quand le RSB est mauvais ; nous avons donc étudié l'effet provoqué par le changement de $(\hat{\sigma}_{mad})^2$, à la place de $(\hat{\sigma}_{svag})^2$, pour estimer la variance du bruit dans les résolutions les plus fines de la décomposition. Alternativement, étant donné que $(\hat{\sigma}_{mad})^2$ surestime la variance et que $(\hat{\sigma}_{svag})^2$ semble la sous-estimer, nous pouvons aussi proposer une estimation pondérée de ces deux valeurs en espérant être plus proches de la valeur réelle ; en particulier, nous avons étudié l'effet d'estimer la variance par la valeur moyenne : $(\hat{\sigma}_{svm})^2 = ((\hat{\sigma}_{mad})^2 + (\hat{\sigma}_{svag})^2)/2$. Les résultats de débruitage avec ces méthodes d'estimation de variance sont résumés dans la Tableau 4-2, que nous discuterons par la suite.

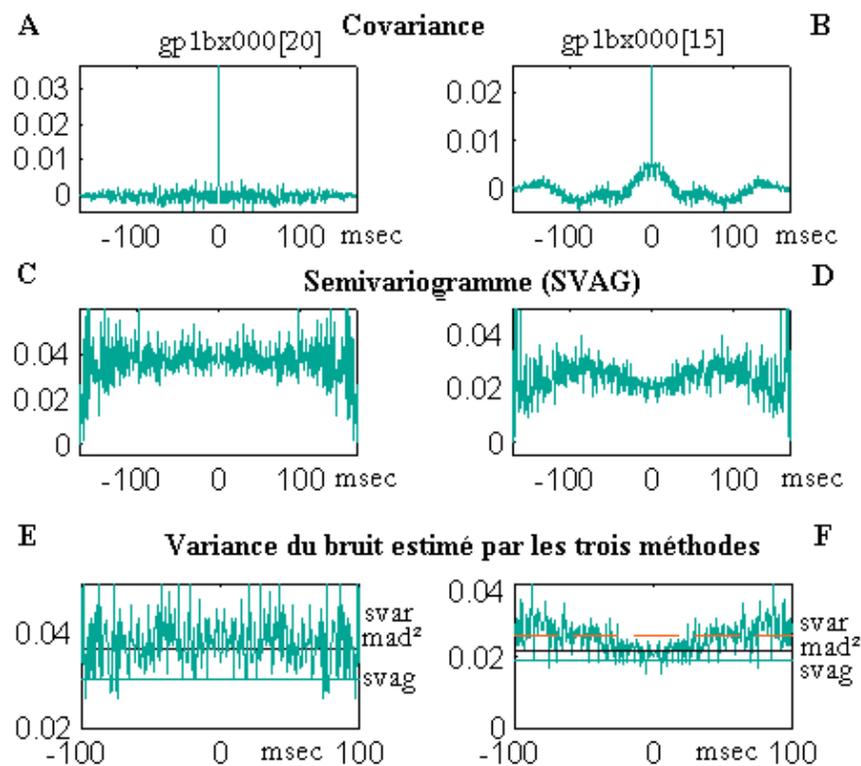


Figure 4-6. **A et B :** Covariances des signaux de fluorescence enregistrés sur deux sites quelconques du cortex auditif d'un animal mort. **C et D :** Semivariogrammes de ces signaux. **E et F :** Détails des semivariogrammes et comparaison avec les valeurs de variance estimées par trois méthodes ; svar : variance empirique $(\hat{\sigma}_{svar})^2$; mad² : variance estimée par le carré de la médiane des écarts absolus à la médiane $(\hat{\sigma}_{mad})^2$; et svag : variance estimée par la méthode du semivariogramme $(\hat{\sigma}_{svag})^2$ (voir le texte).

Nous avons aussi essayé d'améliorer la précision dans l'estimation de $\hat{\sigma}_{svag}$ en utilisant plusieurs méthodes ad hoc (régularisation de la courbe $\hat{\gamma}(\tau)$ avant d'estimer $\hat{\sigma}_{svag}$, extrapolation par spline cubique, etc), sans résultats satisfaisants. Nous n'avons pas trouvé une solution entièrement satisfaisante à ce problème ; une étude théorique nous semble nécessaire pour trouver un meilleur estimateur, plus robuste et plus précis.

4.3.4.2 Analyse comparative de la qualité des estimateurs

Nous avons comparé les méthodes de débruitage afin de trouver celle qui s'adapterait le mieux à notre problème. La qualité de l'estimation du signal à partir des données bruitées a été mesurée en utilisant des signaux $L_{\Delta F/F}$ simulés (e.g., voir Figure 4-5). Etant donné que dans les signaux réels l'écart type du bruit est du même ordre de magnitude que l'amplitude de la réponse corticale moyenne (i.e. $RSB_{\text{repmoyenne}} \approx 2$), et que les UE sont probablement beaucoup plus faibles (i.e. $RSB_{\text{UE}} \approx 1$), nous avons étudié l'estimation des signaux pour trois valeurs différentes de la variance du bruit : $\sigma_n = 0.1$ ($RSB_{\text{UE}} \approx 1$), $0.1/\sqrt{2}$ ($RSB_{\text{UE}} \approx 2$), $0.1/2$ ($RSB_{\text{UE}} \approx 4$).

En plus de l'examen visuel des résultats, nous avons mesuré la qualité de l'estimation selon trois mesures :

1. Biais absolu moyen :

$$\bar{b} = \frac{1}{N} \sum_{n=1}^N |E(\hat{s}(n)) - s(n)|, \quad E(\hat{s}(n)) \equiv \frac{1}{M} \sum_{m=1}^M \hat{s}_m(n)$$

où $s(n)$ est le signal de test, $\hat{s}_m(n)$ est une estimation du signal de test à partir d'une réalisation du signal bruité : $z_m(n) = s(n) + \varepsilon_m(n)$ (où $\varepsilon_m(n) \sim \text{Gauss}(0, \sigma_n)$), N = nombre d'échantillons par signal et M = nombre de réalisations du signal bruité.

2. Moyenne de la racine de l'erreur quadratique moyenne :

$$\bar{r} = \frac{1}{M} \sum_{m=1}^M \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{n=1}^N (\hat{s}_m(n) - s(n))^2}$$

3. La valeur maximale de la racine de l'erreur quadratique moyenne :

$$r_{\max} = \max_{m=1, \dots, M} \left(\sqrt{\frac{1}{N} \sum_{n=1}^N (\hat{s}_m(n) - s(n))^2} \right)$$

La valeur de \bar{b} estimée par les différentes méthodes et niveaux de bruit est illustrée dans le Tableau 4-1. Dans la direction horizontale nous montrons les valeurs de \bar{b} pour les méthodes *Decompshrink I* (avec trois types d'estimation de la variance ($(\hat{\sigma}_{svag})^2$, $(\hat{\sigma}_{mad})^2$, $(\hat{\sigma}_{svm})^2$) et BAMS (nous appellerons les trois premières : D- $\hat{\sigma}_{svag}$, D- $\hat{\sigma}_{mad}$, et D- $\hat{\sigma}_{svm}$, respectivement. Dans la direction verticale nous montrons les valeurs de \bar{b} pour les méthodes simples, et pour les méthodes corrigées selon les techniques présentées dans la section 4.3.3.3 : Itération (I), Itération + Translation des résidus (I + T), et (I + T) en utilisant la valeur de la variance estimée à la première itération dans les itérations suivantes (I + T, $\hat{\sigma}_1$).

$\bar{b}, \sigma_n = 0.1$	D- $\hat{\sigma}_{svag}$	D- $\hat{\sigma}_{mad}$	D- $\hat{\sigma}_{svm}$	BAMS
	0.0098	0.0125	0.0117	0.0133
I	0.0097	0.0123	0.0116	0.0086
I+T	0.0075	0.0056	0.0062	0.0075
I+T, $\hat{\sigma}_1$	0.0077	0.0099	0.0092	0.0089

$\bar{b}, \sigma_n = 0.1/\sqrt{2}$	D- $\hat{\sigma}_{svag}$	D- $\hat{\sigma}_{mad}$	D- $\hat{\sigma}_{svm}$	BAMS
	0.0073	0.0103	0.0088	0.0101
I	0.0073	0.0102	0.0087	0.0086
I+T	0.0057	0.0039	0.0048	0.0063
I+T, $\hat{\sigma}_1$	0.0060	0.0084	0.0072	0.0079

$\bar{b}, \sigma_n = 0.1/2$	D- $\hat{\sigma}_{svag}$	D- $\hat{\sigma}_{mad}$	D- $\hat{\sigma}_{svm}$	BAMS
	0.0055	0.0066	0.0061	0.0070
I	0.0055	0.0065	0.0060	0.0065
I+T	0.0043	0.0030	0.0037	0.0052
I+T, $\hat{\sigma}_1$	0.0045	0.0053	0.0049	0.0061

Tableau 4-1. Biais absolu moyen (\bar{b}) de l'estimation d'un signal modèle pour trois niveaux différents de bruit ($\sigma_n = 0.1$ ($RSB_{UE} \approx 1$), $0.1/\sqrt{2}$ ($RSB_{UE} \approx 2$), et $0.1/2$ ($RSB_{UE} \approx 4$)). On présente dans l'horizontale les valeurs de \bar{b} pour la méthode *Decompshrink I* (D) avec trois méthodes d'estimation de la variance, et pour la méthode BAMS. Dans la verticale, on montre les valeurs de \bar{b} pour la méthode simple (-), pour la méthode itérative (I) (7 itérations), pour la méthode itérative plus translation des résidus (I + T), et pour la méthode itérative plus translation des résidus sans recalculer la variance à chaque itération (I + T, $\hat{\sigma}_1$).

Un examen rapide de ce tableau nous montre que, dans le cas où l'on n'itère pas l'estimation, la méthode D- $\hat{\sigma}_{svag}$ présente la meilleure performance, et ceci pour n'importe quel RSB. On note aussi que le fait d'itérer ne donne pas d'améliorations très importantes, sauf pour la méthode BAMS pour laquelle le biais est réduit de manière considérable pour des niveaux de bruit importants. Par contre, il est évident que l'algorithme (I + T) a un effet significatif sur l'estimation selon toutes les méthodes, et en particulier un effet très significatif pour la méthode D- $\hat{\sigma}_{mad}$, laquelle se montre ainsi comme la méthode la moins biaisée pour tous les niveaux de bruit. Par rapport à la méthode D- $\hat{\sigma}_{svm}$, on trouve des résultats intermédiaires entre les méthodes

$D-\hat{\sigma}_{svag}$ et $D-\hat{\sigma}_{mad}$. Finalement, pour les algorithmes $(I + T, \sigma_1)$ et pour toutes les méthodes, le biais est toujours légèrement augmenté.

Le nombre d'itérations a été fixé à 7 pour réaliser le Tableau 4-1, mais des calculs ont été aussi réalisés pour 3 itérations avec des résultats similaires. Le biais a tendance à baisser avec le nombre d'itérations, mais cette baisse de biais s'accompagne d'une augmentation de la variance des signaux estimés.

Les résultats du Tableau 4-1 suggèrent que la méthode $D-\hat{\sigma}_{mad}(I + T)$ est la plus précise. Néanmoins, les valeurs estimées de \bar{r} et r_{max} montrent qu'elle est aussi la méthode qui donne des estimations plus variables (voir Tableau 4-2), c'est-à-dire plus bruitées. Ceci peut être observé de la Figure 4-7 à la Figure 4-10 pour les différents niveaux de bruit et plusieurs simulations des signaux optiques. L'estimation du signal par la méthode $D-\hat{\sigma}_{mad}(I + T + \sigma_1)$ est beaucoup moins bruitée que celle obtenue par la méthode $D-\hat{\sigma}_{mad}(I + T)$, et elle est relativement peu biaisée. Cependant, elle est plus biaisée et plus bruitée que les méthodes $D-\hat{\sigma}_{svag}(I + T + \sigma_1)$ et $D-\hat{\sigma}_{svag}(I + T)$. Si l'on utilise les méthodes $D-\hat{\sigma}_{svm}(\cdot)$, on obtient des résultats intermédiaires entre les méthodes $D-\hat{\sigma}_{mad}(\cdot)$ et $D-\hat{\sigma}_{svag}(\cdot)$, et c'est souvent un bon compromis (voir Figure 4-10). Finalement, les méthodes $BAMS(\cdot)$ ont en moyenne une performance inférieure par rapport aux méthodes $D-\hat{\sigma}_{svag}(\cdot)$, et la méthode $BAMS$ simple montre un biais plus important.

En outre, il est évident que l'estimation, quelle que soit la méthode, est plus précise à des plus faibles niveaux de bruit. Ainsi, pour un seul enregistrement, dont la variance du bruit du signal $L_{\Delta F}/F$ est assez grande ($\sigma \approx 0.1$), il est souvent difficile de bien récupérer le signal, et en particulier, il est difficile de récupérer des fluctuations faibles. Cependant, une diminution de la variance du bruit par deux ou quatre, donne souvent de bons résultats (voir Figure 4-9).

En conclusion, la méthode $D-\hat{\sigma}_{svag}(I + T + \sigma_1)$ semble être la plus précise, et est un bon compromis entre le biais et l'erreur quadratique moyenne. De plus, les valeurs de r_{max} (Tableau 4-3) montrent qu'elle est aussi la plus robuste. Le débruitage du signal $L_{\Delta F}/F$ peut être encore amélioré si avant d'utiliser la méthode $D-\hat{\sigma}_{svag}(I + T + \sigma_1)$, on calcule la moyenne d'ensemble de deux ou trois enregistrements, de manière à réduire la variance du bruit à $\sigma \approx 0.1/\sqrt{2}$ ou $\sigma \approx 0.1/2$, respectivement. Ceci est la méthode que nous avons utilisée par la suite.

$\bar{r}, \sigma_n = 0.1$	D- σ_{svag}	D- σ_{mad}	D- σ_{sym}	BAMS
	0.0313	0.0460	0.0381	0.0294
I	0.0313	0.0459	0.0380	0.0329
I+T	0.0375	0.0692	0.0549	0.0395
I+T, σ_1	0.0349	0.0470	0.0406	0.0352

$\bar{r}, \sigma_n = 0.1/\sqrt{2}$	D- σ_{svag}	D- σ_{mad}	D- σ_{sym}	BAMS
	0.0236	0.0333	0.0278	0.0223
I	0.0235	0.0332	0.0277	0.0247
I+T	0.0271	0.0484	0.0383	0.0294
I+T, σ_1	0.0255	0.0328	0.0286	0.0258

$\bar{r}, \sigma_n = 0.1/2$	D- σ_{svag}	D- σ_{mad}	D- σ_{sym}	BAMS
	0.0171	0.0246	0.0205	0.0167
I	0.0171	0.0245	0.0205	0.0181
I+T	0.0198	0.0338	0.0273	0.0217
I+T, σ_1	0.0184	0.0244	0.0211	0.0198

Tableau 4-2. Valeur moyenne (sur plusieurs enregistrements) de l'erreur quadratique moyenne (sur chaque enregistrement), pour différents niveaux de bruits, pour les méthodes de débruitage décrites dans le texte.

$r_{max}, \sigma_n = 0.1$	D- σ_{svag}	D- σ_{mad}	D- σ_{sym}	BAMS
	0.0489	0.0761	0.0631	0.0374
I	0.0489	0.0761	0.0631	0.0526
I+T	0.0586	0.0813	0.0788	0.0788
I+T, σ_1	0.0508	0.0762	0.0652	0.1383

$r_{max}, \sigma_n = 0.1/\sqrt{2}$	D- σ_{svag}	D- σ_{mad}	D- σ_{sym}	BAMS
	0.0382	0.0539	0.0442	0.0280
I	0.0382	0.0539	0.0442	0.0403
I+T	0.0428	0.0605	0.0528	0.1054
I+T, σ_1	0.0397	0.0556	0.0493	0.0445

$r_{max}, \sigma_n = 0.1/2$	D- σ_{svag}	D- σ_{mad}	D- σ_{sym}	BAMS
	0.0310	0.0366	0.0309	0.0193
I	0.0310	0.0366	0.0309	0.0324
I+T	0.0327	0.0409	0.0367	0.0457
I+T, σ_1	0.0327	0.0374	0.0318	0.0376

Tableau 4-3. Valeur maximale (sur plusieurs enregistrements) de l'erreur quadratique moyenne (sur chaque enregistrement), pour différents niveaux de bruits et pour les méthodes de débruitage décrites dans le texte.

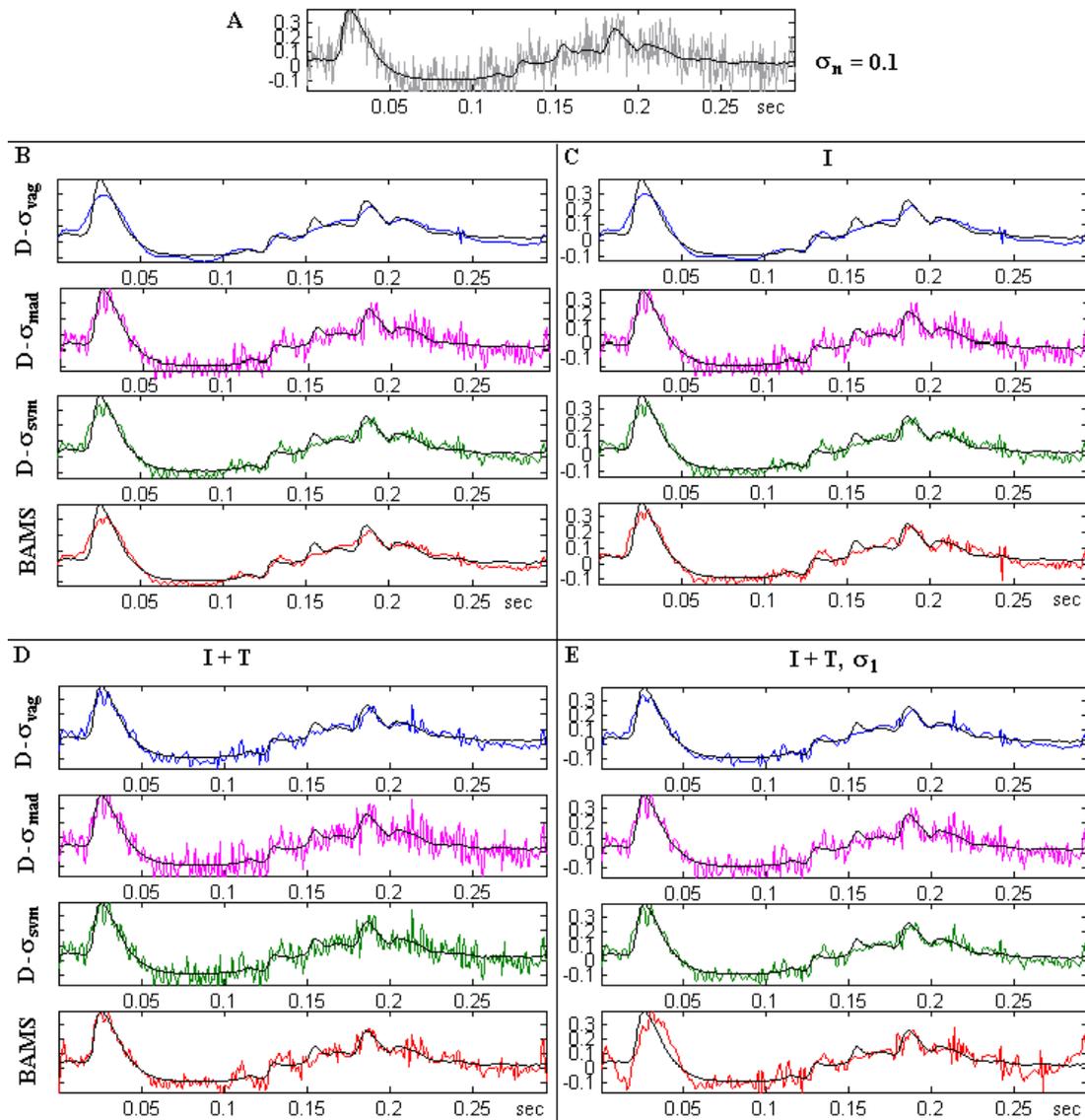


Figure 4-7. Analyse Comparative des techniques de débruitage ($D-\sigma_{svag}$, $D-\sigma_{mad}$, $D-\sigma_{svm}$, = *Decompshrink I* avec estimation de variance par $(\sigma_{svag})^2$, $(\sigma_{mad})^2$, $(\sigma_{svm})^2$, respectivement ; et BAMS). **A :** Signal $L_{DF/F}$ simulé (1^{er} réalisation) + bruit blanc gaussien ($RSB \approx 1$). **B :** Débruitage simple (sans itération) **C :** Méthode itérative (7 itérations) **D :** Méthode Itérative plus translation (1 échantillon par itération). **E :** Itération et translation en utilisant la valeur estimée de la variance à la première itération dans les itérations suivantes.

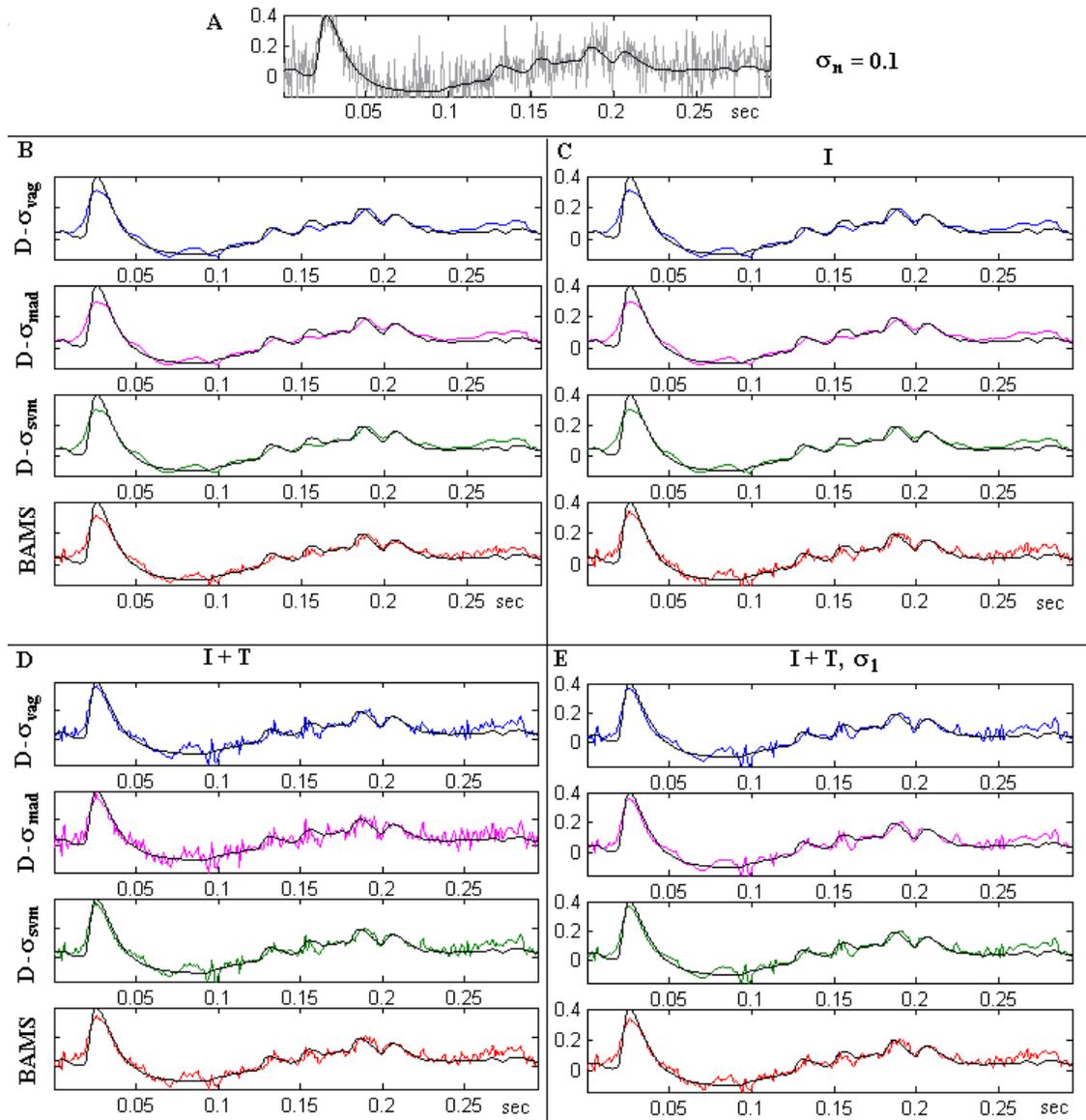


Figure 4-8. Analyse Comparative des techniques de débruitage ($D-\sigma_{svag}$, $D-\sigma_{mad}$, $D-\sigma_{svm}$, = *Decompshtink I* avec estimation de variance par $(\sigma_{svag})^2$, $(\sigma_{mad})^2$, $(\sigma_{svm})^2$, respectivement ; et BAMS). **A** : Signal $L_{\Delta F/F}$ simulé (2^{ème} réalisation) + bruit blanc gaussien ($RSB \approx 1$). **B** : Débruitage simple (sans itération) **C** : Méthode itérative (7 itérations) **D** : Méthode itérative plus translation (1 échantillon par itération). **E** : Itération et translation en utilisant la valeur estimée de la variance à la première itération dans les itérations suivantes.

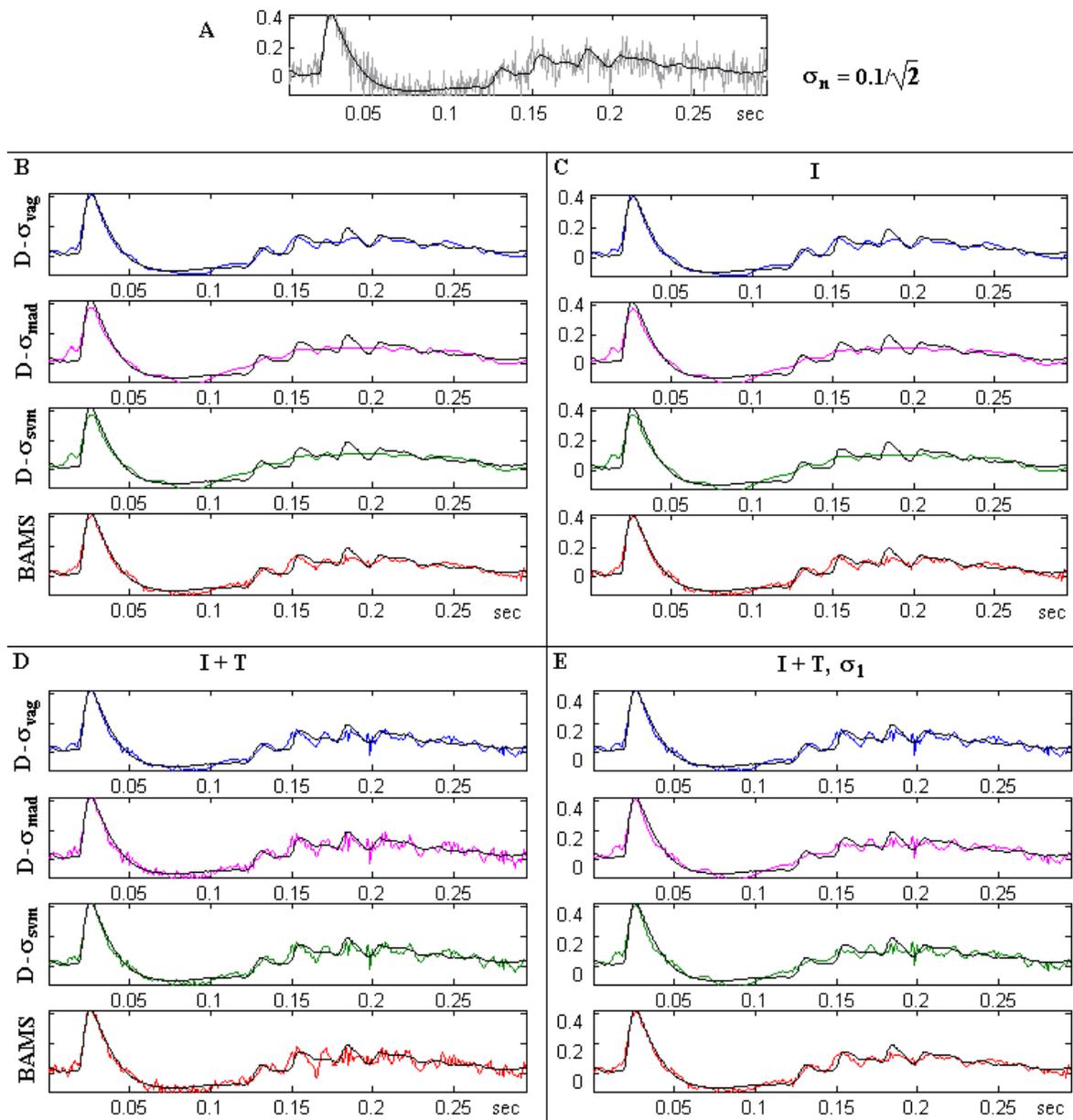


Figure 4-9. Analyse Comparative des techniques de débruitage ($D-\sigma_{svag}$, $D-\sigma_{mad}$, $D-\sigma_{svm}$, = *Decompshtink I* avec estimation de variance par $(\sigma_{svag})^2$, $(\sigma_{mad})^2$, $(\sigma_{svm})^2$, respectivement ; et BAMS). **A** : Signal $L \Delta F/F$ simulé (3^{ème} réalisation) + bruit blanc gaussien ($RSB \approx 2$). **B** : Débruitage simple (sans itération) **C** : Méthode itérative (7 itérations) **D** : Méthode itérative plus translation (1 échantillon par itération). **E** : Itération et translation en utilisant la valeur estimée de la variance à la première itération dans les itérations suivantes.

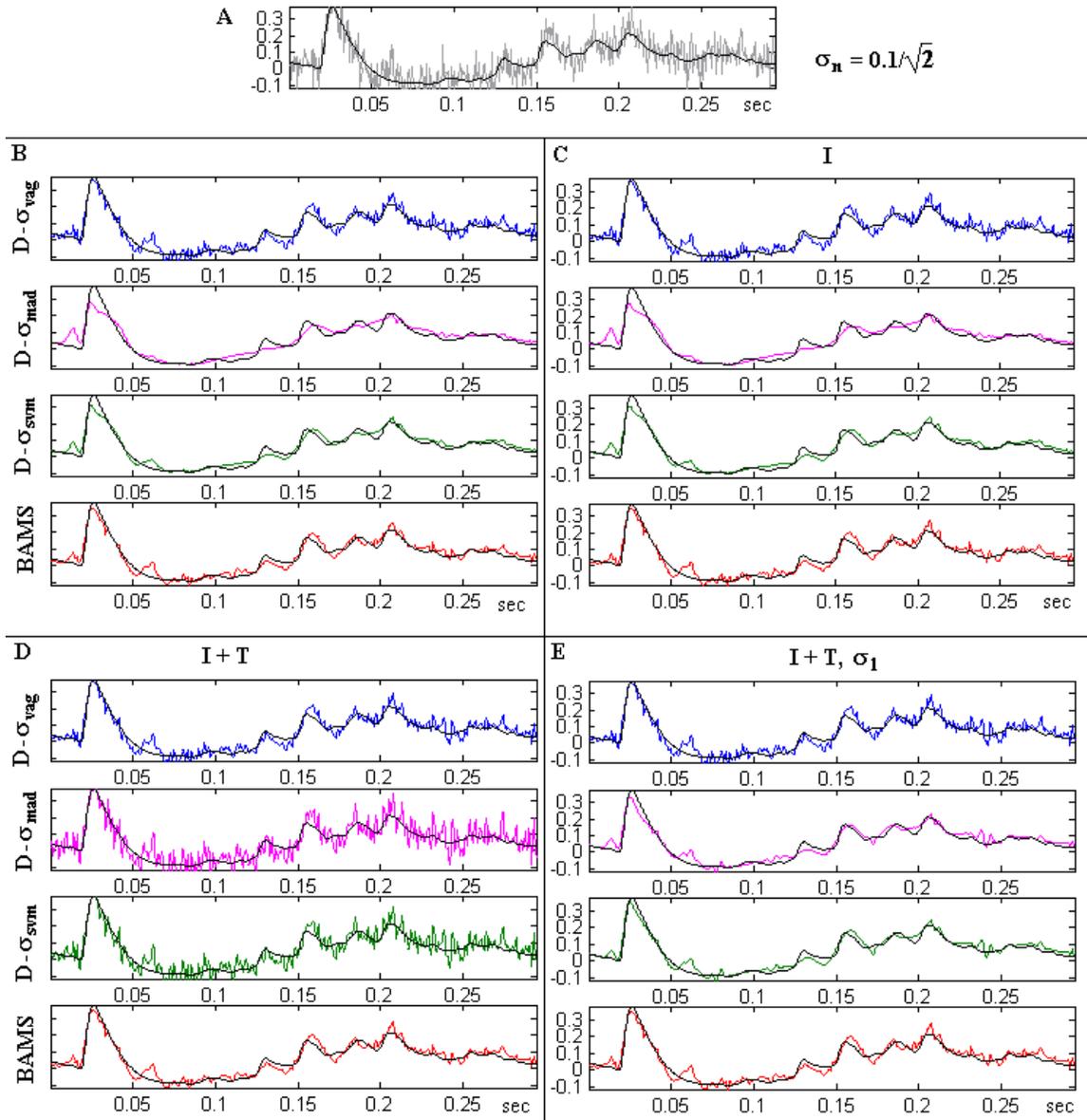


Figure 4-10. Analyse Comparative des techniques de débruitage ($D-\sigma_{svag}$, $D-\sigma_{mad}$, $D-\sigma_{svm}$, = *Decompshrink I* avec estimation de variance par $(\sigma_{svag})^2$, $(\sigma_{mad})^2$, $(\sigma_{svm})^2$, respectivement ; et BAMS). **A** : Signal $L_{\Delta F/F}$ simulé (4^{ème} réalisation) + bruit blanc gaussien ($RSB \approx 2$). **B** : Débruitage simple (sans itérations) **C** : Méthode itérative (7 itérations) **D** : Méthode itérative plus translation (1 échantillon par itération). **E** : Itération et translation en utilisant la valeur estimée de la variance à la première itération dans les itérations suivantes.

4.3.4.3 Résultats sur des signaux réels

Nous montrons ensuite quelques résultats obtenus sur des données réelles, nous comparons tout d'abord les méthodes $D-\hat{\sigma}_{svag}(I)$ et $D-\hat{\sigma}_{svag}(I + T + \sigma_I)$ puis nous comparons cette dernière avec la méthode $BAMS(I + T + \sigma_I)$, et ceci pour chaque itération des algorithmes.

Dans l'exemple de la Figure 4-11 (à gauche), on peut voir que la seule itération ($D-\hat{\sigma}_{svag}(I)$), en absence de translation circulaire à chaque itération, n'est pas vraiment effective. Le signal à la première estimation se maintient constant à travers les itérations suivantes ; il est plutôt régulier et les résidus montrent encore des fluctuations aléatoires corrélées qui ne correspondent pas au bruit blanc. Par contre, l'algorithme itératif en conjonction avec la translation circulaire ($D-\hat{\sigma}_{svag}(I + T + \sigma_I)$) (Figure 4-11, à droite) récupère plus des fluctuations aléatoires, tout en éliminant le bruit non corrélé. Dans l'exemple montré dans la figure, la convergence de l'algorithme $D-\hat{\sigma}_{svag}(I + T + \sigma_I)$, (jusqu'à la decorrélation des résidus) est obtenue rapidement, à la deuxième itération.

Les différences entre les signaux $L_{\Delta F/F}$ débruités par la méthode $D-\hat{\sigma}_{svag}(I + T + \sigma_I)$ et par la méthode $BAMS(I + T + \sigma_I)$ sont importantes (Figure 4-12 et Figure 4-13). Il est évident que la méthode $BAMS(I + T + \sigma_I)$ est pratiquement insensible à l'itération de l'estimation et translation des résidus, et que la méthode $D-\hat{\sigma}_{svag}(I + T + \sigma_I)$ récupère la plupart des fluctuations aléatoires rapidement, dans les premières itérations. Les résidus de cette dernière méthode sont en règle générale moins corrélés que ceux de la méthode $BAMS(I + T + \sigma_I)$.

Nous avons aussi utilisé la méthode $D-\hat{\sigma}_{svag}(I + T + \sigma_I)$ pour débruiter des signaux issus du calcul de la moyenne d'ensemble de plusieurs enregistrements. Des signaux $L_{\Delta F/F}$ en réponse aux stimuli FM, débruités de cette manière sont présentés dans la section 5.2.2, Figure 5-13. Ces signaux sont beaucoup plus réguliers puisque la variance du bruit a été réduite ; cependant, des fluctuations, qui peuvent avoir une origine neuronale, sont toujours visibles (Figure 5-13-D).

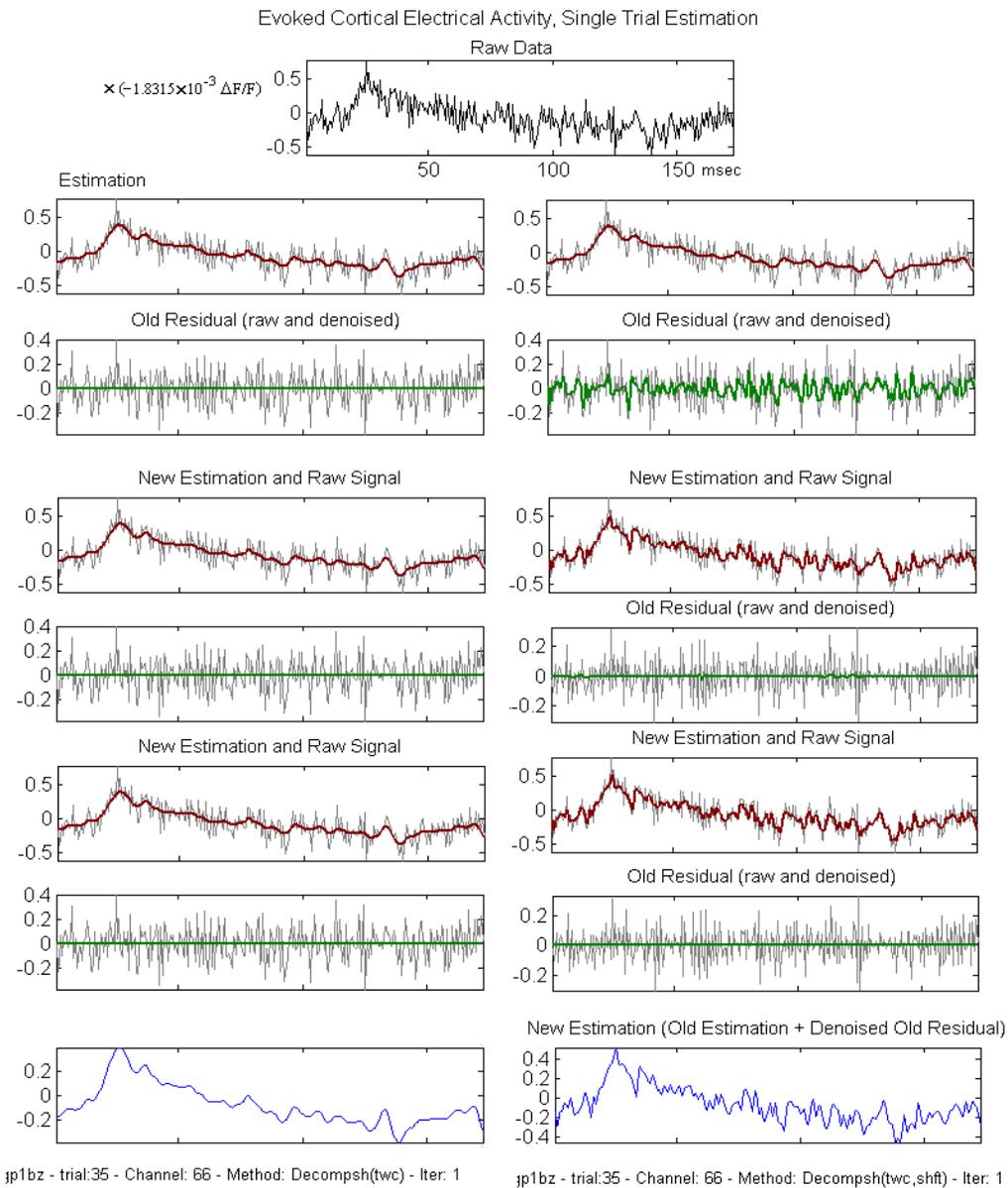


Figure 4-11. Elimination du bruit d'un signal optique expérimental (un seul site de mesure, un seul enregistrement) par la méthode *Decompshrink I*. **A gauche :** itération de l'estimation sur les résidus, sans translation circulaire (*twicing*); on n'observe aucun changement par rapport au résultat initial, les résidus sont toujours corrélés. **A droite :** itération suivie de translation circulaire (*twicing and shifting*) ; à la première itération des fluctuations aléatoires sont récupérées, les résidus sont moins corrélés.

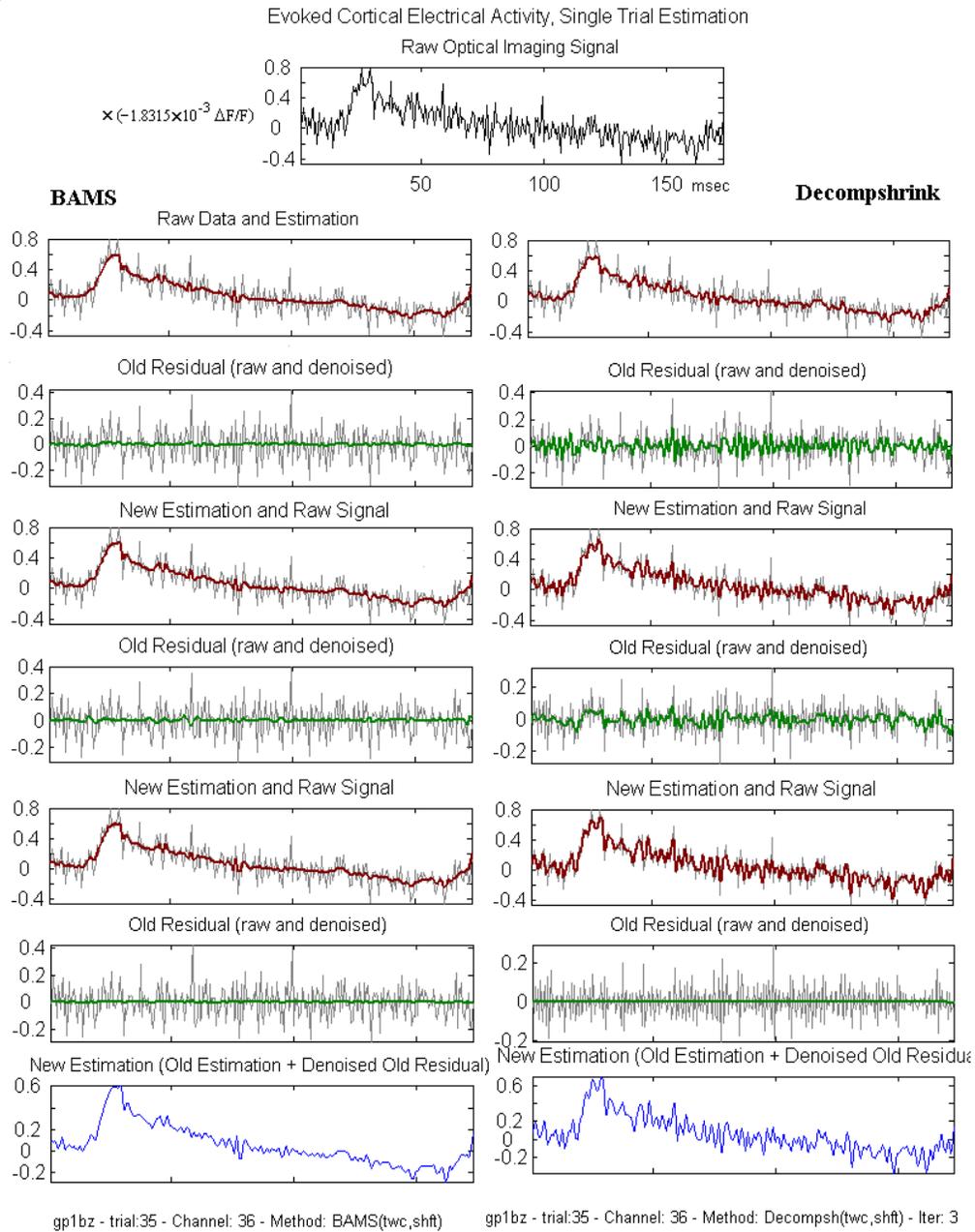


Figure 4-12. Elimination du bruit d'un signal optique expérimental (un seul site de mesure, un seul enregistrement) par rétrécissement des coefficients de la TOO + itération + translation circulaire (*twicing and shifting*). A gauche : Méthode BAMS. A droite : Méthode *Decompshrink I*.

Evoked Cortical Electrical Activity, Single Trial Estimation

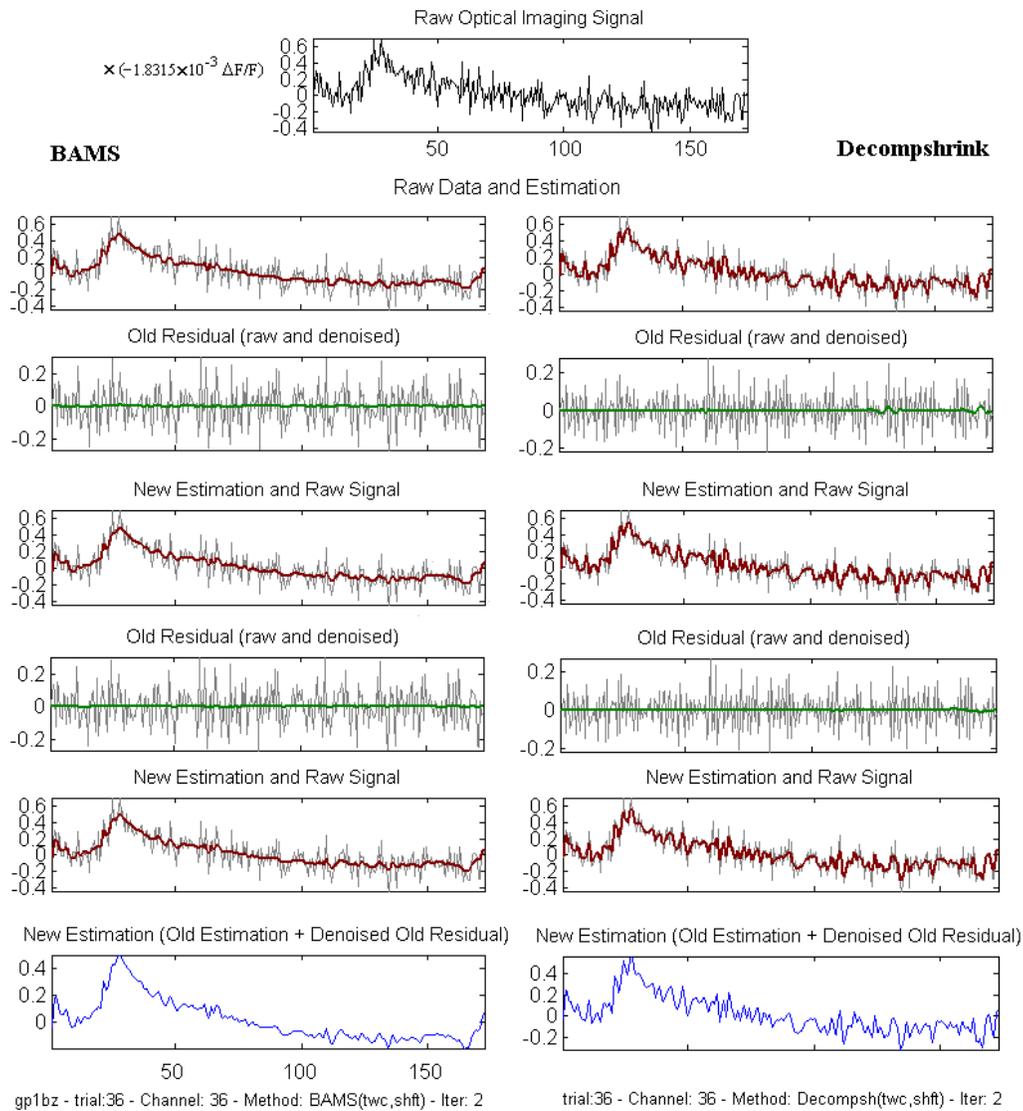


Figure 4-13. Elimination du bruit d'un signal optique expérimental (un seul site de mesure, un seul enregistrement) par rétrécissement des coefficients de la TOO + itération + translation circulaire (*twicing and shifting*). **A gauche :** Méthode BAMS. **A droite :** Méthode *Decompshrink I*.

4.3.5 Estimation et suppression de l'artefact hémodynamique

Nous avons essayé de trouver une méthode précise pour résoudre le problème d'élimination de l'artefact hémodynamique. Tout d'abord, nous allons rappeler et étudier plus en détail la méthode la plus communément utilisée, déjà évoquée dans la section 4.3.1, qui consiste à estimer l'artefact à partir des signaux enregistrés sans stimulation et ensuite à soustraire cette estimation du signal obtenu lors d'un enregistrement avec stimulation. Nous verrons quelques méthodes simples pour estimer l'artefact et nous discuterons leurs avantages et désavantages. Nous avons proposé une simple amélioration à ces méthodes qui sera décrite dans la section 4.3.5.4. Ensuite nous avons étudié la performance d'une technique alternative qui permet, en principe, de limiter le biais d'estimation (section 4.3.5.5). Finalement nous proposerons dans la section 4.3.5.6 une nouvelle approche à ce problème, basée sur la théorie de courbes déformables, qui pourrait s'avérer utile dans un futur.

4.3.5.1 Soustraction d'une estimation de l'artefact obtenue à partir des enregistrements sans stimulation

Posons ζ^B un groupe de signaux enregistrés en présence de stimulation ($\zeta^B = \{z_n^B\}_{n=1,2,\dots,N}$; $z_n^B = \{z_n^B(k\tau)\}_{k=1,\dots,K}$; où K est le nombre d'échantillons, τ est la période d'échantillonnage, et N le nombre d'enregistrements avec stimulus), où chaque signal z_n^B est décrit par l'Equation 4-1. Posons ζ^A un groupe de signaux enregistrés en absence de stimulation ($\zeta^A = \{z_m^A\}_{m=1,2,\dots,M}$; $z_m^A = \{z_m^A(k\tau)\}_{k=1,\dots,K}$), où chaque signal z_m^A est décrit par la même équation, mais où la réponse au stimulus est nulle (i.e. $s_m^A = 0$). L'artefact dans chaque z_n^B est estimé à partir de ζ^A :

$$\hat{a}_n^B = \theta(\zeta^A),$$

puis on estime la composante du signal due à l'activité neuronale comme (voir Figure 4-17-D) :

$$\hat{s}_n^B = z_n^B - \hat{a}_n^B$$

Le succès de cette approche dépend de la qualité de l'estimation de l'artefact, d'une bonne reproductibilité de l'artefact d'un enregistrement à l'autre, et du fait que la combinaison des changements de fluorescence dus à l'activité intrinsèque et des changements dus à l'activité hémodynamique soit une simple sommation.

On trouve dans la littérature deux façons, principalement, d'estimer cet artefact ; les deux supposent une bonne reproductibilité de l'activité hémodynamique à chaque enregistrement. Soit l'on utilise un seul signal obtenu lors d'un enregistrement précédent réalisé en absence de

stimulation, soit l'on utilise un ensemble de signaux obtenus lors de plusieurs enregistrements réalisés en absence de stimulation.

4.3.5.2 Estimation de l'artefact selon un signal obtenu lors d'un enregistrement précédent

Dans le premier cas on réalise des enregistrements intercalés : un sans stimulation (z_n^A) puis un avec stimulation (z_n^B), et l'on estime l'artefact dans z_n^B comme : $\hat{a}_n^B = z_n^A$ (e.g., Horikawa et al. (1996)). L'hypothèse principale est que la forme de l'activité hémodynamique change très peu d'un cycle cardiaque à l'autre ; ainsi, si les enregistrements sont toujours déclenchés en synchronisation avec le pulse cardiaque, le premier enregistrement sert lui-même à estimer l'artefact en z_n^B .

Cependant, cette simple technique présente deux problèmes :

- Le premier problème est que la variance du bruit introduit par la technique de mesure augmente, puisque les deux signaux sont contaminés par un bruit aléatoire, et la soustraction des deux signaux amplifie la variance de bruit.

Supposons que la valeur du signal de fluorescence $z_n^A(t_k)$, observé à l'instant $t_k = t_n^A + k\tau$ pendant l'enregistrement n , en absence de stimulation, corresponde à la somme d'une variable déterministe, variable dans le temps $a_n(t_k)$ (l'artefact que l'on veut estimer) plus la réalisation d'une variable aléatoire $\eta_{nk}(x)$ ($x \in \mathbb{R}$) de distribution gaussienne, centrée, de variance σ_{nk}^2 qui correspond au bruit introduit par les instruments de mesure. On peut modéliser ce signal, point à point, comme la réalisation d'une variable aléatoire de distribution gaussienne dont la moyenne est la valeur réelle de l'artefact à l'instant t_k .

$$z_n^A(t_k) = a_n(t_k) + \eta_{nk}(x) \longrightarrow z_n^A(t_k) \sim \frac{1}{\sigma_{nk}\sqrt{2\pi}} \exp\left(-\frac{(x - a_n(t_k))^2}{2\sigma_{nk}^2}\right)$$

Pour le signal enregistré en présence d'un stimulus on peut écrire :

$$z_m^B(t_k) = s_m^B(t_k) + a_m(t_k) + \eta_{mk}(x), \longrightarrow z_m^B(t_k) \sim \frac{1}{\sigma_{mk}\sqrt{2\pi}} \exp\left(-\frac{(x - (a_m(t_k) + s_m^B(t_k)))^2}{2\sigma_{mk}^2}\right)$$

où $s_m^B(t_k)$ est le changement de fluorescence correspondant à la réponse du cortex au stimulus.

La soustraction de ces deux signaux, si l'on suppose que le bruit introduit par les instruments dans un premier enregistrement est indépendant du bruit dans un deuxième enregistrement, est équivalent à calculer, pour chaque instant, la somme de $z_m^B(t_k)$ et d'une variable aléatoire de distribution gaussienne, de variance σ_{mk}^2 et de moyenne $(-a_m(t_k))$. La densité de la somme de deux variables aléatoires indépendantes est égale à la convolution des densités de ces deux variables (Papoulis, 1991); et pour deux variables de distribution gaussienne, la convolution

est aussi une distribution gaussienne dont la variance est égale à la somme des variances des deux distributions et la moyenne est égale à la somme des moyennes :

$$z(t_k) = (z_m^B(t_k) - z_n^A(t_k)), \quad z(t_k) \sim \frac{1}{\sqrt{2\pi(\sigma_{mk}^2 + \sigma_{nk}^2)}} \exp\left(\frac{-(x - (a_m(t_k) - a_n(t_k) + s_m^B(t_k)))^2}{2(\sigma_{mk}^2 + \sigma_{nk}^2)}\right)$$

On voit ainsi que la soustraction de deux enregistrements successifs, même si elle élimine effectivement l'artefact si celui-ci est parfaitement reproductible (i.e. si $a_m(t_k) = a_n(t_k)$), entraîne malheureusement une augmentation de la variance du bruit. Si l'on utilise cette méthode pour estimer l'activité neuronale en réponse aux stimuli, et si les variances sont importantes par rapport à la magnitude de l'activité neuronale, comme c'est le cas dans les mesures de fluorescence, on obtient un très mauvais rapport signal sur bruit sur le signal estimé.

Si l'on calcule ensuite la moyenne d'ensemble des plusieurs $z(t_k)$ obtenus de cette manière afin d'atténuer la variance du bruit, comme il est fait couramment dans ce type d'études, le nombre d'enregistrements nécessaires pour obtenir un bon RSB doit être doublé, par rapport au cas où l'on n'aurait pas d'artefact à éliminer. Etant donné que notre but était d'estimer l'activité neuronale avec le moindre nombre d'enregistrements possible, il fallait trouver une solution différente.

Il faut donc diminuer la variance de l'artefact cardiaque estimé afin d'améliorer le RSB du signal d'activité corticale estimée, ce problème est relativement facile à résoudre comme on le verra par la suite.

- Le deuxième problème est le biais, introduit par la mauvaise reproductibilité de l'artefact à chaque enregistrement.

En effet, si l'artefact ne se reproduit pas de la même façon dans tous les enregistrements, l'estimation sera biaisée. Ce problème est très difficile à résoudre.

4.3.5.3 Estimation de l'artefact par la moyenne d'ensemble d'un groupe de signaux enregistrés en absence de stimulation

Plusieurs auteurs (e.g., Arieli et al. (1995), Grinvald et al. (1999b), Tokioka et al. (2000)), proposent d'estimer l'artefact dans chaque z_n^B par la moyenne d'ensemble d'un groupe de signaux enregistrés en absence de stimulation (i.e. $\hat{a}_n^B = \Sigma_m(\zeta^A)$). Cependant, cette méthode ne diminue pas autant la variance du bruit dans l'artefact estimé que si l'on utilise un grand nombre d'enregistrements, et en plus elle pose d'autres problèmes liés à la variabilité de l'artefact à travers différents enregistrements (voir section 2.3.2).

4.3.5.4 Estimation de l'artefact par filtrage d'un signal obtenu lors d'un enregistrement précédent

Nous avons proposé une meilleure solution qui consiste à prendre en compte le fait que l'activité hémodynamique corticale est une activité oscillatoire, qui reflète les battements du cœur, et que cette activité est amortie par les vaisseaux sanguins ; l'artefact est donc une courbe lente qui a un spectre de fréquence situé principalement dans les fréquences basses ($f < 25$ Hz, environ), et les activités plus rapides correspondent principalement au bruit introduit par l'instrument de mesure (on ne tient pas compte ici de l'activité électrique spontanée du cortex). Ceci permet, en principe, de réaliser un filtrage linéaire sur le signal acquis sans stimulation, afin de mieux estimer l'artefact et de l'éliminer ensuite sans augmenter la variance (voir Figure 4-14).

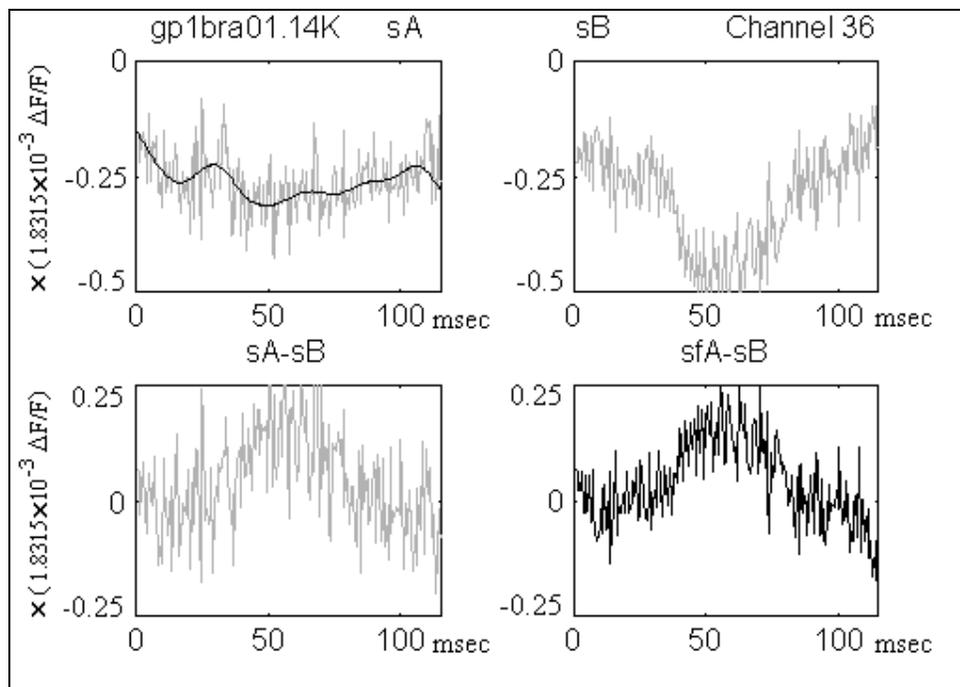


Figure 4-14. Estimation de l'artefact par filtrage linéaire d'un signal libre de réponse aux stimuli, et élimination par soustraction. En haut à gauche, un signal acquis lors d'un enregistrement réalisé en absence de stimulation (sA), utilisé pour estimer l'artefact cardiaque, et le signal $sAf = f(sA)$, où f est un filtre passe bas ($f_c \sim 40$ Hz). Un double filtrage, d'abord causal, puis anticausal, permet de conserver la forme de l'artefact sans introduire des différences de phase dans l'estimation. En haut à droite, le signal acquis lors de la stimulation. En bas à gauche, réponse évoquée estimée ; on suppose que la différence entre les deux ($sB - sA$) correspond à l'évolution de l'activité électrique neuronale dans ce site de mesure, mais la variance du bruit augmente. En bas à droite, la différence entre sAf et le signal sB contenant l'activité neuronale, la variance du bruit n'a pas augmenté. L'échelle horizontale est donnée en msec.

Une fois l'artefact éliminé de cette manière, il est possible d'utiliser les techniques de débruitage par rétrécissement des coefficients de la TOO, afin d'estimer l'activité électrique d'origine neuronale dans chaque site du cortex (voir Figure 4-15). Cette procédure permet donc, en principe, l'estimation précise et relativement rapide de l'activité neuronale.

Le succès dans l'estimation précise de l'artefact, en utilisant cette méthode, dépend de la bonne reproductibilité de l'activité hémodynamique en chaque site de mesure à chaque enregistrement. Cependant, la reproductibilité de l'activité hémodynamique n'est pas toujours aussi bonne que dans le cas de la Figure 4-15 (voir Figure 4-16). Au contraire, cet artefact peut varier de manière significative entre deux enregistrements successifs (voir Figure 2-12-A). Ce problème fait que l'estimation de l'activité électrique corticale est systématiquement biaisée, et que ce biais est très difficile à prédire. Etant donné que le signal d'activité électrique neuronale est très faible par rapport à la variabilité de l'artefact Figure 2-11, ce biais est souvent très important.

Nous avons essayé de traiter le problème de biais par la combinaison du filtrage linéaire et la moyenne d'ensemble des signaux obtenus à partir d'enregistrements réalisés en absence de stimulus. Néanmoins, le problème ne peut pas être résolu de cette manière non plus, puisque la variabilité de l'artefact observé à chaque enregistrement par rapport à l'artefact moyen est aussi très importante (voir Figure 2-12-B). Ce problème de mauvaise reproductibilité de l'artefact devient de plus en plus important au fur et à mesure que l'on cumule des enregistrements.

Ce biais est systématique, corrélé avec l'activité cardiaque, et donc il est aussi corrélé avec la stimulation et la réponse évoquée. Ce problème peut produire des erreurs d'interprétation dans les analyses réalisées avec ce type de signaux. Par exemple, dans quelques articles parus récemment (Arieli et al., 1996; Tokioka et al., 2000) il y a probablement une confusion entre variabilité de l'activité neuronale et le biais dans l'estimation de l'artefact ; ceci a été discuté dans l'Annexe 1.

4.3.5.5 *Elimination de la projection du signal sur un prototype de l'artefact*

En principe, on peut diminuer le biais dans l'estimation de l'artefact si l'on adapte un prototype d'artefact cardiaque à la forme de chaque signal brut $\mathbf{S} = \mathbf{z}_n^B$. Etant donné que la forme de l'artefact est similaire d'un enregistrement à l'autre, ce prototype d'artefact peut être construit à partir de l'ensemble ζ^A .

La manière la plus simple d'adapter le prototype d'artefact à chaque signal \mathbf{S} est de décomposer linéairement le signal en deux composantes, de façon à ce que la première composante soit proche du modèle d'artefact, et que la deuxième composante soit proche de l'activité neuronale. D'abord on construit le prototype d'artefact cardiaque selon, par exemple, une des méthodes d'estimation décrites auparavant : soit par la moyenne de l'ensemble des pulsations ($\mathbf{M} = \Sigma_n(\zeta^A)$), soit par filtrage linéaire d'un signal \mathbf{z}_m^A quelconque ($\mathbf{fA} = \mathbf{f}(\mathbf{z}_m^A)$). Ensuite, on projette chaque signal \mathbf{S} sur le prototype d'artefact, de manière à trouver la composante du signal la plus proche du modèle (\mathbf{P}); c'est-à-dire, on minimise la distance de \mathbf{M} à \mathbf{S} .

$$P = \mu \langle S, \mu \rangle, \quad \text{où } \mu = M/|M| \quad (\text{ou } \mu = fA/|fA|)$$

Finalement, on peut estimer le signal d'activité électrique corticale (SP) comme:

$$SP = S - P$$

Samonas et al. (1997) ont proposé l'utilisation de cette méthodologie pour traiter des signaux de magnétoencéphalographie, et Arieli et al. (1995) ont utilisé une méthode équivalente pour traiter les signaux acquis avec la technique de fluorescence. Cette méthode présente l'avantage que l'artefact estimé est toujours proche du signal brut, ce qui n'est pas toujours le cas dans les autres méthodes. Si l'on suppose que le signal d'activité neuronale et l'artefact se superposent linéairement et que les deux sont orthogonaux, il est possible en principe d'éliminer l'artefact de manière précise par cette technique.

Néanmoins, en pratique cette méthode d'estimation de l'artefact n'est pas précise non plus. Tout d'abord, à cause de la non-validité de l'hypothèse d'orthogonalité des deux composantes. Ensuite parce que la composante d'activité neuronale est de moyenne non nulle, c'est une mesure de l'intensité de la fluorescence émise par le colorant par unité de volume et par unité de temps ; cette quantité est positive (négative pour le colorant RH795 pour lequel la fluorescence diminue en proportion à la dépolarisation de la membrane). Etant donné que la projection minimise la distance entre P et S , SP est forcément de moyenne nulle, ce qui veut dire qu'un biais est introduit systématiquement, la magnitude de ce biais dépend de l'amplitude de la réponse évoquée. Ainsi, l'artefact estimé est déformé par l'activité neuronale, et cet effet est plus important précisément quand la magnitude de l'activité neuronale est plus importante (voir Figure 4-17-B, et Figure 4-18, en haut à droite).

Si l'on compare les résultats obtenus par les deux techniques discutées auparavant, on observe qu'aucune d'elles n'est plus précise que l'autre. Ceci est illustré dans la Figure 4-18, où l'on peut observer que dans le premier cas (à gauche), l'estimation est biaisée à cause de la mauvaise reproduction de l'artefact, donnant l'impression d'une fausse activité neuronale avant 15 msec. Dans le deuxième cas on trouve un résultat inversé, une fausse hyperpolarisation avant 15 msec, en plus d'une lente dépolarisation, également fausse, avant 100 msec.

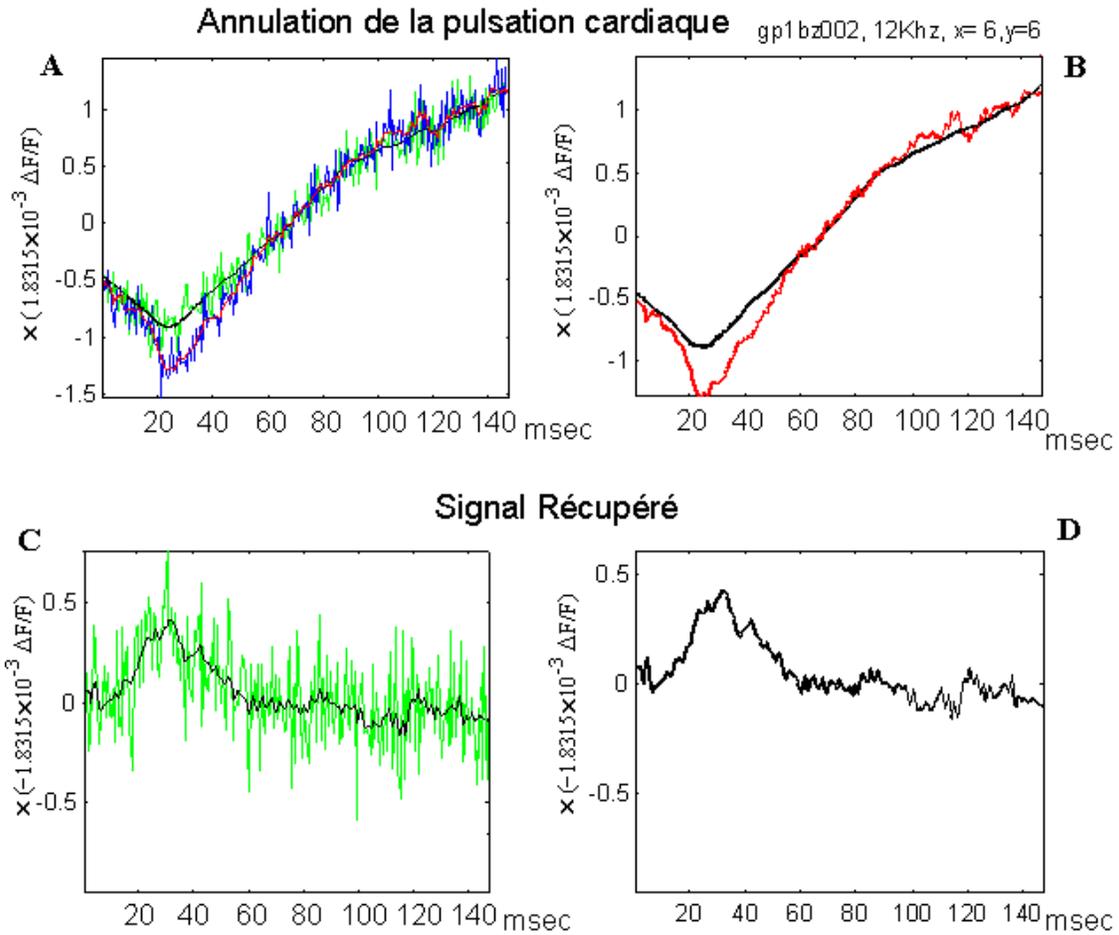


Figure 4-15. Estimation de l'artefact par filtrage linéaire d'un signal libre de réponse aux stimuli, élimination par soustraction, et débruitage par rétrécissement des coefficients de la TOO. **A** : Signal brut en réponse au stimulus (bleu) (sB) et signal brut sans réponse au stimulus (vert) (sA) utilisé pour estimer l'artefact. **B** : Artefact estimé par filtrage linéaire $sAf = f(sA)$ (noir), et signal sB débruité (rouge) (sBd). **C** : $sB - sAf$ et $sBd - sAf$ **D** : Signal de réponse au stimulus estimé ($sBd - sAf$).

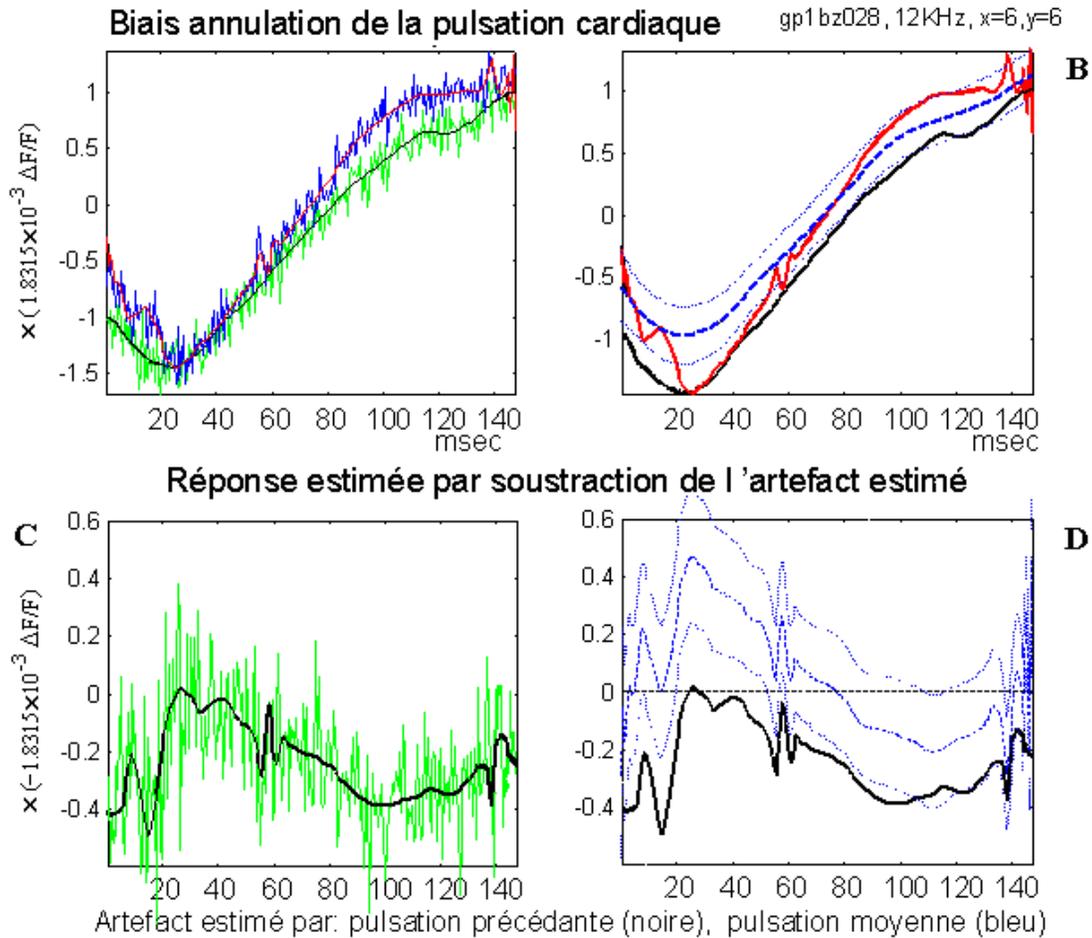


Figure 4-16. Exemple du biais dans l'estimation de l'artefact cardiaque introduit par la mauvaise reproductibilité de celui-ci. **A** : Deux signaux bruts, l'un obtenu lors d'un enregistrement en présence d'un stimulus (bleu) (**z**), l'autre en absence de stimulus (vert) (**y**). **B** : Le premier signal débruité par rétrécissement des coefficients de la TOO (rouge) (**zd**), et le deuxième signal filtré par un filtre de butterworth non causal (double passage, causal et anticausal) à 40 Hz (noir) (**yf**). La moyenne d'ensemble des signaux obtenus en absence de stimulus, filtré, est aussi illustrée (bleu, --) (**mf**), ainsi que la variabilité de l'artefact cardiaque (moyenne d'ensemble +/- écart type d'ensemble). **C** : Réponse évoquée, estimée par : **z-yf** (vert), **zd-yf** (noir). **D** : Réponse évoquée, estimée par : **zd-yf** (noir), **z-mf** (bleu), et la variabilité de cette dernière.

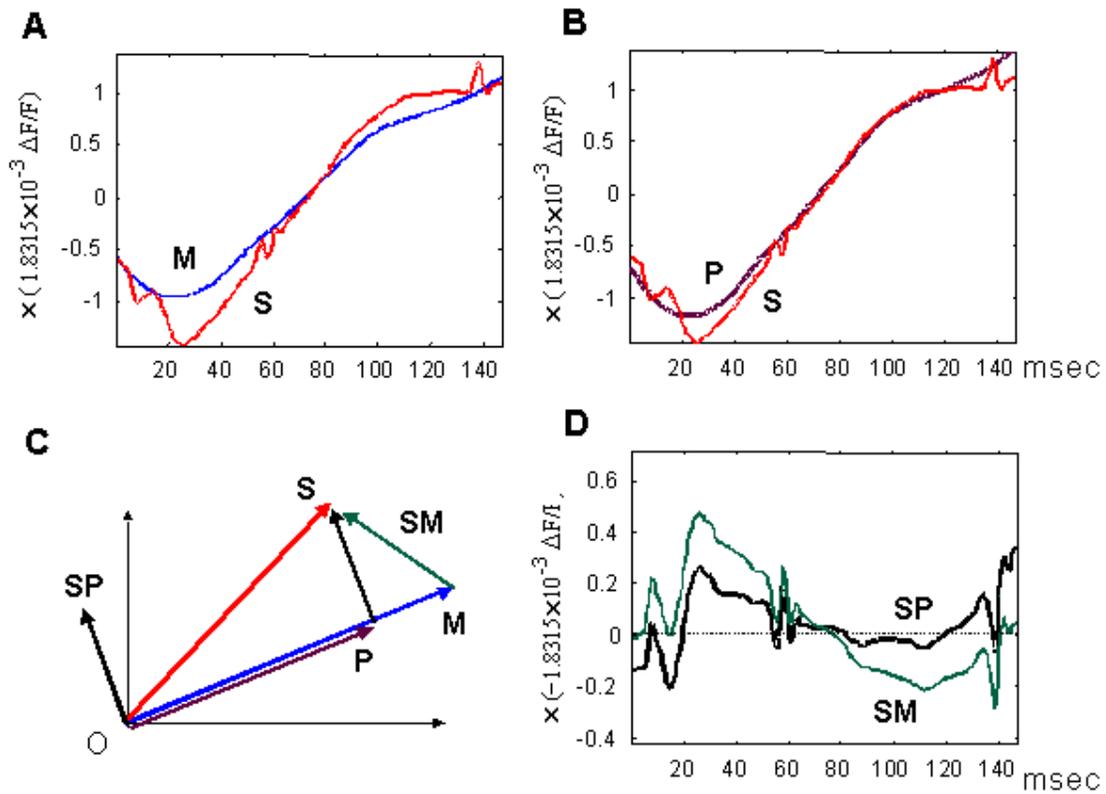


Figure 4-17. Comparaison de deux méthodes d'estimation de l'artefact hémodynamique contenu dans un signal $S = z_n^B$ (les signaux illustrés ont été d'abord débruités). **A :** Estimation selon la moyenne d'ensemble des signaux obtenus en absence de stimulation ($M = \hat{a}_n^B = \Sigma_m(\zeta^A)$). **B :** Estimation selon la projection (P) du signal brut sur M . **C :** Représentation vectorielle de l'élimination de l'artefact par les deux méthodes ($S-P$, et $S-M$). **D :** Réponses évoquées estimées par les deux méthodes.

Elimination de la Pulsation Cardiaque

gp1bz037, ch 21

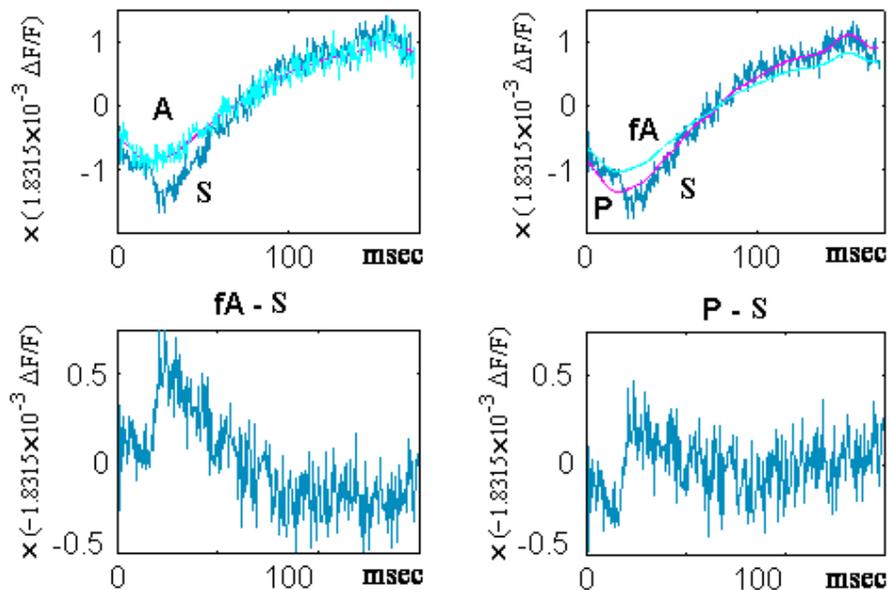


Figure 4-18. Comparaison de deux méthodes d'estimation de l'artefact hémodynamique : En haut à gauche, le signal acquis sans stimulation (**A**), utilisé pour calculer une première estimation de l'artefact cardiaque, et le signal avec la réponse du cortex au stimulus (**S**). En haut à droite, on peut observer la différence entre l'artefact estimé à partir du signal **A** par filtrage linéaire (**fA**), et la projection du signal **S** sur cet artefact estimé (**P**). En bas à gauche, l'activité neuronale estimée par soustraction de **fA**, et en bas à droite celle estimée par soustraction de **P**.

En conclusion, l'élimination précise de l'artefact s'avère très difficile par des méthodes linéaires simples, comme celles décrites précédemment. Cette difficulté est due à la nature de l'activité neuronale que l'on veut estimer et à la mauvaise reproductibilité de l'artefact. Ces erreurs peuvent être très gênantes au moment d'interpréter les signaux, comme il est expliqué dans l'Annexe 1. Il est donc nécessaire de trouver d'autres méthodes pour estimer cet artefact de manière précise.

4.3.5.6 Estimation de l'activité hémodynamique « structurelle »

D'autres techniques mathématiques servant à éliminer cet artefact de manière plus précise ont été explorées. La théorie de l'analyse des données fonctionnelles (FDA = Functional Data Analysis) (Ramsay & Silverman, 1997), et en particulier l'étude de déformations et d'alignement des courbes (Lindstrom, 1995; Ramsay & Li, 1998) s'adapte très bien à la

modélisation de ce type de problèmes dont l'objet d'étude peut être représenté par une fonction (e.g., une courbe, une image). Ces techniques permettent de prendre en compte le fait que la forme de l'artefact est similaire d'un enregistrement à l'autre, et que le type et l'amplitude des déformations qu'il subit sont limités par des contraintes physiques. Dans ce cas, l'artefact peut être modélisé par une fonction structurelle de base ($s(t)$) qui se déforme à chaque pulsation pour donner un artefact $a_m(t)$ à chaque enregistrement m . Les données observées (sans stimulation) peuvent être écrites sous la forme suivante :

$$y_{mk} = a_m(t_{mk}) + \varepsilon_{mk}; \quad k=1, \dots, K, \text{ et } m=1, \dots, M;$$

où K = nombre d'échantillons par enregistrement et M = nombre d'enregistrements. Chaque fonction $a_m(t)$ est inconnue et doit être estimée. Les déformations peuvent s'écrire, d'une manière générale, ainsi :

$$a_m(t) = h_m(s(g_m(t)))$$

Dans la plupart des cas $h_m(s)$ est supposé égal à 1, de manière que le problème à résoudre revient à estimer les fonctions de déformation temporelle $g_m(t)$. Il existe plusieurs techniques d'estimation pour ce type de modèle (Kneip et al., 2000; Lindstrom, 1995 ; Ramsay & Li, 1998; Rønn, 1998; Wang & Gasser, 1997; Wang & Gasser, 1999).

Afin d'utiliser ces algorithmes pour éliminer les artefacts du signal de fluorescence, il est nécessaire d'introduire des contraintes heuristiques dans le modèle. En particulier, ce modèle n'est valable que pour les intervalles du signal pour lesquels la réponse évoquée est négligeable ; il faut donc limiter les déformations dans les intervalles pour lesquels la réponse évoquée est importante.

Nous avons étudié en particulier un algorithme d'estimation développé par Wang et Gasser pour lequel des algorithmes de démonstration de la méthode étaient mis à disposition par les auteurs (Wang & Gasser, 1997). Quelques signaux de test, sans réponse évoquée, ont été traités avec cet algorithme avec des résultats préliminaires intéressants. Néanmoins, la complexité des algorithmes, la difficulté d'adaptation du code (lequel était mal documenté) à nos outils de développement, son coût en temps de calcul, le fait que les algorithmes d'estimation disponibles ne soient pas adaptés à l'utilisation des contraintes, et le manque de temps, nous ont conduit à ne pas continuer cette étude.

Malgré cela, la raison pour laquelle je cite cette technique est qu'elle me paraît être une voie intéressante d'explorer dans le futur. En particulier, la généralisation de la méthode pour des données multi-sites et pour les contraintes mentionnées auparavant, permettrait en principe d'améliorer la précision de l'estimation de l'artefact, bien que ceci ne semble pas être une tâche facile.

4.4 Détection et caractérisation d'événements unitaires d'activité locale neuronale

Un autre problème que nous avons étudié est celui de la caractérisation du signal $L_{\Delta F/F}$. L'étude théorique de ce problème a été déjà présentée dans la section 3.3 ; plusieurs manières pour caractériser le signal ont été proposées. Parmi les définitions d'activité neuronale proposées, nous avons supposé l'existence d'événements de synchronie locale de l'activité neuronale que nous avons appelé « événements unitaires » (UE) 3.3.4. Ces UE sont censés représenter l'activité coopérative d'ensembles de neurones pendant des événements neuronaux liés à la perception ; ils seraient une sorte de « signature » de ces événements.

Une fois que nous avons débruité le signal $L_{\Delta F/F}$ et que nous avons obtenu une courbe estimée des variations du potentiel de membrane locale intégrée (que nous avons appelé signal LIMP : *Local Integrated Membrane Potential*), l'étape suivante consiste à détecter et à caractériser les UE dans ce signal.

Nous allons exprimer le signal LIMP ($s(t)$) comme la somme de deux composantes d'activité intrinsèque (i.e. neuronale). La première composante $f(t)$ est censée représenter l'activité synaptique moyenne qui résulte des variations dans l'intensité de l'arrivée des PA aux synapses dans le volume observé par un photodétecteur, où les PA arrivent de manière aléatoire et indépendante (voir sections 3.2 et 3.4.1). La deuxième composante ($u(t)$) est un train d'UE qui reflètent l'activité synchrone des neurones dans le site observé. Nous avons supposé que ces UE ont une faible amplitude et une forme proche de la Gaussienne. Ces deux composantes se combinent de manière linéaire :

$$s(t) = f(t) + u(t) = f(t) + \sum_{k=1}^K UE(t-t_k, \lambda_k, c_k) = f(t) + \sum_{k=1}^K c_k \exp\left(-\frac{(t-t_k)^2}{2\lambda_k^2}\right)$$

4.4.1 Détection et caractérisation des événements par la TO

La détection et la caractérisation d'événements, de faible amplitude et localisés dans le temps, dans les signaux d'activité neuronale, peuvent être réalisées en utilisant des techniques basées sur la transformée en ondelettes (TO) (e.g., (Ende et al., 1998; Mayer-Kress, 1994)). En particulier, deux propriétés de la TO continue (TOC) sont d'intérêt (Ende et al., 1998).

- La TO est un opérateur différentiel multi-échelle, qui fonctionne comme un ensemble des lentilles optiques permettant d'observer les détails du signal avec différents agrandissements. Son affaiblissement asymptotique dépend donc de la régularité locale du signal.

- L'affaiblissement asymptotique de l'amplitude de la TO, quand l'échelle s'approche du zéro, indique la régularité Lipschitz du signal. Une mesure de la régularité par la TO, grâce à sa propriété d'agrandissement, peut être utilisée de manière effective pour détecter les échelles où des événements significatifs se produisent. En particulier, on peut localiser et caractériser les singularités du signal.

Effectivement, nous pouvons montrer (Mallat, 1999) que l'ondelette $\psi(t)$, avec n moments nuls, peut être écrite comme la n -dérivée d'une fonction $\theta(t)$:

$$\psi_n(t) = (-1)^n \frac{d^n \theta(t)}{dt^n}$$

et par conséquent, la TO fonctionne effectivement comme un opérateur différentiel multi-échelle :

$$Ws(a,b) = a^n \frac{d^n}{db^n} (s * \theta_a)(b)$$

Si le signal $s(t)$ est n fois continûment différentiable en $t = b$, la TO converge à la n -dérivée de $s(t)$ quand l'échelle (a) s'approche de zéro :

$$\lim_{a \rightarrow 0} \frac{Ws(a,b)}{a^{n+1/2}} = Ks^{(n)}(b)$$

Selon le nombre de moments nuls n on peut détecter la localisation des différentes caractéristiques ou singularités du signal, qui correspondent à des événements significatifs en temps et en échelle ; ceci est réalisé par l'étude des *maxima locaux* ou des passages par zéro de la transformée. Par exemple : une ondelette qui n'a qu'un seul moment nul nous permet de détecter des points de pente maximale, des *minima locaux* ou des *maxima locaux* ; tandis qu'une ondelette avec deux moments nuls nous permet de détecter des points de courbure maximale. Ainsi, on caractérise effectivement le signal à chaque échelle.

Les singularités peuvent être détectées et caractérisées en examinant la propagation des lignes d'*extrema locaux* (ou *modulus maxima*) de la TO (courbes connectées des extrema locaux à chaque échelle) vers les échelles les plus fines (Mallat & Hwang, 1992). Cette propagation dépend de la fonction $\theta(t)$ correspondant à l'ondelette $\psi(t)$ utilisée. En particulier, si $\theta(t)$ est une Gaussienne, ces lignes convergent vers les localisations temporelles des singularités quand l'échelle tend vers zéro (Mallat, 1999).

Cependant, les signaux LIMP optiques, estimés par débruitage des signaux $L_{\Delta F/F}$, n'ont pas *a priori* des singularités importantes qui signalent les événements neuronaux qui nous intéressent. Toutefois, étant donné que les UE peuvent être modélisés de manière approximative par la convolution des pulses isolés avec une fonction gaussienne (voir 3.3.4 et 3.4.2), nous pouvons analyser chaque UE comme une singularité qui a été filtrée par un filtre gaussien.

Chaque UE peut être écrit comme :

$$UE(t-t_k, \lambda_k, c_k) = u_k(t) = c_k \lambda_k \sqrt{2\pi} [\delta(\cdot - t_k) * g(\cdot, \lambda_k)](t) , \text{ avec } g(t, \lambda_k) = \frac{1}{\lambda_k \sqrt{2\pi}} \exp\left(-\frac{(t-t_k)^2}{2\lambda_k^2}\right)$$

Les UE modélisés de cette manière peuvent être détectés et caractérisés si l'on utilise des ondelettes qui sont des dérivatives de la Gaussienne (i.e. $\theta = Gauss(\theta, \rho)$). Dans ce cas, la valeur estimée de λ_k peut être obtenue par l'étude de l'affaiblissement de l'amplitude des lignes d'*extrema locaux* de la TO aux échelles les plus fines (i.e. telles que : $a < \lambda_k/\rho$), quand elles convergent vers les instants t_k ; cette procédure est décrite dans (Mallat, 1999).

Cependant, cette procédure est coûteuse en temps de calcul, puisqu'il faut calculer la TOC pour un nombre important d'échelles, détecter les extrema locaux dans chaque échelle, et construire les lignes d'*extrema locaux* afin de les analyser.

4.4.2 Reconnaissance des formes (*matched pattern analysis*) avec la TO

Quand la taille des événements neuronaux d'intérêt n'est pas connue d'avance, on peut l'estimer par l'étude du comportement d'une mesure de régularité dépendant de l'échelle, calculée pour toutes les échelles. Ceci peut être fait avec le spectre d'échelle-énergie ou fonction indicatrice ; cette fonction est la somme de l'énergie des détails à chaque échelle dans un intervalle $[b_{min}, b_{max}]$ d'intérêt :

$$n(a) = \int_{b_{min}}^{b_{max}} |Ws(a,b)|^2 db$$

Si l'énergie est également distribuée dans toutes les échelles, alors $n(a)$ est censée s'affaiblir régulièrement au fur et à mesure que l'échelle tend vers zéro. Toute déviation ou maxima locaux du taux prévu d'affaiblissement localisé dans l'échelle a_0 indique l'existence d'événements inattendus de taille a_0 (Ende et al., 1998).

Le calcul de la TO sur une gamme d'échelles $[a_{min}, a_{max}]$ et sur un intervalle d'intérêt $[b_{min}, b_{max}]$, est donc équivalent à une analyse de reconnaissance de formes avec une ondelette spécifique $\psi(t)$, réalisé de façon simultanée sur toute la gamme d'échelles et sur l'intervalle de temps choisi :

$$Ws(a,b) = \langle s(t), \psi_{a,b} \rangle,$$

où:

$$\psi_{a,b}(t) = \frac{1}{\sqrt{a}} \psi\left(\frac{t-b}{a}\right)$$

Ainsi, si l'ondelette ψ est choisie de manière à bien correspondre avec la forme de l'événement d'intérêt, on peut facilement détecter et caractériser les UE par une analyse des *maxima locaux* de la TO dans des échelles d'intérêt.

4.4.3 Détection et caractérisation des UE en utilisant des dérivées de la Gaussienne

Nous avons vu (section 4.4.1) que l'utilisation des dérivées d'une fonction de Gauss est un choix naturel d'ondelette pour la détection et caractérisation des UE dans les signaux LIMP. Son utilisation garantit que les lignes de maxima locaux se propagent vers les échelles les plus fines (Mallat, 1999), et donc, que les UE peuvent être détectés et caractérisés avec précision. En plus, ces formes sont naturellement adaptées à la forme hypothétique des UE, non seulement dans des signaux LIMP où les UE sont supposés avoir une forme gaussienne, mais aussi pour des signaux LFP où les UE sont supposés être bien représentés par la dérivée d'une fonction de Gauss (voir section 3.3.4).

L'utilisation de la procédure d'analyse de reconnaissance des formes dans le cas des signaux LFP est directe, puisque les UE peuvent être modélisés en ce cas par la dérivée première d'une fonction de Gauss (3.3.4), et une ondelette de cette forme s'adapte naturellement. Cependant, ceci n'est pas le cas pour les signaux LIMP où les UE sont modélisés par la fonction de Gauss elle-même. Dans ce dernier cas on pourrait résoudre le problème en modélisant chaque UE par la convolution d'une fonction de Gauss avec un pulse de Dirac, et ainsi utiliser la procédure décrite dans la section 4.4.1, qui sert à détecter et caractériser des singularités filtrées ; ceci peut être réalisé en utilisant des ondelettes dérivées de la fonction de Gauss et en analysant l'affaiblissement de la TO. Dans le cas qui nous occupe, nous pouvons supposer une valeur *a priori* de la taille des événements, et ainsi restreindre l'analyse à une gamme d'échelles $[a_{min}, a_{max}]$. Etant donné que la dispersion espérée des UE ($\lambda_k < 10$ msec ; voir 3.3.4) est d'environ 10 fois la période d'échantillonnage (0.576 msec), nous pouvons réaliser l'analyse à des échelles assez fines qui correspondent à cette dispersion (e.g., $a_{min} \sim 2$ msec, $a_{max} \sim 10$ msec).

Néanmoins, les temps de calcul de ces analyses peuvent être significatifs. Une solution moins précise mais plus rapide consiste à restreindre l'analyse à uniquement une ou deux échelles dans l'intervalle $[a_{min}, a_{max}]$. Dans ce cas nous ne pouvons pas analyser l'affaiblissement de la TO ; cependant, si l'on utilise une ondelette qui est la dérivée d'une Gaussienne, on peut obtenir une valeur estimée des paramètres des UE avec l'information obtenue dans ces échelles uniquement.

Par exemple, si l'on utilise la première et la deuxième dérivée (chapeau mexicain) d'une Gaussienne pour $a = 1$, nous avons :

$$\theta_n(t) = K_n \frac{1}{\rho\sqrt{2\pi}} \exp\left(-\frac{t^2}{2\rho^2}\right), \quad \psi_n(t) = (-1)^n \frac{d^n \theta_n(t)}{dt^n}$$

$$\psi_{dGauss}(t) = K_{dGauss} t \exp\left(-\frac{t^2}{2\rho^2}\right), \quad K_{dGauss} = \frac{\sqrt{2}}{\pi^{1/4} \rho^{3/2}}, \quad K_1 = 2\pi^{1/4} \rho^{3/2}$$

$$\psi_{d^2Gauss}(t) = K_{d^2Gauss} \left(\frac{t^2}{\rho^2} - 1\right) \exp\left(-\frac{t^2}{2\rho^2}\right), \quad K_{d^2Gauss} = \frac{2}{\sqrt{3} \sqrt{\rho} \pi^{1/4}}, \quad K_2 = \frac{2^{3/2}}{\sqrt{3}} \pi^{1/4} \rho^{5/2}$$

Ensuite on calcule à chaque échelle la convolution de chaque UE ($u_k(t)$) avec chaque ondelette :

$$Wu_{dGauss}(I, t) = [u_k(\cdot) * \psi_{dGauss}(\cdot)](t)$$

$$Wu_{d^2Gauss}(I, t) = [u_k(\cdot) * \psi_{d^2Gauss}(\cdot)](t)$$

et on calcule ensuite les *extrema locaux* et les passages par zéro.

Par exemple, la convolution d'un chapeau mexicain avec un UE d'amplitude c_k et localisé en t_k donne comme résultat :

$$Wu_{d^2Gauss}(I, t) = c_k K \left((t - t_k)^2 - (\rho^2 + \lambda_k^2) \right) \exp\left(-\frac{(t - t_k)^2}{2(\rho^2 + \lambda_k^2)}\right), \quad \text{Equation 4-2}$$

$$K = \lambda_k \frac{2\sqrt{2}}{\sqrt{3}} \pi^{1/4} \left(\frac{\rho}{(\rho^2 + (\lambda_k)^2)} \right)^{5/2}$$

Nous pouvons donc estimer la localisation de chaque UE (t_k) par la localisation des *extrema locaux* de Wu_{d^2Gauss} , ensuite la valeur de λ_k à partir de ses passages par zéro ($t_{zc} = t_k + (\rho^2 + \lambda_k^2)^{1/2}$), puisque nous connaissons la valeur de ρ :

$$\lambda_k = ((t_{zc} - t_k)^2 - \rho^2)$$

Finalement, nous pouvons estimer l'amplitude de chaque UE par :

$$c_k = - (K(\rho^2 + \lambda_k^2))^{-1} Wu_{d^2Gauss}(I, t_k) \quad \text{Equation 4-3}$$

De la même manière, nous pouvons estimer les paramètres des UE à chaque échelle d'intérêt, à partir de la localisation et de la magnitude des *extrema locaux* et des passages par zéro de Wu_{dGauss} ou de Wu_{d^2Gauss} dans chacune de ces échelles.

En outre, l'utilisation des *extrema locaux* de Wu_{dGauss} au lieu des passages par zéro de Wu_{d^2Gauss} , permet non seulement d'estimer la valeur de λ_k , sinon de réaliser plus facilement la recherche des intervalles d'activité puisque l'on garde l'information sur la direction de la pente, information qui manque dans Wu_{d^2Gauss} . Il faut noter aussi que Wu_{dGauss} est moins sensible aux fluctuations rapides que Wu_{d^2Gauss} , ce qui est important quand les données sont bruitées. Cependant, l'utilisation de Wu_{d^2Gauss} est pour sa part moins sensible aux variations lentes, ce qui est aussi important dans notre cas puisque les UE peuvent être superposés aux variations lentes.

Une combinaison de deux informations permet donc de détecter et caractériser plus facilement et plus précisément les UE, et c'est l'approche que nous avons choisie.

4.4.4 Détection et caractérisation des UE en utilisant des Ondelettes B-Spline et la Transformée en Ondelettes Dyadique

La méthode de détection et caractérisation des UE décrite dans la section précédente est coûteuse en temps de calcul, puisqu'elle nécessite le calcul de la transformée en ondelettes continue (TOC). Ceci est un problème pour notre application, étant donné que nous voulons faire ce calcul pour 144 canaux d'enregistrement (ou plus). De plus, nous nous intéressons uniquement à l'analyse d'une ou deux échelles de décomposition, et sur des données échantillonnées. Nous avons donc étudié la possibilité de réaliser ce calcul en utilisant une transformée en ondelettes discrète. Étant donné que nous nous intéressons à la localisation et à la durée précise des événements, il nous fallait une représentation invariante par translation.

La transformée en ondelettes dyadique (TOD2) (voir Annexe 2, section 9.10) s'adapte à notre besoin ; celle-ci est une transformée invariante par translation puisque le paramètre de translation (b) est une variable continue, seule l'échelle est discrétisée par un facteur dyadique ($a \sim 2^k$; $k \in \mathbb{Z}$). De plus, un algorithme rapide existe pour calculer les valeurs de la TOD2 sur une grille de temps discrétisée, connu sous le nom d'« algorithme à-trous », (voir Annexe 2, section 9.10). Cet algorithme fournit donc une représentation du signal sur une grille discrète en temps et en échelle (au contraire de la TOC) et invariante par translation (au contraire de la TOO). En outre, cette représentation est inversible si les ondelettes utilisées sont bien construites (si elles forment un repère (*frame*), voir Mallat (1999)).

L'algorithme à-trous est implémenté par une banque de filtres discrets, passe-bas (f) et passe-haut (g), où f est souvent un filtre interpolateur (à-trous) qui permet de dilater implicitement une version discrète de l'ondelette rapidement, d'échelle en échelle. En outre, les filtres f et g doivent avoir une longueur finie et minimale pour que l'algorithme soit efficace. Cependant, les ondelettes dérivées de la fonction de Gauss ($\psi_d^i \text{Gauss}(t)$; i = ordre de la dérivée) sont des fonctions continues et de support infini, qui ne peuvent pas être implémentées directement de cette manière. Toutefois, il est en principe possible de calculer (avec cet algorithme) une approximation de la TOD avec une ondelette quelconque si f est « à-trous » ($f_{2k} = \delta(k)/\sqrt{2}$), en échantillonnant l'ondelette et en définissant $g(k) = \psi_d^i \text{Gauss}(-kT)$ (Shensa, 1992). Néanmoins, cette option ne donne pas nécessairement une bonne approximation, et elle n'est pas toujours inversible puisque $\{\psi_d^i \text{Gauss}(kT)\}_k$ n'est pas toujours un repère (voir (Mallat, 1999)).

Une meilleure option consiste à utiliser un autre type d'ondelette avec des propriétés similaires à $\psi_d^i \text{Gauss}(t)$, mais plus adaptées à cet algorithme. Nous avons donc choisi des ondelettes pour lesquelles la fonction d'échelle est un B-Spline ($\phi(t) = B^n(t)$, où n est l'ordre du B-Spline), puisque cette fonction approxime très précisément la fonction de Gauss et puisqu'elle sert à

construire des ondelettes de support compact qui approximent les $\psi_{d^{j}Gauss}(t)$. Plus précisément, on a choisi les ondelettes construites à partir de $B^3(t)$, de la forme :

$$\begin{aligned}\psi_{2^j}^1(t) &= \sqrt{2^j} (2^{j-2}) \frac{d}{dt} B_{2^{j-1}}^4(t), \\ \psi_{2^j}^2(t) &= -\sqrt{2^j} (2^{j-2})^2 \frac{d^2}{dt^2} B_{2^{j-1}}^5(t),\end{aligned}$$

avec :

$$B_{2^j}^n(t) \approx G_{2^j}^n(t) = \frac{1}{2^{j-1} \sqrt{2\pi} \sqrt{(n+1)/12}} \exp\left(\frac{-t^2}{2(2^{j-1})^2((n+1)/12)}\right)$$

où $B_{2^j}^n(t)$ et $G_{2^j}^n(t)$ sont les fonctions B-Spline d'ordre n et son approximation Gaussienne, dilatées par le facteur d'échelle 2^{j-1} ; et $\psi_{2^j}^1(t)$ et $\psi_{2^j}^2(t)$ sont donc des ondelettes proportionnelles à la première et deuxième dérivées de $B_{2^j}^3(t)$, respectivement (voir Annexe 2, section 9.10.1).

La méthode pour détecter et caractériser les UE est la même dans le cas des ondelettes B-Spline que dans le cas des $\psi_{d^{j}Gauss}(t)$. Par exemple, dans le cas de l'ondelette à deux moments nuls on trouve l'expression générale suivante pour l'échelle $a = 2^j$:

$$\begin{aligned}\psi_{2^j}^2(t) &\approx -Q \left(\frac{t^2}{\rho^2} - 1 \right) \exp\left(\frac{-t^2}{2\rho^2}\right), \\ \text{avec : } Q &= \sqrt{2^j} (2^{j-2})^2 \frac{1}{\sqrt{2\pi\rho^3}}, \text{ et } \rho = 2^{j-1} \sqrt{\frac{n+1}{12}}\end{aligned}$$

La convolution de chaque UE avec cette ondelette est décrite par (voir Equation 4-2) :

$$\begin{aligned}Wu_{d^2B^3}(2^j, t) &\approx c_k K ((t - t_k)^2 - (\rho^2 + \lambda_k^2)) \exp\left(-\frac{(t - t_k)^2}{2(\rho^2 + \lambda_k^2)}\right) \\ \text{avec : } K &= \frac{\lambda_k \sqrt{2\pi\rho^3} Q}{(\rho^2 + \lambda_k^2)^{5/2}}\end{aligned}$$

Ainsi, on peut estimer à chaque échelle la valeur de c_k par (voir Equation 4-3):

$$c_k \approx -\left(\lambda_k \sqrt{2\pi} Q \left(\frac{\rho^2}{\rho^2 + \lambda_k^2}\right)^{3/2}\right)^{-1} Wu_{d^2B^3}(2^j, t_k)$$

Les valeurs estimées doivent cependant être corrigées, puisqu'il existe une erreur d'approximation perceptible dans les amplitudes et les dispersions estimées par les deux types d'ondelettes (B-Spline et Gaussienne) (voir Figure 9-1). Nous avons estimé dans le cas de $\psi_{2^j}^2(t)$

une erreur d'approximation d'environ -11% pour l'amplitude ($\psi_{2j}^2(0)$) et d'environ +6% pour la valeur de la dispersion.

Finalement, il faut noter quelques problèmes pratiques. Premièrement, même si l'algorithme à-trous, implémenté avec les filtres f et g correspondant aux ondelettes B-Spline, approxime effectivement la TOD2 avec ces ondelettes, l'erreur d'approximation est importante dans les résolutions les plus fines. Nous n'avons pas caractérisé ce problème de manière théorique, mais nous l'avons étudié de manière empirique pour l'ondelette $\psi_{2j}^2(t)$ (nous avons comparé la valeur estimée de $\psi_{2j}^2(0)$ à sa valeur théorique à travers les niveaux de décomposition ; voir Figure 4-19). Cette erreur diminue rapidement, au fur et à mesure que l'on itère l'algorithme et que l'échelle augmente, de manière qu'elle est faible au troisième niveau de décomposition, et négligeable à partir du quatrième. Deuxièmement, une erreur se produit aussi dans les résolutions les plus grossières au fur et à mesure que l'on s'approche du bord de l'intervalle d'analyse puisque le support de l'ondelette dépasse la limite de l'intervalle. Ainsi les échelles pour lesquelles l'erreur totale est négligeable, et pour lesquelles les calculs présentés auparavant sont valides, varient selon le nombre de données (N) dont on dispose, et selon la position de l'événement que l'on veut caractériser.

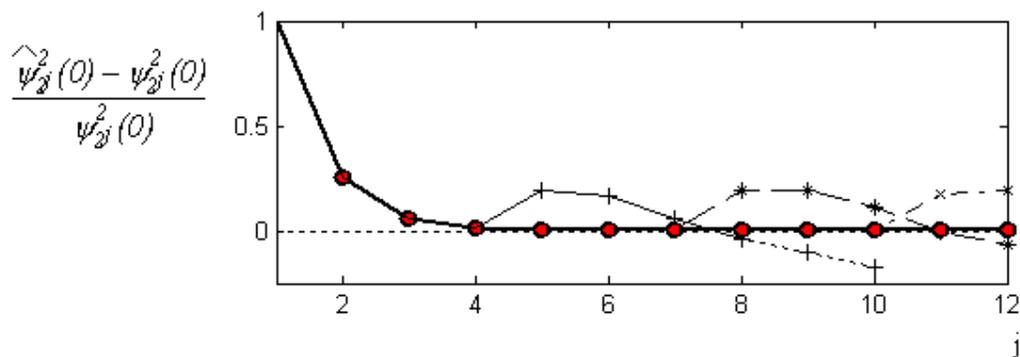


Figure 4-19. Erreur relative de l'amplitude de l'ondelette B-Spline cubique de 2 moments nuls, estimée avec la décomposition d'un pulse de Dirac avec l'algorithme à-trous, à chaque niveau de la décomposition (o). Dans les résolutions les plus fines l'erreur est importante, mais elle diminue rapidement et à partir de $j = 3$ elle est faible ou négligeable. Une autre erreur est introduite par la longueur finie de l'intervalle d'analyse dans les résolutions plus grossières, elle dépend de la localisation du pulse (+ : 10, * : 100, x : 1024 échantillons) par rapport aux limites de l'intervalle.

Une manière simple de résoudre le premier problème est d'augmenter la résolution du signal par interpolation, par 2^3 ou 2^4 , de manière à éviter l'erreur plus importante. Cependant, cette solution résulte en une augmentation importante du temps de calcul. Etant donné que nous cherchons des événements d'une durée de l'ordre de magnitude de 10 msec, et que la période d'échantillonnage est de 0.576 msec, nous avons plutôt analysé le signal uniquement entre le 3^{ème} et le 4^{ème} niveaux de décomposition, où l'erreur est faible ou négligeable. Par rapport aux problèmes d'estimation aux limites de l'intervalle : il existe plusieurs manières de le résoudre,

nous avons réalisé une extension des données par réflexion, comme il est expliqué dans la section 4.3.3.6 ; cette technique est simple et efficace pour éviter ce problème.

Les UE peuvent ensuite être estimés par double seuillage des intensités dans les deux niveaux d'analyse, afin d'éliminer des fluctuations trop faibles et trop fortes, respectivement. Les valeurs des seuils doivent être de l'ordre de magnitude de l'intensité espérée des UE et de l'écart type du bruit présent dans le signal non débruité.

4.4.5 Résultats sur des signaux $L_{\Delta F/F}$ simulés

Nous avons testé cet algorithme avec des signaux simulés, issus du modèle présenté dans la section 3.4, et avec des données réelles. Un exemple de détection et caractérisation des UE dans un signal $L_{\Delta F/F}$ simulé est illustré dans la Figure 4-21 ; la TOD2 de ce signal, calculée avec l'ondelette B-Spline cubique de 2 moments nuls, et ses maxima locaux, sont illustrés dans la Figure 4-20. La localisation et l'amplitude des UE ont été estimées à partir de la localisation et de l'amplitude des maxima locaux de $\psi_{2j}^2(t)$, les dispersions ont été estimées à partir de extrema locaux de $\psi_{2j}^1(t)$. Nous avons supposé une amplitude assez faible des UE ($c_k \sim 0.05$) par rapport à l'amplitude de la réponse moyenne (~ 0.4) ($\Delta F/F$), et deux seuils de σ et 5σ afin d'éliminer les fluctuations trop faibles et trop intenses, respectivement. La valeur de σ a été choisie de l'ordre de magnitude de l'amplitude des UE (e.g., pour les simulations $\sigma \approx 0.02$; sur des données bruitées ce seuil peut être choisi de l'ordre de magnitude de l'écart type du bruit). L'intensité de l'activité neuronale sous-jacente simulée contient 4 événements synchrones, simulés par des pics d'intensité avec une faible dispersion (~ 1 msec), localisés en $\{t'_k\}_{k=1..4} = \{125, 150, 180, 200\}$ msec (ceci simule une oscillation du potentiel de membrane dans la bande gamma, ~ 40 Hz). Les valeurs espérées d'intensité, dispersion et localisation des UE sur les signaux ainsi simulés sont respectivement : $c = 0.0542$, $\lambda = 4$ et $\{t_k\}_{k=1..4} = \{132, 156, 186, 206\}$ (valeurs espérées estimées par la moyenne empirique des paramètres sur un ensemble de 100 signaux simulés).

Les valeurs estimées au 3^{ème} niveau de décomposition sont respectivement :

$$\{\hat{t}_k\}_{k=1..5} = \{129.6000 \ 155.5200 \ 183.7440 \ 207.3600 \ 219.4560\} \text{ msec}$$

$$\{\hat{c}_k\}_{k=1..5} = \{0.0250 \ 0.0659 \ 0.0555 \ 0.0298 \ 0.0290\} (\Delta F/F)$$

$$\{\hat{\lambda}_k\}_{k=1..5} = \{2.3040 \ 3.3214 \ 3.6430 \ 3.3214 \ 4.2717\} \text{ msec}$$

Dans cet exemple, les 4 UE ont été détectés et caractérisés avec l'information du troisième niveau de décomposition uniquement. Les valeurs des paramètres des UE sont proches des valeurs théoriques. L'estimation peut être améliorée si l'on utilise l'information contenue dans d'autres niveaux de la décomposition (4 et/ou 5).

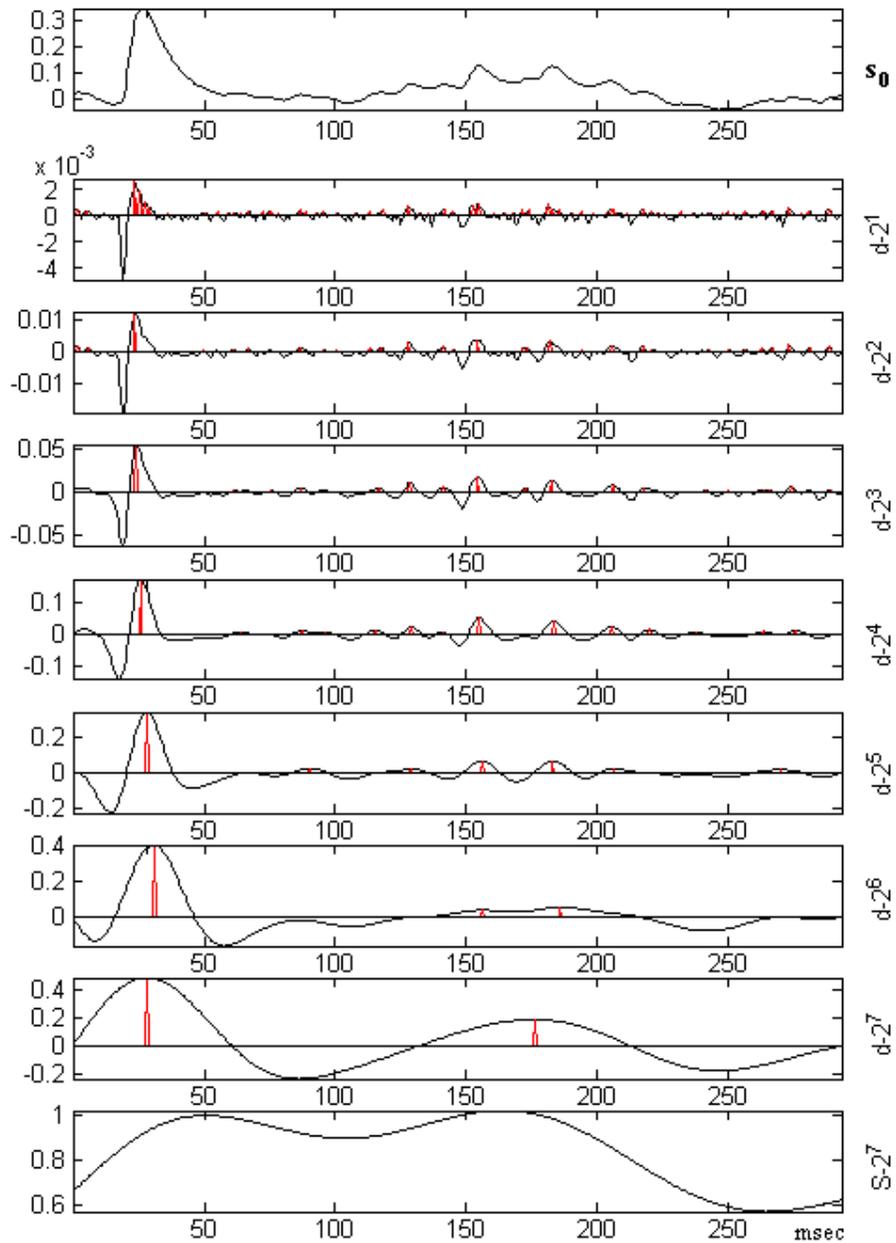


Figure 4-20. TOD2 (ondelette B^3-2 moments nuls) d'un signal $L_{\Delta F/F}$ simulé, calculée avec l'algorithme à-trous, et ses maxima locaux. Le signal simulé contient 4 UE ($\{t_k\}_{k=1..4} \approx \{132, 156, 186, 206\}$ msec).

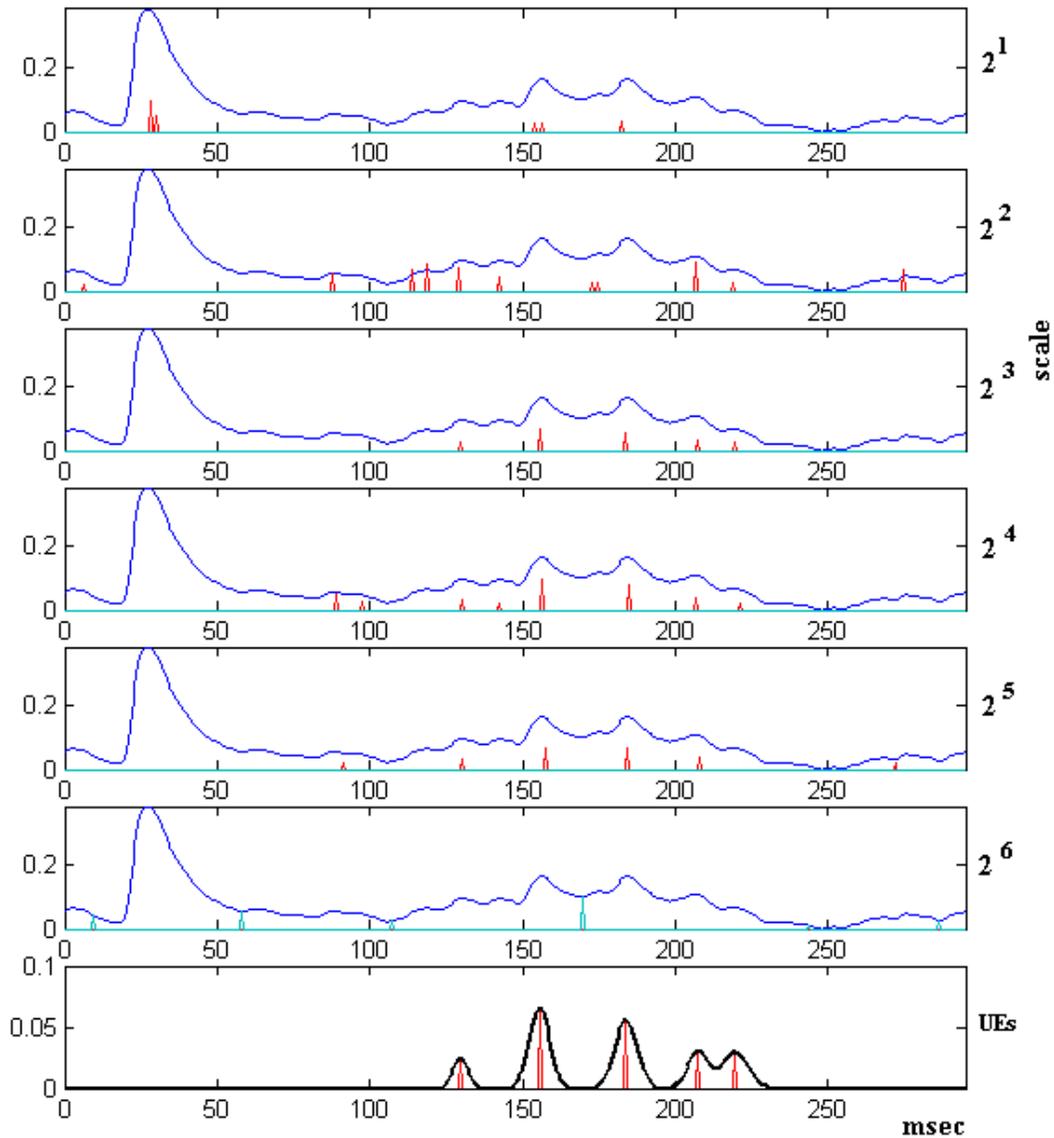


Figure 4-21. Détection et caractérisation des UE dans un signal simulé, à partir de la décomposition en ondelettes dyadiques (B^3-1 et 2 moments nuls), calculé avec l'algorithme à-trous. Le signal simulé contient 4 UE ($\{t_k\}_{k=1..4} = \{132, 156, 186, 206\}$). Dans cet exemple les 4UE sont détectés à ($\{\hat{t}_k\}_{k=1..4} = \{129.6000 \ 155.5200 \ 183.74 \ 207.36\}$) msec, plus un faux UE (à 219.46 msec). La période d'échantillonnage est $T_s = 0.576$ msec. A chaque niveau de la décomposition, les instants et les amplitudes des fluctuations, après seuillage, sont indiqués.

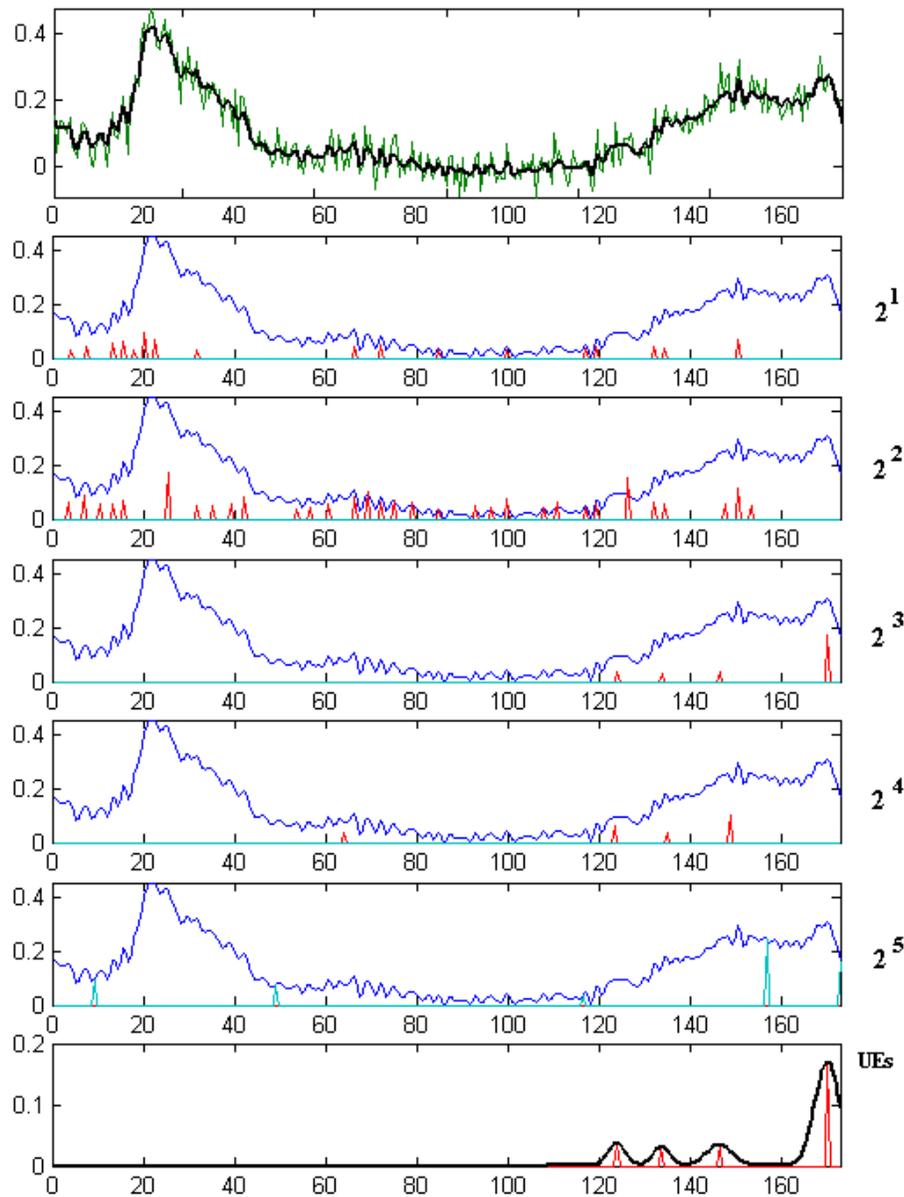


Figure 4-22. Détection et caractérisation des UE dans un signal réel débruité, à partir du troisième niveau de décomposition de la TOD2 B-Spline cubique, calculé avec l'algorithme à-trous. Dans cet exemple 4UE sont détectés à $(\{\hat{t}_k\}_{k=1,4} = \{123.84 \ 133.63 \ 146.30 \ 169.92\}$ msec). Période d'échantillonnage : 0.576 msec. Stimulus : FM 16 \rightarrow 4 kHz. En haut, le signal brut et le signal débruité par la méthode *Decompshrink*.

4.4.6 Résultats sur des signaux $L_{\Delta F/F}$ réels

Nous avons ensuite utilisé cet algorithme sur des signaux réels. L'exemple de la Figure 4-22 montre les résultats obtenus sur un signal correspondant à la moyenne d'ensemble de 10 enregistrements de l'activité corticale en réponse à un stimulus FM (16 \rightarrow 4 kHz). L'activité spatio-temporelle est illustrée dans la Figure 5-12, le signal analysé correspond au site de mesure (11, 5). Le signal a été débruité par la méthode *Decompshrink*, et puis l'algorithme de détection de UE par ondelettes B-Spline cubique a été appliqué. Un seuil de 0.86σ a été utilisé pour choisir les coefficients correspondant aux UE (écart type du bruit : $\sigma = 0.0355$). L'algorithme détecte 4 UE dans le 3^{ème} niveau de la TOD, aux instants : ($\{\hat{t}_k\}_{k=1..4} = \{123.84 \ 133.63 \ 146.30 \ 169.92\}$ msec), et d'une amplitude du même ordre de magnitude que l'écart type du bruit (σ). Le quatrième UE détecté est très intense, mais il est probablement surestimé puisqu'il est trop proche de la fin de l'intervalle, et l'extension par réflexion prolongerait la chute du potentiel, et augmenterait son amplitude, de manière artificielle.

4.5 Discussion

Dans ce chapitre nous avons exposé quelques méthodes de traitement du signal de fluorescence. D'abord, nous avons étudié la manière d'éliminer le bruit provenant des instruments ; nous avons étudié et testé quelques méthodes de débruitage, et nous avons proposé des améliorations aux méthodes existantes. Nous avons ensuite étudié les techniques communément utilisées pour éliminer l'artefact hémodynamique, nous avons montré les erreurs que l'on rencontre lorsque l'on utilise ces techniques sur le signal optique, et nous avons exposé les problèmes d'interprétation des résultats qui génèrent ces erreurs ; nous avons aussi exploré et proposé, sans les développer, des nouvelles techniques qui peuvent s'avérer utiles pour traiter ce problème. Finalement, nous avons étudié le problème de détection et de caractérisation de certaines fluctuations du signal optique (que nous avons appelées « événements unitaires » (UE). Nous avons supposé que ces fluctuations existent dans ce signal et qu'elles représentent les « signatures » des événements neuronaux corrélés aux phénomènes de perception ou représentation de l'information sensorielle.

Par la suite, nous allons détailler chacun des aspects de notre recherche :

4.5.1 Le débruitage du signal $L_{\Delta F/F}$

Par rapport au débruitage du signal de fluorescence, nous avons privilégié l'utilisation des méthodes non linéaires par rétrécissement des coefficients de la TOO. Cette technique nous a semblé la mieux adaptée à notre problème : tout d'abord, parce que les variations du potentiel

de membrane mesurées avec le signal de fluorescence sont censées représenter des phénomènes neurobiologiques complexes, qui se produisent à plusieurs échelles, à différentes vitesses et de manière transitoire ; d'autre part, parce que la distribution du bruit instrumental a été identifiée avec la distribution Gaussienne.

Parmi les méthodes que nous avons étudié, nous avons trouvé les techniques Bayésiennes particulièrement performantes. Nous nous sommes plus particulièrement intéressés, à la méthode BAMS (Vidakovic & Ruggeri, 2001) et à la méthode de décomposition stochastique (*Decompshrink*) (Huang & Cressie, 2000). Ce deuxième choix est naturel, étant donné que les changements de potentiel de membrane mesurés avec le signal de fluorescence sont de nature stochastique. De plus, nous avons observé que les fluctuations faibles et rapides du signal, que nous voulons récupérer et étudier, sont mieux représentés par ce modèle hiérarchique, flexible, que par les modèles plus simples et plus rigides utilisés habituellement.

D'autre part, nous avons proposé un algorithme itératif qui diminue les problèmes posés par la non-invariance par translation de la TOO, qui permet de mieux récupérer les fluctuations du signal, et qui diminue le biais de l'estimation. Ceci consiste à itérer l'algorithme de débruitage, et à chaque itération déplacer les résidus d'1 échantillon. L'application du débruitage itératif (twicing) uniquement n'améliore pas toujours l'estimation, tout comme l'application de la translation toute seule. Par contre, la combinaison de deux approches permet d'obtenir de meilleurs résultats avec un coût de calculs acceptable ; très souvent l'algorithme converge rapidement, en deux ou trois itérations, jusqu'à obtenir des résidus de distribution normale et complètement décorrélés. Ainsi, de tous les algorithmes étudiés, la méthode $D-\hat{\sigma}_{svag}(I + T + \sigma_I)$ (*Decompshrink I*, itérative, avec translation des résidus à chaque itération, et pour laquelle la variance du bruit est estimée uniquement à la première itération) est celle qui semble donner les meilleurs résultats.

Un problème difficile à résoudre et qui nécessite d'être étudié est celui de l'estimation de la variance du bruit quand le signal à estimer contient une composante stochastique. Une bonne estimation de cette valeur est cruciale pour le bon fonctionnement de tous les algorithmes étudiés. Dans notre cas, ce problème a été la source plus importante d'erreurs d'estimation du signal.

Finalement, il faut noter que même si l'algorithme $D-\hat{\sigma}_{svag}(I + T + \sigma_I)$ converge souvent en quelques itérations à une séparation du signal et du bruit, ce résultat n'est pas toujours assuré. Dans plusieurs cas, le signal estimé reste très bruité, dans certains cas il est trop adouci, et dans d'autres cas d'autres méthodes fonctionnent mieux. Cependant, ces résultats ont été obtenus de façon empirique, et l'analyse n'est pas exhaustive ; une étude théorique et une analyse réalisée sur plus de simulations peuvent servir à mieux caractériser les propriétés de convergence de cet estimateur combiné. Etant donné que l'algorithme est itératif, l'utilisation des techniques d'optimisation pourrait être utile pour améliorer la convergence ; néanmoins, ceci ne semble pas facile en raison de la non-linéarité de la technique. D'autre part, l'adéquation de la technique *Decompshrink* au traitement de la TODIT est souhaitable et pourrait améliorer la robustesse de l'algorithme.

4.5.2 *Elimination des artefacts d'origine cardiaque*

Par rapport à l'estimation de la composante cardiaque, nous avons montré que le problème reste difficile à résoudre avec des techniques linéaires simples, étant donné que la variabilité de l'artefact est du même ordre de magnitude que l'amplitude du signal d'activité électrique corticale. D'autre part, le signal de fluorescence est de nature positive (puisque'il mesure une intensité), et des méthodes d'estimation linéaires simples, qui minimisent la somme de carrés de l'erreur d'estimation, seront toujours biaisées. En outre, le contenu spectral de l'activité cardiaque du cobaye est très similaire à celui des activités spontanées du cortex pendant le sommeil (ondes δ , θ et spindles), ce qui rend difficile, voire impossible, sa séparation avec les techniques de traitement du signal.

Nous avons montré que les erreurs d'estimation de cet artefact peuvent produire, et ont déjà, produit des erreurs dans l'interprétation des résultats dans la littérature sur le sujet (ceci est expliqué dans l'article de l'Annexe 1).

D'autre part, nous pensons que le développement des techniques basées sur la théorie de courbes déformables (voir section 4.3.5.6), peut servir à estimer l'artefact de manière plus précise, étant donné que la forme de l'artefact est très similaire d'un enregistrement à l'autre. Cependant, les techniques actuelles d'estimation de courbes déformables sont coûteuses en temps de calcul.

La solution définitive à ce problème ne semble pas se trouver du côté des techniques avancées de traitement du signal, mais plutôt dans le développement de nouvelles techniques de mesure de l'activité neuronale qui soient moins sensibles à l'activité cardiaque, telles que celle proposée par Shoham et al. (1999) qui agit directement sur la source du signal optique en utilisant un nouveau colorant. Une autre solution peut se trouver dans l'utilisation des techniques d'instrumentation qui permettent une estimation simultanée de cette activité (e.g., mesure de fluorescence à deux ou plusieurs longueurs d'onde).

4.5.3 *Détection et caractérisation des UE*

Nous avons développé un algorithme de détection et caractérisation des fluctuations faibles et rapides (UE), qui seraient corrélées aux événements de synchronie locale de l'activité des populations de neurones. La solution proposée permet d'estimer les paramètres des UE sur des signaux simulés. Par contre, il reste à résoudre plusieurs problèmes pratiques et théoriques de cette technique. D'une part, nous n'avons pas réalisé assez de simulations pour mesurer la qualité de l'estimation ; d'autre part, nous n'avons pas étudié de cas spéciaux, tels que le chevauchement de deux UE ou la présence des fluctuations de formes trop différentes de celle des UE (cependant, ce dernier problème est facile à résoudre puisque nous pouvons facilement estimer la symétrie des fluctuations à partir des extrema locaux et de passages par zéro de la TO). De plus, nous n'avons pas une idée claire de la valeur espérée de l'intensité des UE.

4.5.4 Autres considérations sur le traitement du signal optique

Dans ce travail le problème d'estimation du signal et le problème de détection des événements intéressants d'origine neuronale ont été réalisés séparément. Il est souhaitable de résoudre les deux problèmes de manière simultanée. Actuellement, il est nécessaire de décomposer le signal dans une base orthogonale (TOO), puis de réaliser le rétrécissement des coefficients de la TOO, avant de reconstruire le signal (TOOI), et enfin de décomposer à nouveau le signal avec une TODIT afin de détecter des événements unitaires. Si l'algorithme de débruitage était réalisé directement sur la TODIT, suivi de l'algorithme de détection et caractérisation des UE, le temps de calcul serait réduit, et la qualité des estimations serait probablement améliorée.

Il est à noter que, cette étude s'est concentrée sur le traitement de chaque signal $L_{\Delta F/F}$ de manière individuelle, sans prendre en compte de manière explicite l'information spatiale ou l'historique des signaux observés. Bien que non développée dans ce manuscrit, la possibilité d'utiliser l'information spatiale et l'historique des réponses observées a été aussi abordée, mais cette recherche est en cours et nous n'avons pas encore de résultats.

CHAPITRE 5

Analyse Descriptive et Interprétation des Données

Nous avons réalisé des analyses descriptives afin de mieux connaître les signaux recueillis. Ces analyses ont été réalisées parallèlement à l'analyse théorique développée dans le chapitre 3, c'est pourquoi ces chapitres seront souvent mis en correspondance. Les outils étudiés dans le chapitre 4 ont été utilisés dans ce chapitre de manière à améliorer les résultats de certaines estimations et pour caractériser les signaux dans chaque site de mesure.

Nous montrerons d'abord les résultats d'une étude sur la variabilité de l'activité du cortex d'un enregistrement à l'autre, laquelle sera développée en détail dans l'annexe 1. Nous décrirons ensuite les résultats des analyses des réponses corticales aux stimuli.

5.1 Variabilité du signal d'activité corticale entre enregistrements

Les signaux d'activité électrique du cortex, obtenus par la technique de fluorescence potentiel-dépendante présentent un aspect variable et apparemment aléatoire d'un enregistrement à l'autre. Par exemple, dans la Figure 5-1 on observe deux enregistrements optiques successifs en réponse aux stimuli après élimination de l'artefact hémodynamique (i.e. l'artefact a été estimé à partir d'un enregistrement précédent réalisé en absence de stimulation, puis soustrait du signal obtenu en présence d'un stimulus, voir section 4.3.5).

Dans cet exemple, la variabilité est aperçue principalement dans des détails relativement rapides (< 20 msec) ; et une partie significative de cette variabilité est due au bruit des instruments ($\sigma_{\text{bruit}} \approx 0.1 \times 1.8315 \times 10^{-3}$, voir Figure 2-9). La variabilité des composantes lentes, difficile à discerner dans cet exemple, est cependant très significative d'une manière générale (voir Figure 5-2). Le pattern spatio-temporel observé sur l'ensemble de sites de mesure varie aussi d'un enregistrement à l'autre, mais la structure tonotopique et les intervalles de réponse maximale se maintiennent plus ou moins constants d'un enregistrement à l'autre (voir Figure 5-1). Cette variabilité est observée tant dans des signaux obtenus en présence d'un stimulus que dans des signaux ne contenant pas de réponse aux stimuli ; de plus, elle semble être plus importante au fur et à mesure que l'intervalle entre les enregistrements comparés augmente (voir Figure 5-2).

L'amplitude et la forme des variations entre enregistrements dépendent beaucoup de la technique de mesure utilisée. Dans le cas des enregistrements électrophysiologiques obtenus avec des électrodes posées sur le cortex, cette activité est dominante étant donné que cette technique n'a pas une bonne localisation spatiale puisqu'elle est sensible aux courants dans l'espace extracellulaire qui peuvent avoir une origine distante du site de mesure. Par contre, dans le cas d'enregistrements obtenus par la technique optique par fluorescence, la source du signal reste localisée à une région proche du site de mesure. Ceci limite en principe l'amplitude

de la variabilité. Cependant, les variations observées entre enregistrements peuvent atteindre une amplitude du même ordre que celle de la réponse évoquée moyenne (voir Figure 5-2).

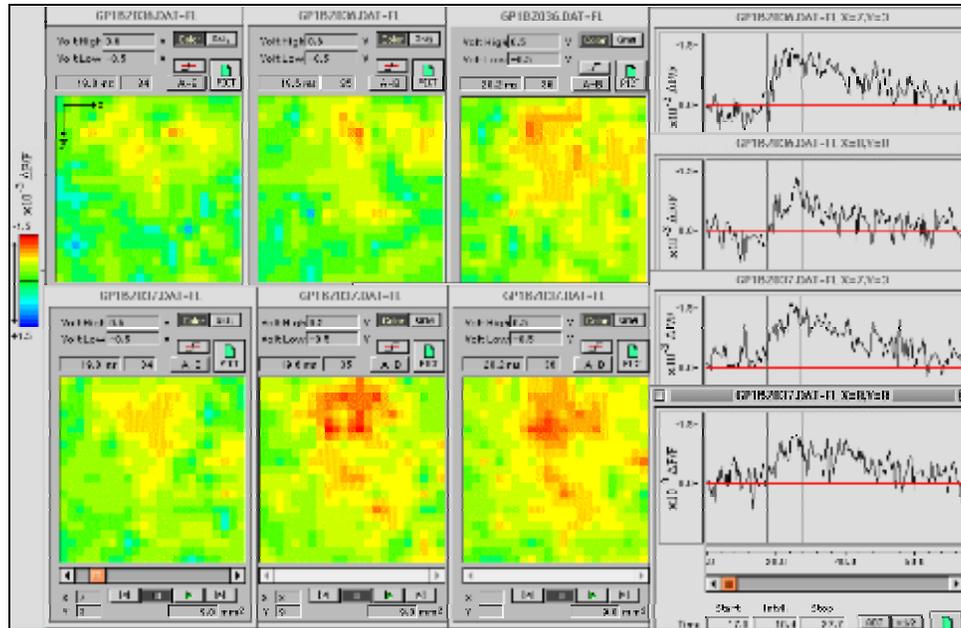


Figure 5-1. Variabilité des signaux d’activité corticale en réponse aux stimuli d’un enregistrement à l’autre. Les enregistrements ont été obtenus sur le même animal, dans la même zone du cortex, avec les mêmes paramètres de stimulation (12 kHz, 75 dB SPL, 50 msec), avec 3 minutes d’intervalle entre les deux enregistrements. L’artefact hémodynamique a été estimé et soustrait. Les images à gauche montrent le pattern spatial à 3 instants entre le moment où la réponse aux stimuli commence à monter et le moment où elle commence à descendre (approximativement). La résolution spatiale des images a été augmentée à 24 x 24, le double de l’original, et les valeurs interpolées. Les courbes à droite montrent l’évolution temporelle de l’activité dans deux sites de mesure, les mêmes pour chaque enregistrement, où on peut voir la variabilité ainsi que les similarités de l’évolution temporelle dans un même site d’un enregistrement à l’autre. Les lignes verticales sur ces signaux délimitent un intervalle d’intérêt. Les images à gauche montrent l’activité au début de cet intervalle.

Mis à part la contribution du bruit de photodétection, les sources de cette variabilité ne sont pas évidentes à première vue. Il est difficile de savoir si la variabilité observée correspond aux variations de l’activité neuronale ou si elle est due à des sources de nature extrinsèque telles que les fluctuations de la lumière d’excitation. Nous avons supposé que les variations du signal optique d’un enregistrement à l’autre sont en partie dues aux erreurs dans la mesure de l’activité électrique corticale qui ont été décrites dans le chapitre 2; plus précisément, qu’elles sont dues aux erreurs résiduelles des algorithmes d’estimation de l’activité corticale. Nous avons désigné ces fluctuations indépendantes de l’activité du tissu neuronal par le terme « variabilité extrinsèque ».

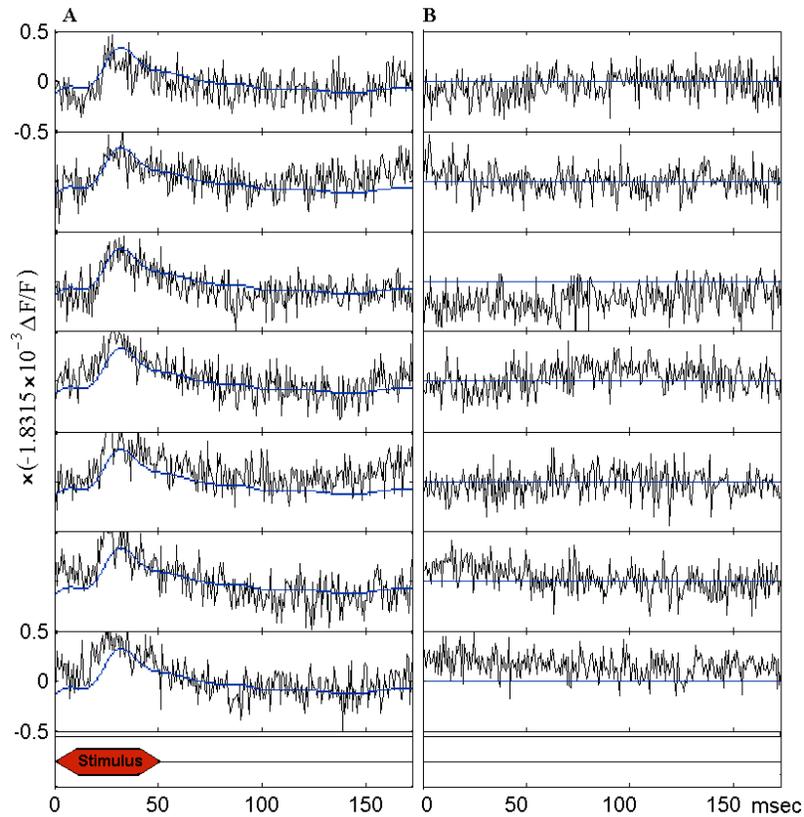


Figure 5-2. Deux groupes d'enregistrements obtenus avec et sans stimulation, après suppression de l'artefact cardiaque. **A** : Séquence des signaux obtenus lors d'enregistrements successifs contenant l'activité du cortex en réponse à un stimulus (chaque signal est obtenu pendant un seul enregistrement). La réponse évoquée moyenne (moyenne d'ensemble débruitée), calculée à partir de l'ensemble d'enregistrements d'une expérience (Nombre d'enregistrements = 50), est superposée à chaque signal. L'échelle verticale est la même pour toutes les figures. **B** : Séquence des signaux obtenus en absence de stimulation. **A et B** : La variabilité entre enregistrements est perceptible dans les deux types d'enregistrements, tant dans des variations temporelles lentes de chaque signal que dans des fluctuations relativement rapides (lire le texte pour les détails).

Une hypothèse courante dans les analyses de l'activité corticale est que, si les paramètres de stimulation et les conditions expérimentales sont toujours les mêmes à travers plusieurs enregistrements, l'activité du tissu neuronal en réponse aux stimuli se réplique de la même façon à chaque enregistrement. La variabilité observée d'un enregistrement à l'autre est supposée être non-corrélée aux stimuli et indépendante de la fonction de la zone observée du cortex, et sans intérêt pour l'analyse. Ceci signifie que toute variabilité d'un enregistrement à l'autre est présumée de nature extrinsèque.

Pourtant, il existe aussi une « variabilité intrinsèque », i.e. due aux variations naturelles de l'activité neuronale d'un enregistrement à l'autre (à noter que les variations « intrinsèques »

n'ont pas de relation avec le terme « signaux intrinsèques » mentionnés dans le chapitre 2). Cette variabilité a été traditionnellement traitée comme un bruit de fond qu'il faut éliminer. Cependant, la possibilité que cette variabilité ait un rôle plus important dans la détermination de la réponse évoquée et dans la fonction du site du cortex observé est actuellement un sujet de discussion (e.g., Amit & Brunel (1997), Arieli et al. (1996)).

La variabilité intrinsèque est très difficile à étudier et à caractériser avec ce type de données. Sous les conditions expérimentales utilisées habituellement (sous anesthésie), des oscillations lentes d'origine neuronale (rythme δ) peuvent contribuer aux fluctuations du signal d'un enregistrement à l'autre. Cependant, nous avons pu montrer (annexe 1) que sous ces conditions les variations intrinsèques lentes sont pratiquement imperceptibles, ainsi que les variations de caractère oscillatoire à de plus hautes fréquences. La variabilité observée d'un enregistrement à l'autre peut être expliquée en grande partie par les variations dues aux erreurs résiduelles des algorithmes d'estimation communément utilisés. Ceci ne veut pas dire que la variabilité intrinsèque soit inexistante, mais plutôt qu'elle est difficile à distinguer de la variabilité extrinsèque. D'autre part, des variations relativement rapides de caractère non oscillatoire existent, mais elles sont difficiles à caractériser et à étudier étant donné le mauvais RSB.

La difficulté et l'importance d'une estimation précise de l'activité corticale sont donc soulignées. Une suppression imprécise des artefacts peut conduire (et a déjà conduit dans la littérature sur le sujet) à des conclusions erronées sur la variabilité intrinsèque. Par exemple, Arieli et al. (1996) ont proposé que, sous les conditions expérimentales utilisées habituellement, la variabilité entre enregistrements s'explique par l'activité spontanée des neurones corticaux et qu'elle aurait une relation avec la fonction du cortex (Arieli et al., 1996). Selon eux, la valeur maximale de la réponse évoquée dans chaque enregistrement dépend linéairement de la valeur du signal à un temps précédant l'instant correspondant au début de la réponse évoquée moyenne. Néanmoins, si l'on regarde ces résultats en détail, on peut douter de la validité de cette affirmation puisque cette relation linéaire peut être expliquée par les erreurs résiduelles d'élimination de l'artefact hémodynamique. Ceci est expliqué dans un article qui sera prochainement soumis à publication et qui est reproduit partiellement dans l'annexe 1.

5.2 Analyse des signaux d'activité neuronale

Par la suite, nous allons décrire les signaux obtenus en réponse aux stimuli. Deux types de stimulations ont été utilisés : stimulation mono-tonale et stimulation FM. L'artefact hémodynamique a été éliminé par soustraction d'une estimation de cet artefact. L'artefact a été estimé selon la méthode décrite dans la section 4.3.5.1 (i.e. en calculant la moyenne d'ensemble d'un groupe de signaux enregistrés en l'absence de stimulation, suivi d'un filtrage linéaire passe-bas à 40 Hz).

D'autre part, l'utilisation des techniques de débruitage présentées dans la section 4.3.2.3.2 nous a permis d'étudier les réponses évoquées obtenues lors des enregistrements individuels, au contraire de la plupart des études qui ont été réalisées sur des réponses évoquées moyennes obtenues à partir de plusieurs enregistrements et par le calcul de la moyenne d'ensemble. De

plus, l'utilisation de ces techniques de débruitage en combinaison avec le calcul de la moyenne d'ensemble, nous a permis d'obtenir des images d'une bonne qualité sans utiliser des filtres spatio-temporels additionnels comme il a été fait dans d'autres études.

5.2.1 *Pattern spatio-temporel d'activité corticale en réponse aux stimuli mono-tonaux*

Les signaux de fluorescence enregistrés dans les 144 sites de mesure peuvent être représentés comme une suite d'images (300) ; chaque pixel (parmi les 144) d'une image donnée représente le changement instantané de la fluorescence émise dans le site correspondant sur le cortex auditif, par rapport au niveau de fluorescence de base. Le changement de la fluorescence émise est proportionnel au changement de potentiel de membrane par rapport au potentiel de repos (voir section 2.1.1). Ainsi, il est possible d'étudier l'activité électrique spatio-temporelle du cortex sur cette suite d'images.

Les séquences d'images (Figure 5-3 et Figure 5-4) représentent l'activité électrique spatio-temporelle du cortex auditif en réponse aux stimuli simples mono-tonaux (12 kHz, 50 msec), après traitement de l'artefact hémodynamique et avant débruitage. On peut voir un pattern spatio-temporel. Ce pattern d'activité est plus ou moins localisé dans une région de la zone observée. Cependant, la perception de cette organisation spatio-temporelle est difficile dans ces images puisque les données sont très bruitées et présentent des variations importantes d'un enregistrement à l'autre (qui résultent en grande partie des résidus de l'artefact hémodynamique ; voir sections 5.1 et 4.3.5).

La forme et la localisation de ce pattern dépendent de la fréquence et de l'intensité des stimuli (voir aussi Figure 5-5 à Figure 5-8), ce qui correspond à la tonotopie mise en évidence avec d'autres techniques électrophysiologiques (Taniguchi et al., 1992) (organisation spatiale qui dépend de la fréquence de stimulation, voir aussi les sections 2.2.3 et 3.1.1). On trouve au moins trois régions tonotopiques dans le cortex auditif du cobaye : Antérieure (A), Dorso-Caudale (DC) et Petite (Horikawa et al., 1996; Taniguchi et al., 1992) ; et une étude très récente montre que la région A est en réalité divisée en 2 aires tonotopiques différentes, dont la plus grande est le cortex auditif primaire (A1) (voir section 2.2.3). La zone imagée contient les aires A et DC qui se trouvent l'une à côté de l'autre. Les gradients de fréquence dans ces deux aires présentent une relation symétrique par rapport à un axe dorso-ventral (presque vertical dans les figures, voir aussi la Figure 2-3). Ces deux aires corticales sont plus faciles à distinguer dans des données débruitées (e.g., voir Figure 5-5).

Selon Horikawa et al. (1996) l'activité en réponse au stimulus commence d'abord dans un foyer localisé dans la zone A (à 20 msec environ) et se propage principalement dans la direction dorso-ventrale, sur une zone adjacente correspondant à peu près à la bande iso-fréquence correspondante (zone du cortex dont les neurones répondent préférentiellement à la même fréquence, sa fréquence caractéristique. Ces bandes ont été mises en évidence avec des techniques électrophysiologiques (Schreiner et al., 2000)). Un deuxième foyer d'activité apparaît dans la zone DC avec un retard de quelques millisecondes par rapport à l'activité en A (à 2 msec environ).

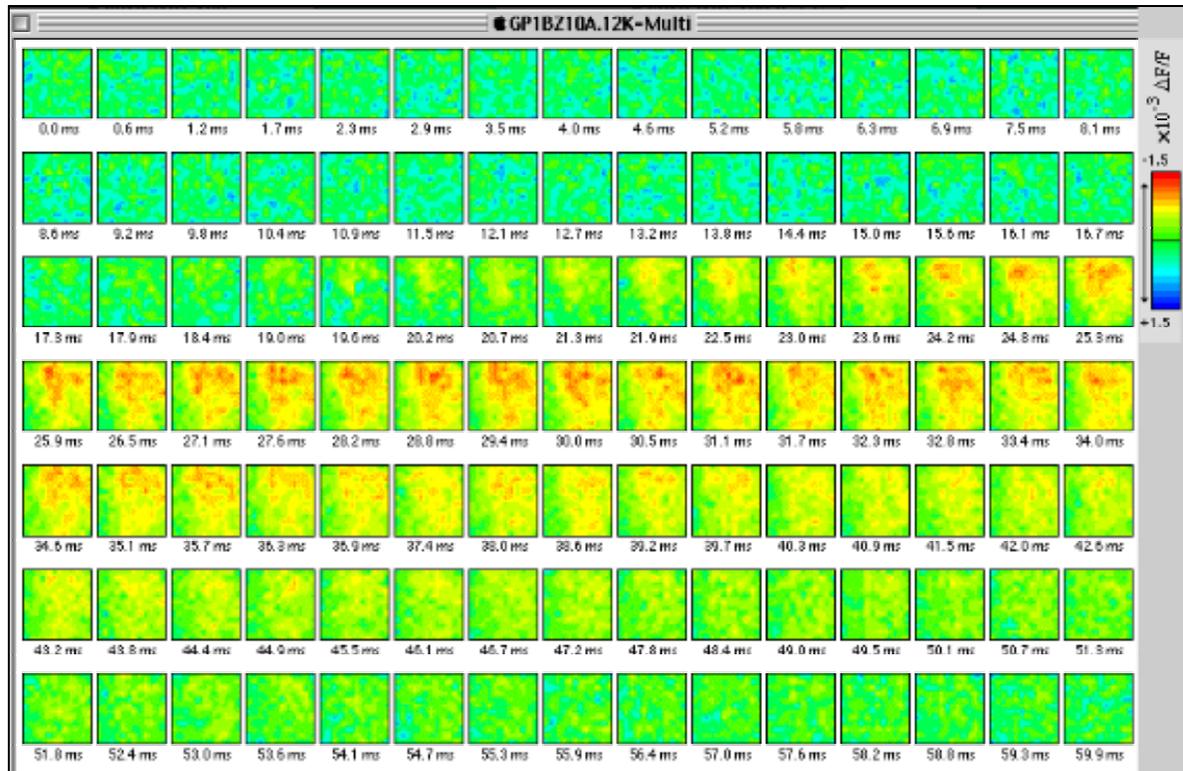


Figure 5-3. Réponse du cortex auditif à une stimulation de 12 kHz à 75 dB SPL avec une durée de 50 msec (amplitude modulée par une fenêtre trapézoïdale : 10 msec de montée, 30 msec de plateau et 10 msec de descente). La stimulation et l'enregistrement sont déclenchés simultanément et synchronisés avec le battement cardiaque (à partir de 0 msec dans la figure). Les images de cette figure et de la Figure 5-4 correspondent à deux enregistrements non moyennés, réalisés sur le même animal. L'artefact cardiaque a été éliminé par soustraction de l'enregistrement précédent obtenu sans stimulation (ce dernier est filtré à $f < 40$ Hz, par un filtre de butterworth non causal, pour éviter d'augmenter la variance du bruit). La couleur de chaque pixel représente le niveau d'activité dans chaque site de mesure : les couleurs rouge et jaune représentent la dépolarisation de la membrane (activité électrique plus importante, fluorescence plus faible que le niveau de base) ; le vert et le bleu représentent l'hyperpolarisation de la membrane (activité électrique plus faible, fluorescence plus intense que le niveau de base).

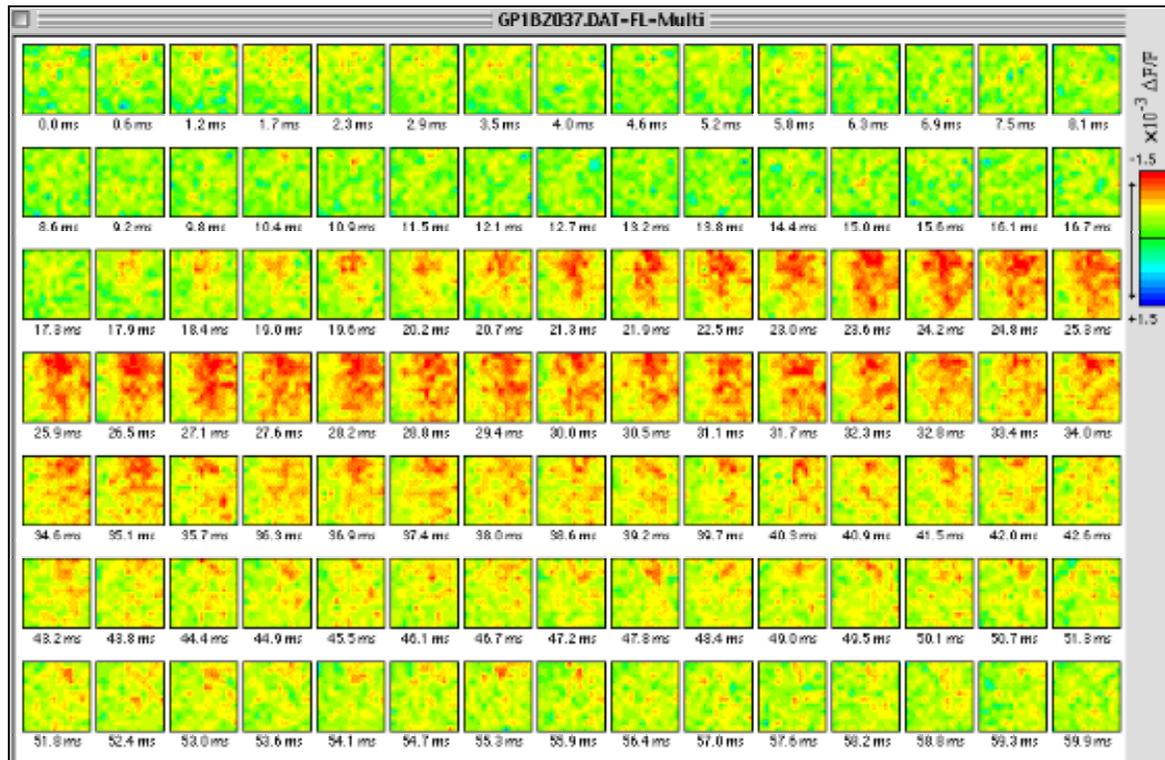


Figure 5-4 Réponse du cortex auditif à une stimulation de 12 kHz. Les images de cette figure et de la Figure 5-3 correspondent à deux enregistrements non moyennés, réalisés sur le même animal. Les paramètres de stimulation sont les mêmes que pour la Figure 5-3. Voir la légende de la Figure 5-3 pour l'explication.

Cette propagation de l'activité électrique mesurée sur le cortex *in vivo*, en réponse aux stimuli sonores, correspond bien avec la propagation de l'activité électrique observée dans des expériences réalisées sur des tranches de cortex de rat *in vitro* (section 3.1.3.1). Dans ce dernier cas, la stimulation électrique de la couche VI du cortex provoque une propagation verticale (radiale) de l'activité électrique vers les couches II et III, et puis dans ces dernières une propagation horizontale (tangentielle) est observée dans la direction dorso-ventrale (Kubota et al., 1997). Cette propagation horizontale dans les couches II et III est éliminée en présence d'un antagoniste des récepteurs non-NMDA, ce qui indique qu'elle est due principalement aux connexions intracorticales (intrinsèques). En outre, il existe des évidences dans le cas du chat et des primates d'une architecture modulaire dans le cortex auditif dont les connexions intrinsèques seraient dirigées principalement dans la direction dorso-ventrale suivant les bandes d'iso-fréquence (Read et al., 2001; Schreiner et al., 2000).

Une image plus claire de ces patterns spatio-temporaux est obtenue en éliminant le bruit introduit par les appareils de mesure. Pour ce faire, des algorithmes de débruitage non linéaire, par seuillage des coefficients de la Transformée en Ondelettes Orthogonale (TOO), ont été implémentés et utilisés sur nos données ; ces techniques ont été décrites dans la section 4.3.2. Néanmoins, la seule utilisation de ces techniques est insuffisante pour obtenir des images de

bonne qualité, à cause principalement des changements lents du signal qui varient d'un enregistrement à l'autre et de manière indépendante par rapport aux sites de mesure ; une moyenne d'ensemble est donc toujours nécessaire. A partir de la Figure 5-5 et jusqu'à la Figure 5-8, on montre des données qui ont été d'abord moyennées (moyenne d'ensemble) sur 10 enregistrements de manière à réduire la variance du bruit, puis débruitées par la méthode mentionnée auparavant. Ceci permet de mieux distinguer les réponses tonotopiques et l'évolution spatio-temporelle moyenne de l'activité.

Les deux premières figures (Figure 5-5 et Figure 5-6) illustrent trois instants de la réponse évoquée moyenne du cortex à un stimulus de 4k et son évolution temporelle dans quelques sites proches des foyers d'activité. D'abord **(a)**, une séquence d'images représentant l'évolution spatio-temporelle de l'activité électrique autour de chaque instant d'intérêt est illustrée, ainsi que le détail de l'activité dans l'ensemble des sites à l'instant d'intérêt **(b, c, d, e)**. Ensuite, on montre la manière dont a été estimée l'activité dans chaque site à partir de deux groupes d'enregistrements, obtenus l'un sans stimulation et l'autre avec stimulation **(f, g)**. On a tout d'abord calculé les moyennes d'ensemble de ces deux groupes d'enregistrements afin de réduire la variance du bruit (courbes bleu et rouge respectivement). La première courbe moyenne est débruitée en utilisant un filtre passe-bas ($f_c \sim 40$ Hz) et la deuxième est débruitée selon la méthode de rétrécissement des coefficients de la TOO décrite dans les sections 4.3.2.3.2 et 4.3.3. Finalement, on montre le détail de l'évolution de l'activité dans deux sites localisés chacun sur une zone de réponse maximale **(h, i)**.

Le premier instant d'intérêt (19,5 msec) correspond à un instant peu après le début de la réponse dans chaque aire corticale. On note que les activités commencent presque simultanément dans les deux aires corticales, vers 16 msec. Ceci contredit les observations de Horikawa et al. (1996) pour qui ces activités commencent plus tard et de manière non simultanée (d'abord dans l'aire A, puis dans l'aire DC). La différence dans les observations est probablement due à une meilleure élimination du bruit des instruments dans nos signaux. Le deuxième instant d'intérêt (21 msec) correspond plus ou moins à la moitié de l'augmentation de l'activité. On voit une différence d'amplitude entre les deux zones, ce qui pourrait aussi expliquer la différence des temps de début observés par Horikawa et al. (1996). Le troisième instant d'intérêt (25 msec) correspond au maximum de la réponse dans les deux aires corticales. Là aussi, l'événement d'intérêt (arrivé aux points maximaux) se produit simultanément dans les deux aires. La simultanéité de cet événement est vraie pour l'activité observée proche des foyers. Dès que l'on s'éloigne des foyers, un retard de l'ordre de la milliseconde est perceptible, sa magnitude dépend de la distance au foyer et de la direction par rapport à celui-ci.

A partir du retard du maximum de la réponse observée dans plusieurs sites par rapport au foyer, nous avons estimé des vitesses de propagation horizontale de l'activité de 0,2 m/s (dans la direction orthogonale aux bandes tonotopiques) à 0,6 m/s (dans la direction des bandes tonotopiques). L'ordre de grandeur de ces valeurs est en accord avec les valeurs de vitesse de propagation mentionnées dans la littérature (i.e. légèrement supérieures aux valeurs mentionnées dans (Kubota et al., 1997) et légèrement inférieures à celles mentionnées dans (Metherate & Cruikshank, 1999), pour le rat, in vitro).

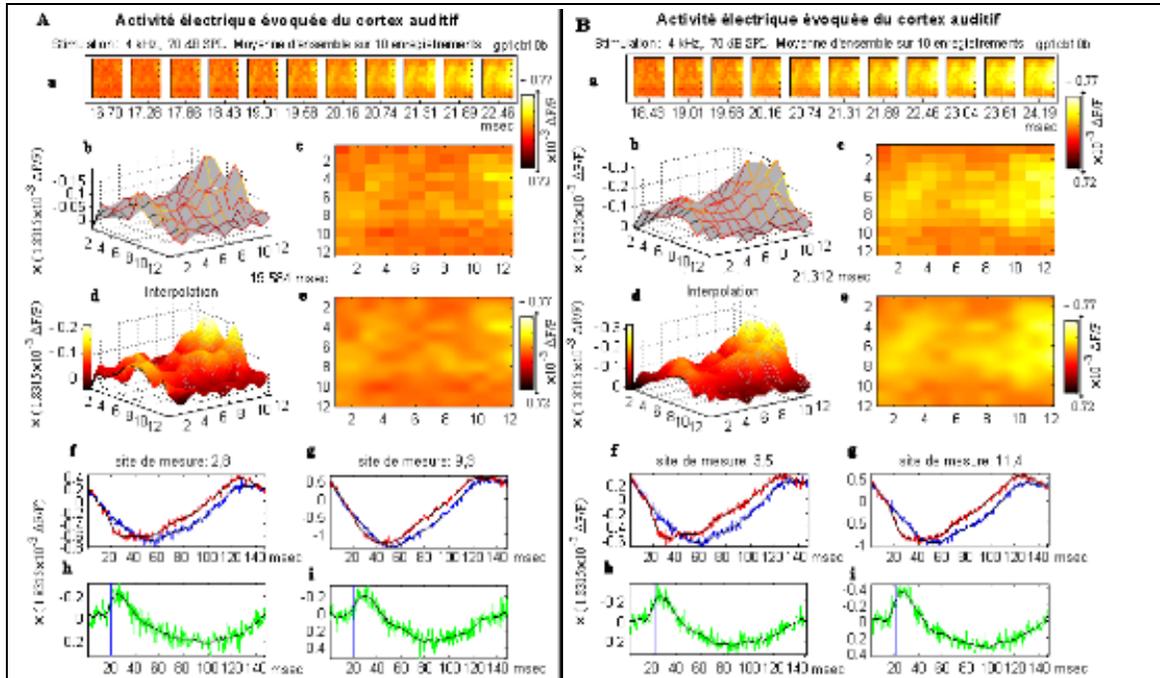


Figure 5-5. Activité électrique dans le cortex auditif en réponse à un stimulus de 4 kHz. **A et B :** En haut (**a**), évolution spatio-temporelle de l'activité électrique pendant deux intervalles de quelques millisecondes centrés autour de deux instants d'intérêt donnés (19.584 msec (**A**) et 21.312 msec (**B**)), les zones plus claires correspondent aux zones les plus dépolarisées. Le détail de la distribution spatiale du potentiel dans les instants d'intérêt (**b** et **c**) (**d** et **e** : interpolation de la distribution spatiale) montre que l'activation se localise principalement aux extrémités de la zone observée qui correspondent aux bandes tonotopiques de basse fréquence dans les aires A (partie gauche des images) et DC (partie droite des images) du cortex auditif. L'estimation de l'activité dans chaque site est réalisée de la manière suivante : la moyenne d'ensemble des signaux bruts, sur 10 enregistrements, est d'abord calculée afin de réduire la variance, les courbes moyennes sont illustrées dans **f** et **g**. Chaque courbe représente les mesures de $\Delta F/F$ obtenues sans (bleu) et avec (rouge) stimulation. Les courbes contenant la réponse au stimulus (rouge) sont ensuite débruitées par seuillage des coefficients de la TOO et celles obtenues en absence de stimulation (bleu) sont débruitées avec un filtre passe-bas ($f_c \sim 40$ Hz). L'activité électrique du cortex dans chaque site est estimée par soustraction de ces deux courbes. En bas (**h**, **i**), on observe l'évolution de l'activité estimée dans deux sites du cortex localisés sur les zones les plus actives à chaque instant d'intérêt. Les lignes verticales signalent les instants d'intérêt. Des signaux débruités (noir) sont superposés aux signaux non débruités (vert).

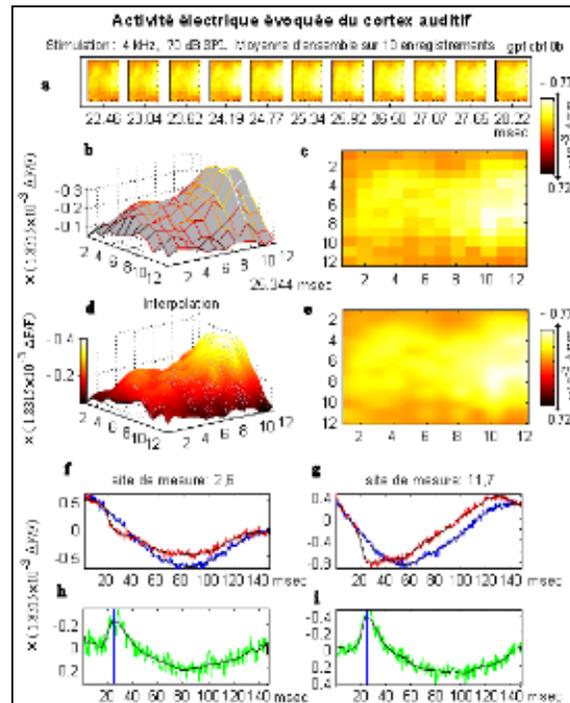


Figure 5-6. Activité électrique dans le cortex auditif en réponse à un stimulus de 4 kHz. En haut (a), évolution spatio-temporelle de l'activité électrique pendant un intervalle de quelques millisecondes centré autour d'un instant d'intérêt (25.344 msec), les zones plus claires correspondent aux zones les plus actives. Le détail de la distribution spatiale du potentiel dans les instants d'intérêt (b et c) (d et e : interpolation de la distribution spatiale) montre que l'activation se localise principalement aux extrémités de la zone observée qui correspondent aux bandes tonotopiques de basse fréquence dans les aires A (partie gauche des images) et DC (partie droite des images) du cortex auditif. L'estimation de l'activité dans chaque site est réalisée de la manière suivante : la moyenne d'ensemble des signaux bruts, sur 10 enregistrements, est d'abord calculée afin de réduire la variance, les courbes moyennes sont illustrées dans f et g. Chaque courbe représente les mesures de $\Delta F/F$ obtenues sans (bleu) et avec (rouge) stimulation. Les courbes contenant la réponse au stimulus (rouge) sont ensuite débruités par seuillage des coefficients de la TOO et celles obtenues en absence de stimulation (bleu) sont débruitées avec un filtre passe-bas ($f_c \sim 40$ Hz). L'activité électrique du cortex dans chaque site est estimée par soustraction de ces deux courbes. En bas (h, i), on observe l'évolution de l'activité estimée dans deux sites du cortex localisés sur les zones les plus actives à chaque instant d'intérêt. Les lignes verticales signalent les instants d'intérêt. Des signaux débruités (noir) sont superposés aux signaux non débruités (vert).

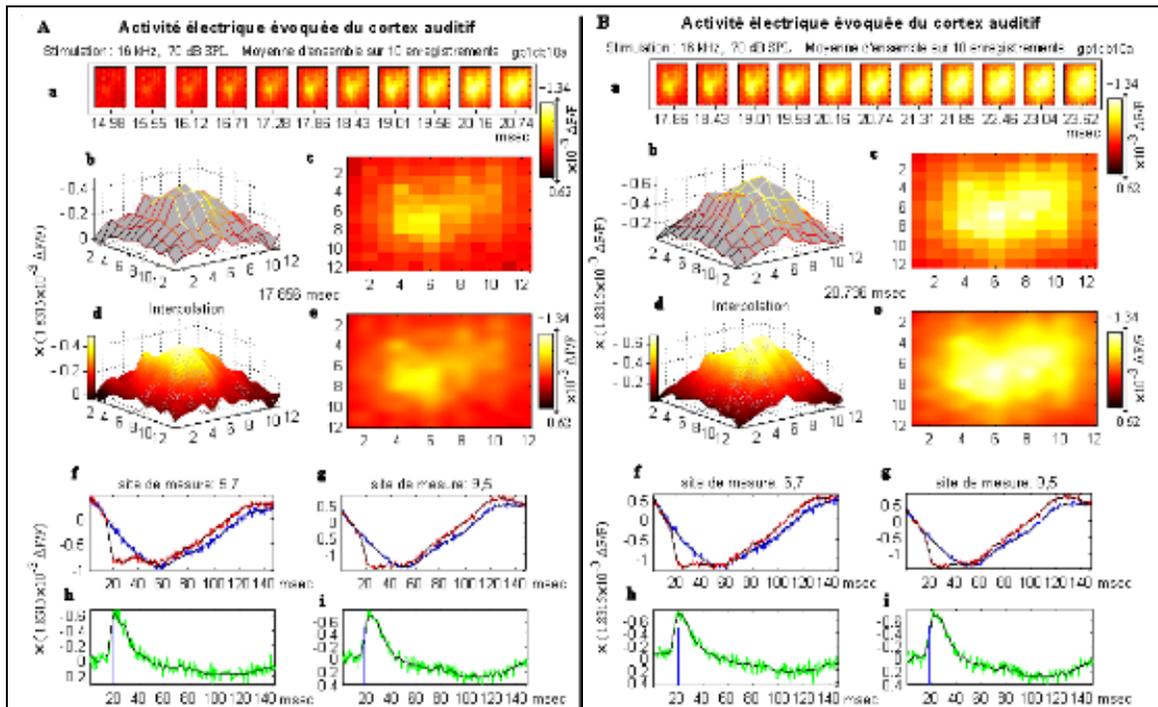


Figure 5-7. Activité électrique dans le cortex auditif en réponse à un stimulus de 16 kHz. **A et B :** En haut (**a**), évolution spatio-temporelle de l'activité électrique pendant deux intervalles de quelques millisecondes centrés autour de deux instants d'intérêt donnés (17.858 msec (**A**) et 20.736 msec (**B**)), les zones plus claires correspondent aux zones les plus dépolarisées. Le détail de la distribution spatiale du potentiel dans les instants d'intérêt (**b** et **c**) (**d** et **e** : interpolation de la distribution spatiale) montre que l'activation se localise principalement vers le centre de la zone observée. Les régions actives correspondent aux bandes tonotopiques de hautes fréquences, à la frontière entre les aires A (partie gauche des images) et DC (partie droite des images) du cortex auditif. L'estimation de l'activité dans chaque site est réalisée de la manière suivante : la moyenne d'ensemble des signaux bruts, sur 10 enregistrements, est d'abord calculée afin de réduire la variance, les courbes moyennes sont illustrées dans **f** et **g**. Chaque courbe représente les mesures de $\Delta F/F$ obtenues sans (bleu) et avec (rouge) stimulation. Les courbes contenant la réponse au stimulus (rouge) sont ensuite débruitées par seuillage des coefficients de la TOO et celles obtenues en absence de stimulation (bleu) sont débruitées avec un filtre passe-bas ($f_c \sim 40$ Hz). L'activité électrique du cortex dans chaque site est estimée par soustraction de ces deux courbes. En bas (**h**, **i**), on observe l'évolution de l'activité estimée dans deux sites du cortex localisés sur les zones les plus actives à chaque instant d'intérêt. Les lignes verticales signalent les instants d'intérêt. Des signaux débruités (noir) sont superposés aux signaux non débruités (vert).

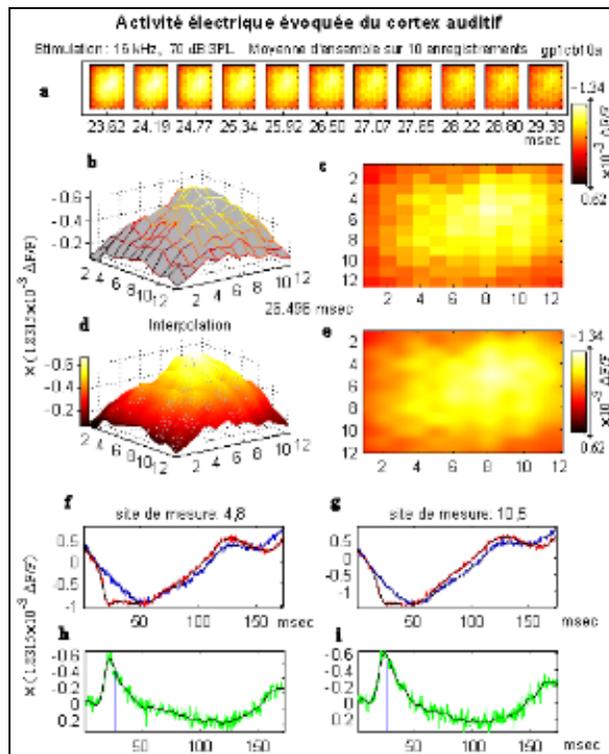


Figure 5-8. Activité électrique dans le cortex auditif en réponse à un stimulus de 16 kHz. En haut (a), évolution spatio-temporelle de l'activité électrique pendant un intervalle de quelques millisecondes centré autour d'un instant d'intérêt (26.496 msec), les zones plus claires correspondent aux zones les plus actives. Le détail de la distribution spatiale du potentiel dans les instants d'intérêt (b et c) (d et e : interpolation de la distribution spatiale) montre que l'activation se localise principalement vers le centre de la zone observée. Les régions actives correspondent aux bandes tonotopiques de hautes fréquences, à la frontière entre les aires A (partie gauche des images) et DC (partie droite des images) du cortex auditif. L'estimation de l'activité dans chaque site est réalisée de la manière suivante : la moyenne d'ensemble des signaux bruts, sur 10 enregistrements, est d'abord calculée afin de réduire la variance, les courbes moyennes sont illustrées dans f et g. Chaque courbe représente les mesures de $\Delta F/F$ obtenues sans (bleu) et avec (rouge) stimulation. Les courbes contenant la réponse au stimulus (rouge) sont ensuite débruitées par seuillage des coefficients de la TOO et celles obtenues en absence de stimulation (bleu) sont débruitées avec un filtre passe-bas ($f_c \sim 40$ Hz). L'activité électrique du cortex dans chaque site est estimée par soustraction de ces deux courbes. En bas (h, i), on observe l'évolution de l'activité estimée dans deux sites du cortex localisés sur les zones les plus actives à chaque instant d'intérêt. Les lignes verticales signalent les instants d'intérêt. Des signaux débruités (noir) sont superposés aux signaux non débruités (vert).

D'autre part, pour un stimulus de 16 kHz (Figure 5-7 et Figure 5-8), la réponse est plus intense, et se localise dans deux zones très proches qui se fondent pratiquement en une seule zone d'activité. Les trois instants d'intérêt, 17.8, 20.7 et 26.5 msec, correspondent respectivement à : un instant juste après le début des réponses, l'instant d'activité maximale, et un instant de déclin de l'activité. Comme dans le cas antérieur, les réponses semblent commencer et arriver à leur maximum simultanément dans les deux aires corticales. Cependant, il y a clairement une différence de vitesse dans le déclin de l'activité après le maximum, ce qui donne l'impression que l'activité se déplace d'une aire à l'autre. Après 40 msec, survient une forte hyperpolarisation qui dure au moins jusqu'à 100 msec.

5.2.1.1 Analyse spectrale de la réponse aux stimuli mono-tonaux

Etant donné que des activités oscillatoires d'origine neuronale et d'importance fonctionnelle ont été observées dans plusieurs études (voir 3.1.3.5, 3.1.6.4 et 3.3.5), nous avons recherché ce type de fluctuations dans nos données. Toutefois, la puissance du bruit ne permet pas d'étudier ce type d'information dans des enregistrements isolés, ni dans le domaine temporel ni dans le domaine fréquentiel. Le spectre de puissance moyen (Figure 5-9) a donc été estimé pour des ensembles de signaux obtenus sous les mêmes conditions expérimentales et pour lesquels l'artefact hémodynamique a été traité selon la méthode décrite dans la section 4.3.5.4. Nous avons calculé le spectre moyen de la manière suivante : tout d'abord, nous avons estimé pour chaque signal le spectre par la méthode de Welch (périodogramme modifié, fenêtre de Hamming de 256 points et chevauchement entre fenêtres de 50%, voir (Cohen, 1986) pour la description de cette méthode). Puis nous avons calculé la moyenne d'ensemble (à la fois spatiale et temporelle) de tous les spectres ainsi estimés de manière à pouvoir mettre en évidence les composantes oscillatoires communes à tous les sites pendant tous les enregistrements. Cette procédure nous a également permis de réduire la variance du spectre estimé. Cependant, le spectre estimé de cette manière ne nous permet pas d'étudier les variations spatiales de l'activité oscillatoire. Nous avons donc calculé la moyenne d'ensemble temporelle des spectres pour chaque site de mesure de manière isolée. Néanmoins, en ce cas les spectres estimés sont encore très bruités, ce qui nous a posé des difficultés dans leur analyse. Les calculs ont été réalisés pour des signaux contenant des réponses évoquées aux stimuli, mais aussi pour des signaux ne contenant pas de réponse, de manière à ce que l'on puisse comparer les résultats et mettre en évidence des oscillations dues à la présence de stimulations et non pas à la présence d'autres sources.

Les résultats montrent que le contenu spectral moyen des deux types de signaux est très similaire et se localise dans des basses fréquences ($f < 40$ Hz), avec un maximum vers 6 Hz, très proche de la fréquence la plus basse qui puisse être observée dans nos données (Figure 5-9-A). La différence de puissance du signal qui correspond aux signaux contenant des réponses aux stimuli se localise principalement dans la même bande de fréquences, de 6 à 40 Hz (voir aussi l'annexe 1).

Des oscillations à plus haute fréquence, mais d'une amplitude très faible, existent (Figure 5-9-B). La plupart de ces oscillations n'ont pas de relation avec le stimulus puisque leurs amplitudes et leurs localisations dans l'axe des fréquences sont très similaires pour les deux types de signaux (voir aussi l'annexe 1). Néanmoins, en plus de la différence des spectres dans les très basses fréquences, des différences significatives se localisent vers 35 Hz et jusqu'à 40 Hz, ce qui correspond à la bande gamma, et des oscillations dans cette bande ont un intérêt fonctionnel. Cependant, nous ne pouvons pas en conclure que la puissance dans cette bande soit en effet due à une activité oscillatoire, puisqu'elle peut être due à la dépolarisation rapide de la réponse évoquée moyenne initiale.

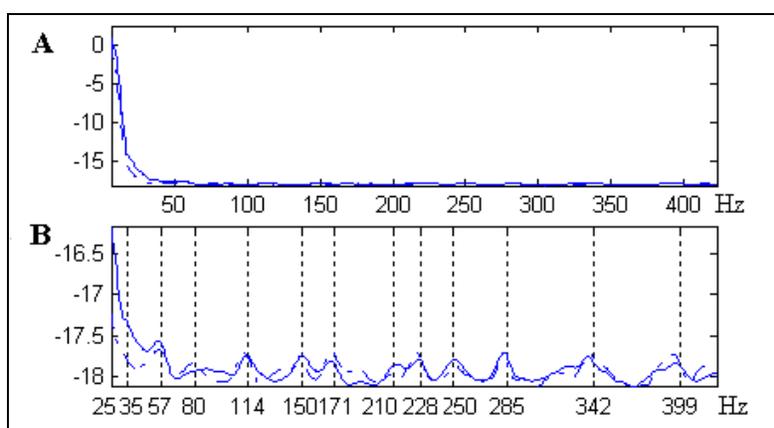


Figure 5-9. A : Analyse Spectrale comparative des signaux enregistrés en présence d'un stimulus (ligne continue) et sans stimulus (ligne discontinue), après atténuation de l'artefact cardiaque. Stimulus mono-tonal, 144 sites de mesure, 48 enregistrements. Puissance en échelle logarithmique. Le contenu spectral moyen est calculé par moyenne d'ensemble des spectres des signaux individuels, pour tous les sites et tous les enregistrements. **B :** Agrandissement.

5.2.2 Réponse du cortex aux stimuli FM

L'étude de l'activité électrique spatio-temporelle moyenne du cortex auditif en réponse aux stimuli FM a confirmé en partie les résultats obtenus précédemment par Horikawa et al. (Horikawa et al., 1998). Cependant, des différences importantes existent ; nous allons les aborder par la suite.

5.2.2.1 Stimuli FM, augmentation linéaire de la fréquence instantanée

Tout d'abord, nous allons présenter la réponse spatio-temporelle du cortex auditif à une augmentation linéaire de la fréquence de stimulation, de 4 kHz à 16 kHz en 100 msec. Dans la Figure 5-10, on montre un exemple d'un seul enregistrement après la suppression de l'artefact hémodynamique et du bruit par les méthodes décrites dans les sections 4.3.5, 4.3.2.3.2 et 4.3.3. Nous qualifierons ainsi la réponse obtenue de réponse évoquée « individuelle ». Dans la Figure 5-11 on montre la moyenne d'ensemble de 10 enregistrements, et cette réponse sera qualifiée de réponse évoquée « moyenne ».

Dans cette exemple de réponse évoquée individuelle (Figure 5-10) trois périodes d'activité (en rouge, dépolarisation) significatives sont observées. La première période d'activité commence vers 14~17 msec et se prolonge pendant environ 30 msec. Cette période d'activité correspond à la réponse évoquée initiale du cortex, au début de la stimulation. Elle se situe dans deux foyers aux extrémités de la région observée, qui correspondent aux zones tonotopiques de basse fréquence dans les aires A1 et DC (voir aussi la Figure 2-3).

Ces dépolarisations initiales atteignent leur maximum vers 20 msec dans les zones des foyers et se propagent dans la direction des bandes tonotopiques ((rostro-dorsale) \longleftrightarrow (ventro-caudale)) et à travers les bandes tonotopiques vers le centre de la zone observée (direction (rostro-ventrale) \longleftrightarrow (dorso-caudale)) où elles atteignent leur maximum vers 25 msec. Cette propagation se réalise de manière anisotrope, plus intense dans la direction des bandes tonotopiques (proche de la verticale dans la Figure 2-3), que dans la direction orthogonale à celles-ci. Ces dernières dépolarisations se propagent à partir des deux foyers situés dans les extrémités, qui correspondent aux zones tonotopiques de basses fréquences, vers le centre de l'image, qui correspond aux zones tonotopiques de hautes fréquences. Néanmoins, leurs amplitudes sont rapidement affaiblies par rapport aux activités dans les foyers, ce qui est expliqué par une inhibition latérale en réponse aux activités dans les foyers (Horikawa et al., 1998). L'activité dans les foyers continue simultanément à la propagation de l'activité vers le centre, de façon telle que vers 36 msec il est possible de distinguer au moins trois zones d'activité (très atténuées par rapport à la dépolarisation initiale) : deux zones proches des deux foyers et une autre vers le centre. Cette réponse initiale est suivie d'une période d'inactivité due à une forte inhibition (Horikawa et al., 1998) qui commence vers 45 msec et qui se termine vers 75 msec.

Une deuxième période d'activité commence vers 75 msec et se termine vers 120 msec. Elle commence avec deux petites tâches d'activité proches de la zone centrale qui se propagent pour se rencontrer et se fondre, vers 95 msec, en une seule zone d'activité dans le centre de la région corticale observée qui correspond aux bandes tonotopiques de haute fréquence et à la frontière entre les zones A1 et DC. Ensuite elle se sépare à nouveau en deux tâches qui se propagent vers les bandes tonotopiques de basse fréquence, pour disparaître rapidement vers 120 msec.

Ces deux activités initiales, dans cet exemple de réponse évoquée individuelle, correspondent plus ou moins à celles que l'on observe dans la réponse évoquée moyenne de la Figure 5-11, et à celle décrite par Horikawa et al. (1998). Néanmoins, dans la réponse évoquée moyenne

illustrée dans (Horikawa et al., 1998), ces deux activités n'apparaissent pas séparées par une période d'inhibition. D'autre part, dans la réponse évoquée moyenne illustrée dans la Figure 5-11 seulement la première période d'activité est observée, à partir d'environ 45 msec et jusqu'à 120 msec le cortex est hyperpolarisé ; aucune activité dans la zone centrale n'est observée après 45 msec. On note que, même si les dépolarisations dans les zones actives de la réponse évoquée individuelle sont moins intenses que dans la réponse évoquée moyenne, la réponse individuelle apparaît plus focalisée que la moyenne.

Les différences existantes entre les trois réponses évoquées mentionnées sont dues en partie à la représentation utilisée (séquence d'images). Une analyse de l'évolution temporelle de l'activité dans chaque site de mesure montre que le déplacement des zones d'activité à travers les bandes tonotopiques est continue, comme dans le cas observé dans (Horikawa et al., 1998), même si dans notre cas leur amplitude est très atténuée. Ceci est vrai aussi pour les sons de fréquence modulée décroissante, et sera illustré dans la section suivante (5.2.2.2, Figure 5-13).

- Néanmoins, la différence plus importante que l'on note entre les réponses évoquées moyenne et individuelle décrites ici, et les réponses évoquées moyennes décrites (Horikawa et al., 1998), est l'existence d'une dernière période d'activité qui apparaît vers 130 msec et qui se prolonge jusqu'à la fin de l'enregistrement.

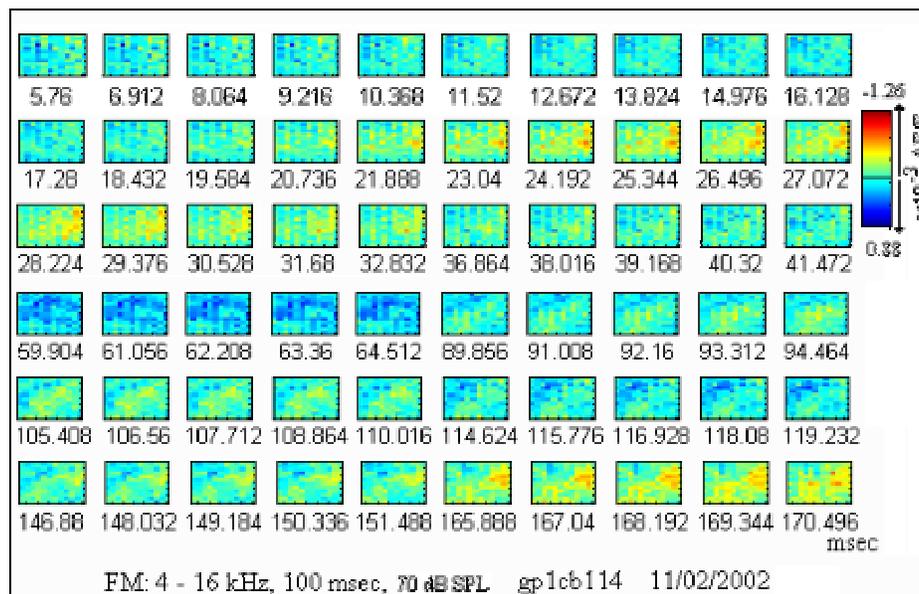


Figure 5-10. Réponse évoquée individuelle (i.e. un seul enregistrement) du cortex auditif à une augmentation linéaire de la fréquence instantanée d'un stimulus sonore, de 4 à 16 kHz, de 100 msec de durée (temps de montée et de descente de 10 msec). Les signaux sont échantillonnés à 0.576 msec, pour un total de 300 échantillons (images) ; un nombre limité d'images aux instants d'intérêt sont illustrés. Le bruit des instruments a été supprimé en utilisant la méthode par rétrécissement des coefficients de la transformée en ondelettes, décrite dans les sections 4.3.2.3.2 et 4.3.3. Les couleurs rouges et jaunes indiquent des dépolarisations, et les couleurs bleues indiquent des hyperpolarisations.

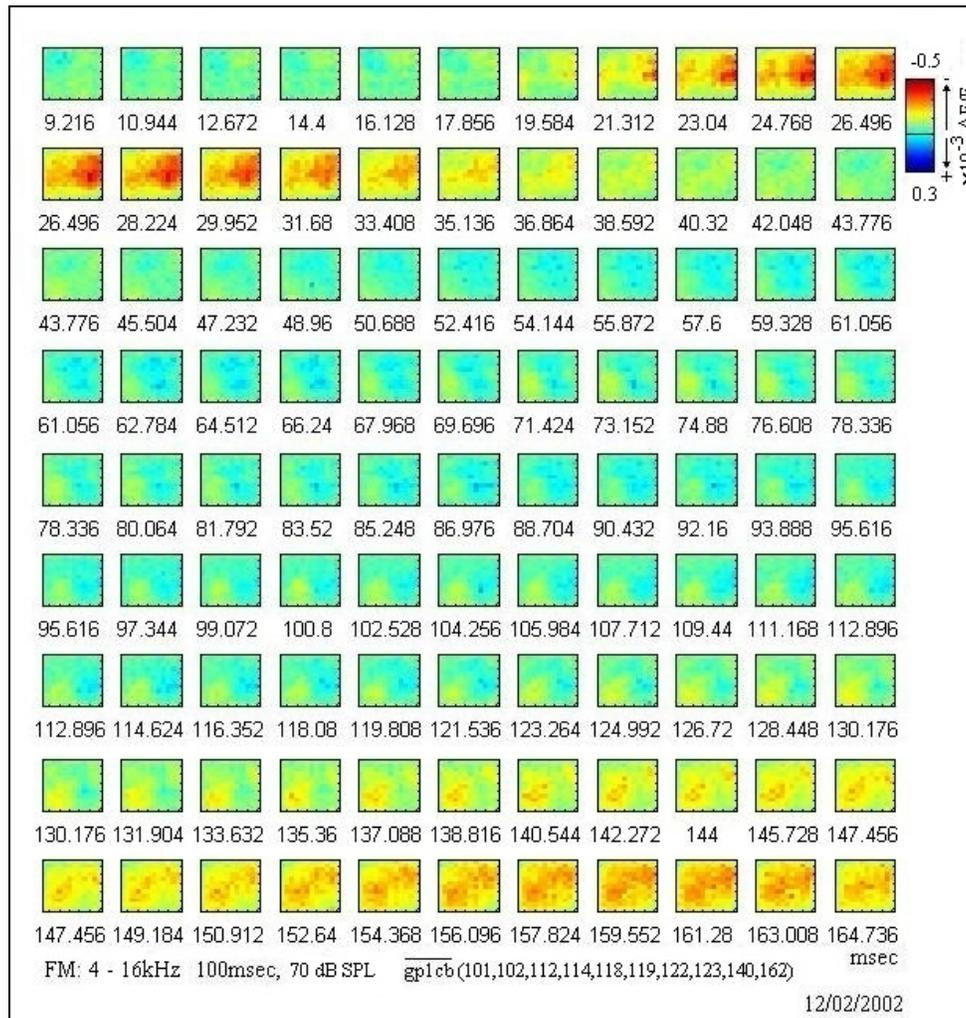


Figure 5-11. Réponse du cortex auditif à une augmentation linéaire de la fréquence instantanée du stimulus sonore, de 4 à 16 kHz. La figure montre la moyenne d'ensemble de 10 réponses individuelles (i.e. 10 enregistrements). Le bruit résiduel a été supprimé en utilisant la méthode par rétrécissement des coefficients de la transformée en ondelettes, décrite dans les sections 4.3.2.3.2 et 4.3.3.

Cette activité n'a pas été décrite dans (Horikawa et al., 1998) ni, à notre connaissance, dans la littérature sur les réponses évoquées aux stimuli sonores, obtenues avec la technique de fluorescence potentiel-dépendante. L'importance de cette période tardive de dépolarisation est manifeste quand on la compare à la réponse des tranches du cortex auditif aux stimuli électriques subcorticaux et thalamo-corticaux, observée par (Metherate & Cruikshank, 1999) grâce à des mesures intracorticales extra et intracellulaires de l'activité des neurones pyramidaux. Ces auteurs ont mis en évidence l'existence d'une dépolarisation tardive et prolongée, qui s'accompagne des oscillations dans la bande gamma. Les latences et temps de

cette activité tardive sont similaires à ceux observés dans nos données (voir section 3.1.3.5, Figure 3-2).

Cette dépolarisation commence dans les régions qui correspondent aux bandes tonotopiques de basse et moyenne fréquences, mais elle est plus diffuse que dans les cas décrits précédemment. De plus, dans la réponse évoquée moyenne (Figure 5-11), elle se distribue dans toute la région du cortex observé.

5.2.2.2 Stimuli FM, décroissance linéaire de la fréquence instantanée

La distribution spatio-temporelle moyenne de l'activité électrique dans le cortex auditif en réponse à un stimulus FM, à fréquence instantanée décroissante, est illustrée dans les figures Figure 5-12 et Figure 5-13. La fréquence instantanée du stimulus descend linéairement par rapport au temps de 16 kHz vers 4 kHz, à raison de 12 kHz/100 msec. Les résultats sont similaires à ceux de la section 5.2.2.1, mais les zones d'activation initiales et les directions de propagation sont inversées. Une forte dépolarisation localisée dans la région centrale du cortex auditif (zone correspondant aux hautes fréquences et frontière entre les aires AI et DC) commence vers 14 msec, et augmente très rapidement pour arriver à sa valeur maximale vers 20 msec (voir Figure 5-13-A). Cette dépolarisation initiale correspond à la réponse du cortex à la fréquence instantanée initiale du stimulus (16 kHz). Elle se propage rapidement vers les zones plus éloignées du centre (correspondant aux bandes tonotopiques de basse fréquence) où elle arrive à son maximum vers 25 msec. Ensuite elle s'atténue lentement pour retourner au potentiel de repos vers 40 msec (voir Figure 5-13-A, B). Elle est suivie d'une longue et forte hyperpolarisation qui se prolonge jusqu'à 120 msec environ, quand la réponse commence à revenir au potentiel de repos.

Même si dans les deux cas ici étudiés les réponses moyennes présentent une hyperpolarisation très prononcée à partir de 45 msec, il faut noter que dans certaines réponses individuelles, l'hyperpolarisation est moins prononcée et des zones actives sont perceptibles jusqu'environ 90 msec, même si ces dépolarisations sont très atténuées. Ceci est confirmé par l'observation de l'évolution temporelle de la réponse évoquée moyenne dans chaque site de mesure (Figure 5-13), où l'on peut voir des fluctuations du signal de faible amplitude après 45 msec. Dans quelques sites, principalement dans les sites plus éloignés du centre de la zone observée, une légère bosse dans la réponse peut être observée vers 70 msec (voir Figure 5-13-C) avant d'arriver vers 100 msec au niveau maximal d'hyperpolarisation. Puis, une deuxième bosse est parfois observée dans la même zone vers 110 msec. Finalement, la réponse commence à revenir vers le potentiel de repos vers 120 msec. Ceci indique qu'au fur et à mesure que la fréquence du stimulus varie, le cortex répond à la fréquence instantanée du stimulus dans les bandes tonotopiques correspondantes, et que ces réponses instantanées se propagent rapidement à travers le cortex de sorte que dans certains sites de mesure, des dépolarisations dues aux différentes fréquences instantanées se succèdent l'une après l'autre. Néanmoins, la réponse initiale est beaucoup plus intense que les fluctuations qui la succèdent.

- *Le phénomène le plus intéressant survient vers 130 msec : une deuxième dépolarisation, moins forte que la dépolarisation initiale, mais plus longue, commence vers 140 msec et se prolonge vers la fin de l'enregistrement à 173 msec (voir Figure 5-13-D). Il faut noter que ce phénomène a été observé pour les deux types de stimulation FM, comme il a été montré dans la section précédente (5.2.2.1).*

Cette deuxième dépolarisation semble être localisée initialement dans les bandes tonotopiques intermédiaires, entre la région centrale et les extrêmes de la zone observée, mais son amplitude est plus faible et sa distribution spatio-temporelle est plus complexe que celle de la réponse initiale et varie selon le stimulus.

Comme il a été dit dans la section précédente, ces dépolarisations tardives se produisent avec des latences et des durées comparables à celles décrites dans (Metherate & Cruikshank, 1999), ces dernières s'accompagnent d'oscillations dans la bande gamma et sont de nature poly-synaptique. Néanmoins, l'évolution temporelle des réponses évoquées moyennes illustrée dans la Figure 5-13 ne montre pas ce type d'oscillation.

5.2.2.3 Analyse Temps-Fréquence de la réponse aux stimuli FM

Nous avons réalisé des analyses temps-fréquence (voir annexe 2, section 9.3) pour étudier l'existence d'oscillations concomitantes avec les dépolarisations tardives observées dans les figures des sections 5.2.2.1 et 5.2.2.2, ou avec les dépolarisations initiales. La distribution temps-fréquence a été estimée par la distribution d'interférences réduites de Williams avec noyau de Hanning (voir annexe 2, section 9.7), calculée avec la librairie de fonctions de matlab TFTB (Auger et al., 1999). Des distributions temps-fréquence ont été calculées pour des signaux individuels (un seul enregistrement, un seul site de mesure ; e.g., Figure 5-14), et pour des ensembles de signaux (Figure 5-15). Dans ce dernier cas, la moyenne d'ensemble des distributions des signaux individuels a été calculée.

Néanmoins, ni les analyses réalisées sur des signaux individuels, ni les analyses réalisées sur des ensembles de signaux n'ont montré l'existence d'oscillations dans des fréquences supérieures à 40 Hz. Dans les deux cas, l'activité se concentre au dessous de 40 Hz, et dans deux périodes d'activité. La première période correspond à la réponse évoquée traditionnelle. Elle se localise principalement entre 20 et 50 msec, avec une prolongation jusqu'à un peu avant 100 msec. Une activité de fréquences élevées, très localisées en temps, se produit pendant cette période entre 20 et 25 msec. Elle correspond à l'augmentation rapide du potentiel de membrane en réponse aux stimuli. A la fin de cette période, à partir de 50 msec environ et jusqu'à 100 msec environ, une activité de très basse fréquence a lieu. Elle correspond à l'hyperpolarisation de la membrane en réaction à la dépolarisation initiale. Finalement, une deuxième période d'activité à très basse fréquence ($f < 40$ Hz) se produit à partir de 130 msec. Cette activité correspond à la dépolarisation tardive de la membrane. Cette description est valable pour les deux types d'analyses (individuelle et d'ensemble). Aucune oscillation à de hautes ou moyennes fréquences n'a été observée dans les deux cas.

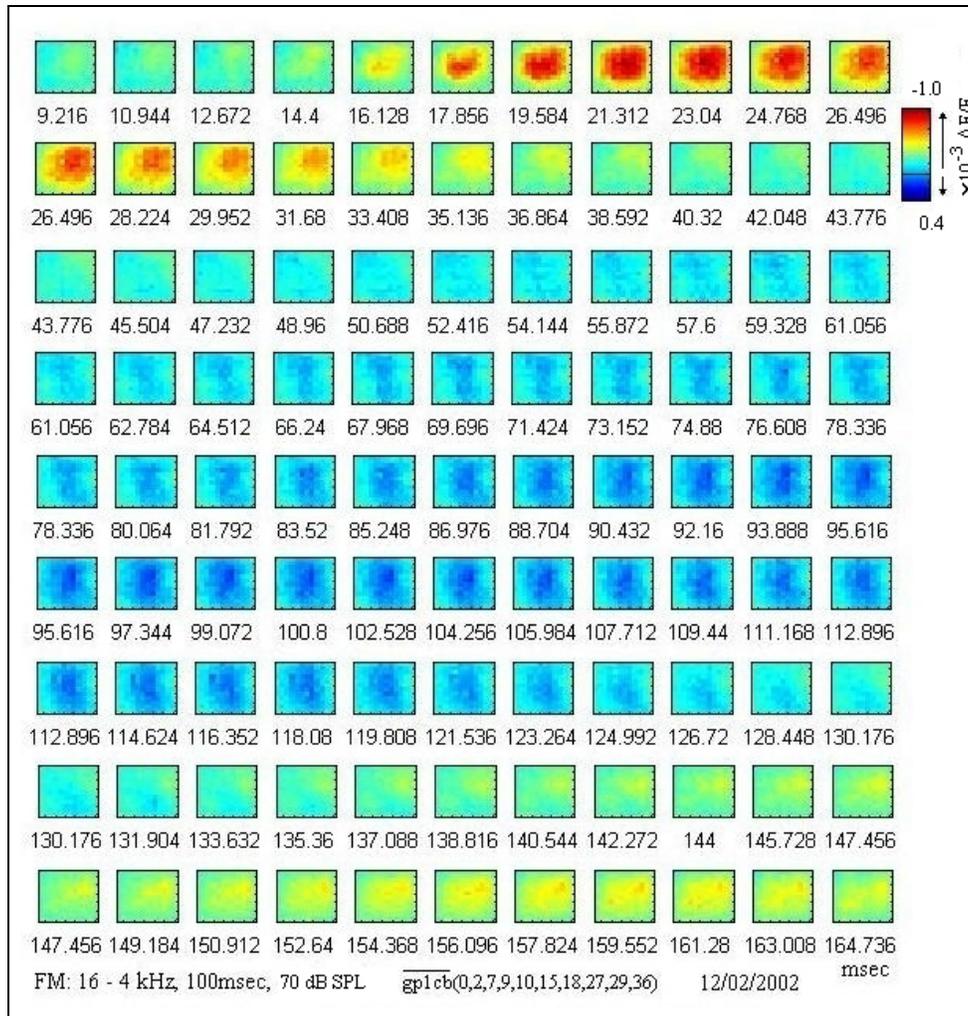


Figure 5-12. Pattern spatio-temporel de l'activité dans le cortex auditif en réponse à un stimulus FM, dont la fréquence instantanée descend de façon linéaire de 16 kHz à 4 kHz en 100 msec. Moyenne d'ensemble de 10 expériences. Le bruit résiduel a été supprimé en utilisant la méthode par rétrécissement de la transformée en ondelettes, décrite dans les sections 4.3.2.3.2 et 4.3.3

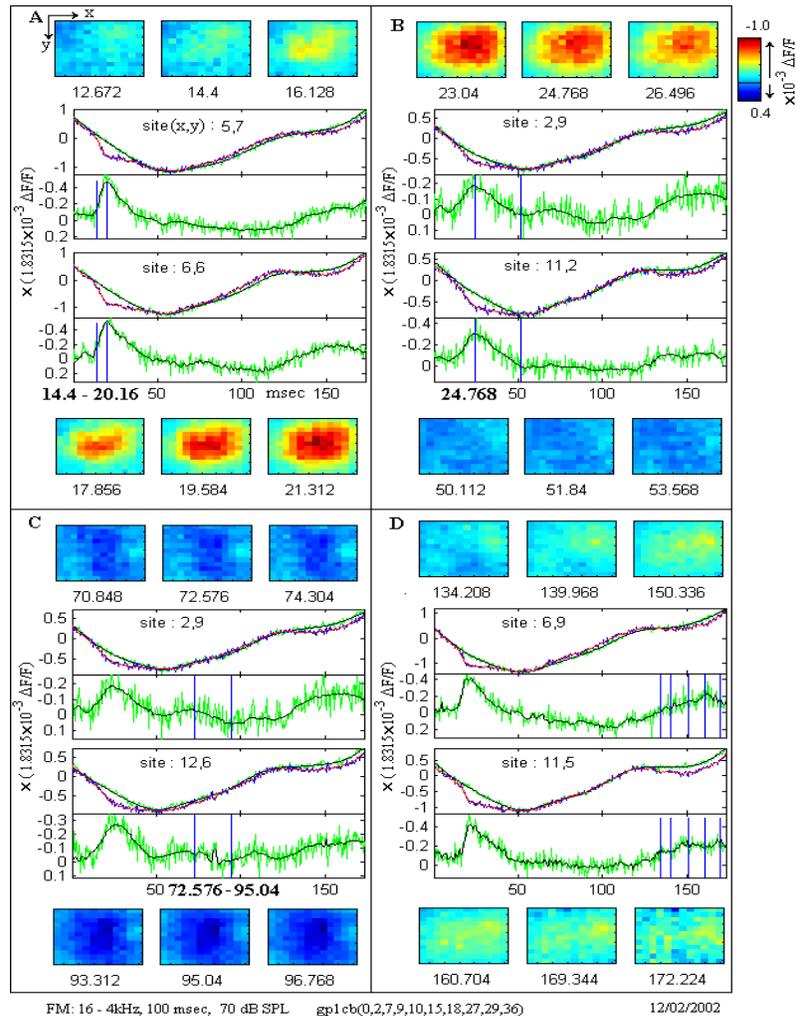


Figure 5-13. Détail de l'évolution spatio-temporelle de la réponse évoquée moyenne (10 enregistrements non successifs) à un stimulus FM (16 à 4 kHz, pendant 100 msec). La figure est divisée en quatre sous-figures pour quatre périodes d'intérêt différentes. On montre des signaux enregistrés avec et sans stimulation, bruités et débruités. Les signaux sans stimulation sont les courbes qui se présentent dans les rectangles supérieurs au centre de chaque sous-figure, les signaux bruts en vert et les débruités en noir. Les signaux enregistrés avec stimulation sont en rouge (débruités) et bleu (bruts). Les réponses évoquées sont calculées par soustraction des signaux enregistrés sans stimulation, de ceux enregistrés avec stimulation (rectangles inférieurs, en noir et vert pour les signaux débruités et bruts respectivement). Les lignes verticales bleues indiquent des instants d'intérêt qui correspondent aux images dans la sous-figure correspondante, et montrent les patterns d'activité à ces instants. Chaque image a 144 sites, et le site (x,y) correspond à la colonne x et la ligne y, mesurés dans le sens indiqué en haut à gauche dans la sous-figure A.

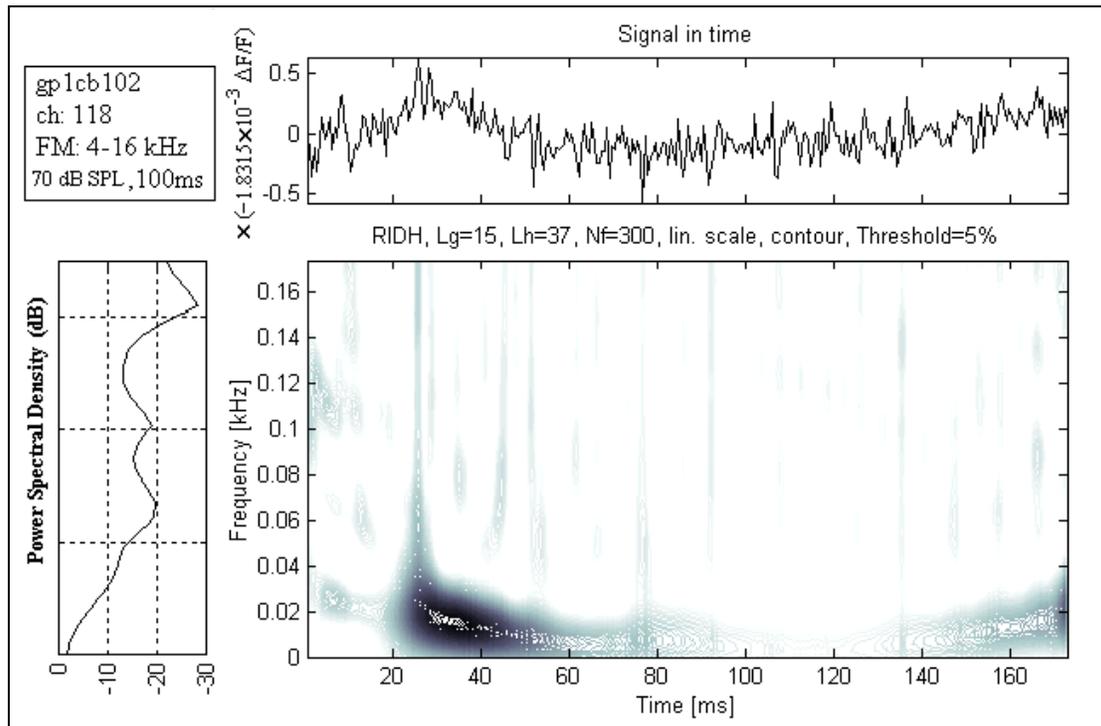


Figure 5-14. Distribution temps-fréquence du signal mesuré en réponse à un stimulus FM (4 à 16 kHz, à raison de 12 kHz/100 msec) sur un site localisé sur une bande tonotopique de basse fréquence. En haut le signal, à gauche le spectre, et au centre la distribution d'interférences réduites de Williams avec noyau de Hanning. Deux périodes d'activité sont observées. La première commence vers 20 msec, dure environ 80 msec, et elle est concentrée sur les premières 30 msec. Elle correspond au début de la réponse évoquée et se situe principalement dans les basses fréquences ($f < 40$ Hz). Néanmoins, vers 25 msec une augmentation locale de la fréquence au dessus de 40 kHz est observée. Elle correspond à la dépolarisation rapide de la membrane en réponse au stimulus. La deuxième période d'activité commence vers 130 msec et se prolonge jusqu'à la fin de l'enregistrement. Elle est plus faible et se situe dans les basses fréquences. Elle correspond à la dépolarisation tardive. D'autres activités plus faibles, très localisées en temps, et à des fréquences plus hautes que 40 Hz, sont aussi observées. Une augmentation relative de la puissance totale entre 60 et 150 Hz est également observée. Néanmoins, aucune oscillation à des fréquences gamma ou plus élevées n'est observée.

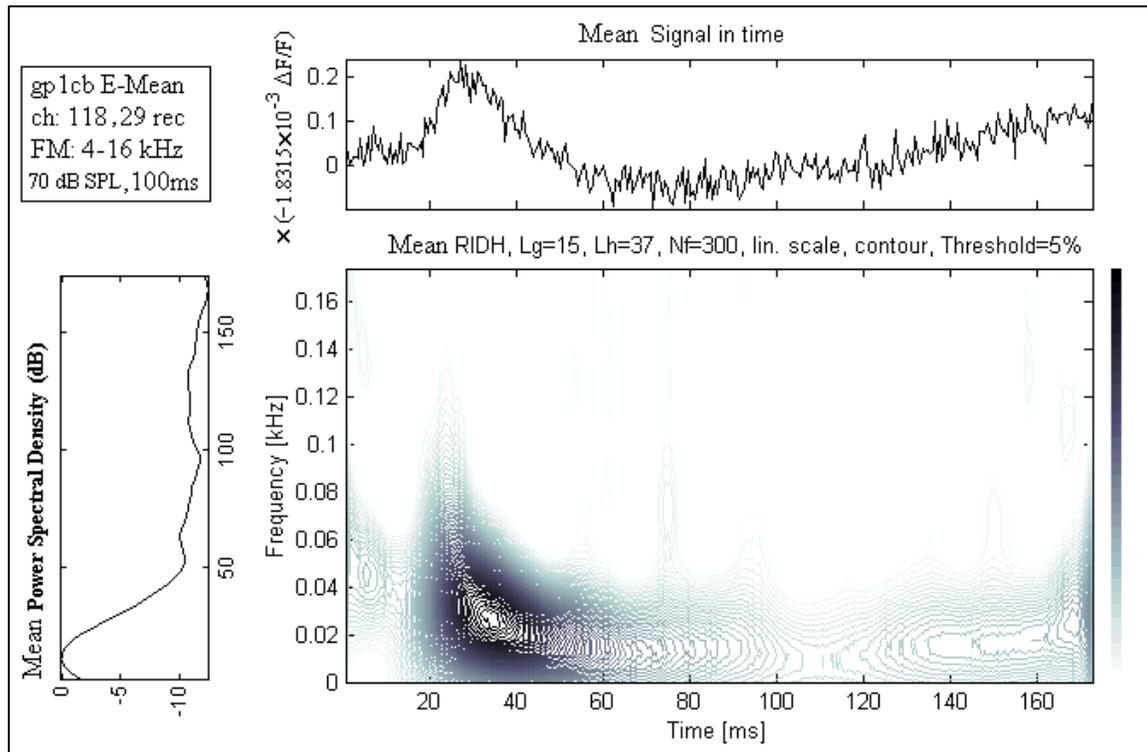


Figure 5-15. Distribution temps-fréquence moyenne d'un ensemble de 29 signaux mesurés en réponse à un stimulus FM (4 à 16 kHz, à raison de 12 kHz/100 msec) sur un site localisé sur une bande tonotopique de basse fréquence. En haut la moyenne d'ensemble des signaux, à gauche la moyenne d'ensemble des spectres des signaux ; au centre la moyenne d'ensemble des distributions temps fréquence des signaux (distribution d'interférences réduites de Williams avec noyau de Hanning). Deux périodes d'activité sont observées. La première commence vers 15 msec, se concentre entre 20 et 60 msec, et se prolonge jusqu'à 100 msec. Elle correspond à la première dépolarisation et à l'hyperpolarisation qui la suit. La deuxième commence vers 120 msec et se prolonge jusqu'à la fin de l'enregistrement, elle correspond à la dépolarisation tardive. Aucune activité oscillatoire à des fréquences supérieures à 40 kHz n'est observée.

5.2.3 Analyse détaillée du signal : « coïncidences » et UE

Les analyses présentées jusqu'ici décrivent des caractéristiques globales du signal de fluorescence en réponse aux stimuli sonores, sans tenir compte des détails du signal, des fluctuations qui, a priori, étaient dues au bruit. Néanmoins, nous avons aussi réalisé une analyse plus détaillée du signal observé dans chaque site de mesure afin de détecter des événements locaux intéressants qui disparaîtraient facilement dans la globalité. Cette analyse a permis d'observer des phénomènes de caractère local qui nous ont semblé intéressants et que nous allons décrire par la suite.

Etant donné que la technique d'enregistrement optique permet d'observer l'activité électrique du cortex à des résolutions temporelles et spatiales relativement importantes (i.e. on s'approche de l'échelle spatiale des unités fonctionnelles du cortex et de l'échelle temporelle des potentiels postsynaptiques ; voir section 3.1), nous nous sommes demandés s'il était possible d'observer des événements locaux, rapides, d'une faible amplitude de l'ordre de la variance du bruit. Ces événements – s'ils existent et s'ils sont observables avec cette technique – pourraient être très importants d'un point de vue fonctionnel et de la représentation de l'information sonore dans le cortex (voir sections 3.1.6 et 3.3), mais ils seraient aussi très difficiles à observer.

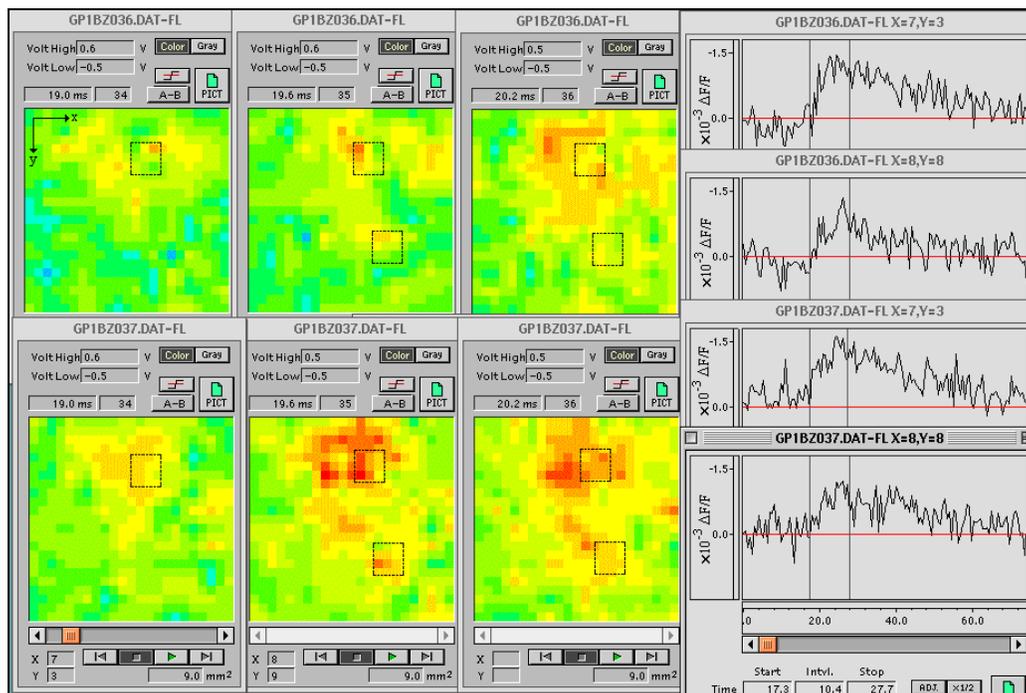


Figure 5-16. Deux enregistrements successifs (voir description de la Figure 5-1). Les petits carrés dans les images de gauche montrent les zones autour des sites correspondant aux signaux à droite (approximativement). Les deux lignes verticales à droite montrent un intervalle d'intérêt durant lequel la structure temporelle fine du signal est similaire dans les deux sites signalés, et pendant lequel des « coïncidences » dans l'activité des sites distants semblent se reproduire dans les deux enregistrements.

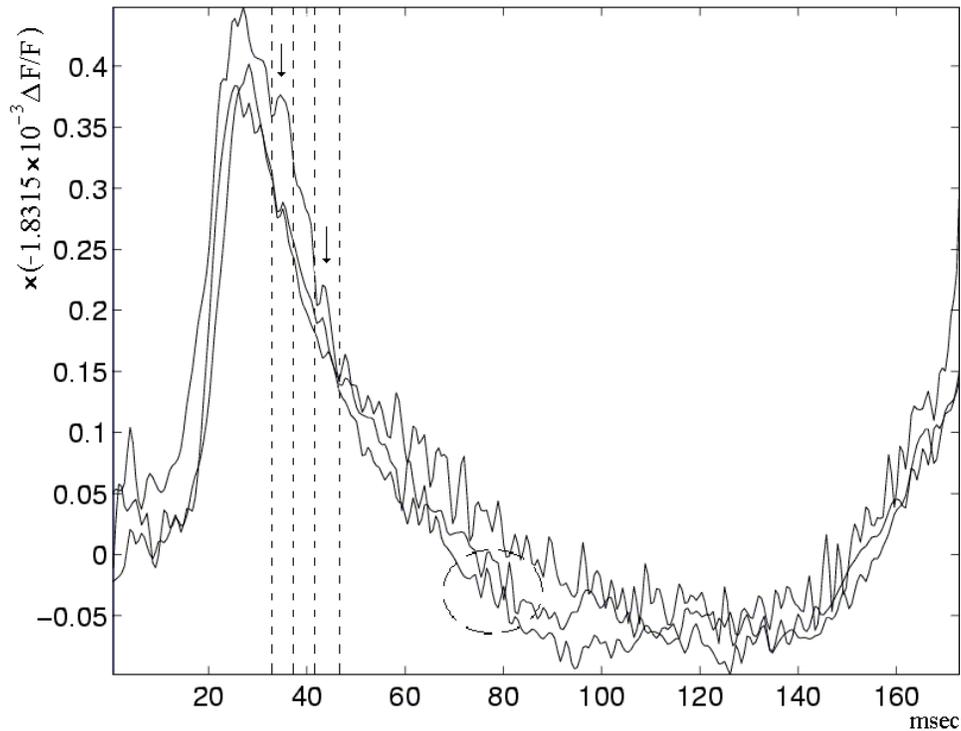


Figure 5-17. Fluctuations rapides simultanées dans trois sites de mesure. Signaux en réponse à un stimulus mono-tonal de 12 kHz de 50 msec de durée observés sur trois sites différents du cortex auditif pendant un même enregistrement. Les deux signaux de plus faible amplitude correspondent à deux sites voisins (6,6) et (6,7) ; le signal de plus grande amplitude est observé sur un site plus éloigné (3,12). Les signaux ont été débruités par la méthode non linéaire décrite dans la section 4.3.3, et l'artefact hémodynamique a été estimé et soustrait comme il est décrit dans la section 4.3.5.4. Les flèches indiquent des instants où des fluctuations simultanées se produisent dans les trois sites.

Ceci est représenté dans la Figure 5-16, à partir de laquelle nous avons déjà illustré la variabilité du signal d'un enregistrement à l'autre (section 5.1). Même si les fluctuations rapides sont très variables d'un enregistrement à l'autre, et d'un site de mesure à l'autre pendant le même enregistrement, on peut parfois observer des similarités entre enregistrements et entre sites de mesure. Dans l'intervalle signalé par les deux lignes verticales, on peut observer des fluctuations faibles de quelques millisecondes de durée (~ 5 msec), qui semblent avoir une structure temporelle similaire. De la même manière, dans les images de gauche de la même figure, il est possible d'observer des similarités dans le pattern spatio-temporel d'un enregistrement à l'autre, et des sites différents qui semblent s'activer simultanément. Par exemple, dans les images de gauche, à 19 msec, des sites proches représentés à droite par le signal du site (7,3) (dans la partie haute des images), s'activent dans les deux enregistrements. Puis, vers 19.6 msec deux groupes de sites, en haut et en bas de l'image (représentés à droite par

les sites (7,3) et (8,8), respectivement) s'activent simultanément, et ceci pour les deux enregistrements. Étant donné que le signal est très bruité et qu'il change très rapidement, nous avons trouvé intéressant d'observer ce type de « coïncidences » dans l'activation des différents sites, et une certaine similarité locale dans la structure temporelle fine des signaux.

Néanmoins, il faut tenir compte de la variance du bruit, qui peut être très importante par rapport au signal d'origine neuronale. Nous nous sommes donc posé la question de savoir si ces « coïncidences », ces fluctuations qui semblaient se produire d'une manière similaire d'un enregistrement à l'autre, étaient effectivement des fluctuations d'origine neuronale importantes d'un point de vue fonctionnel ou si elles étaient dues simplement au bruit des instruments. Il était aussi important de savoir si elles pouvaient être détectées et caractérisées.

Des algorithmes de débruitage non linéaires basés sur la transformée en ondelettes ont été étudiés, adaptés et implémentés (voir sections 4.3.2 et 4.3.3) afin de mieux analyser et détecter ces fluctuations. Nous avons aussi développé et implémenté des algorithmes pour leur détection et caractérisation (voir section 4.4).

Dans la Figure 5-17, on montre un exemple de signaux débruités, où de faibles fluctuations, rapides (~ 5 msec de durée) et simultanées, sont clairement observées dans trois sites de mesure. Les signaux correspondent à trois sites différents pendant un même enregistrement, deux signaux proviennent de sites voisins, le troisième correspond à un site plus éloigné. Les flèches signalent les instants où des fluctuations simultanées se produisent dans les trois signaux. Un examen détaillé de ces signaux a montré que les signaux observés sur des sites voisins présentent une structure temporelle similaire à d'autres intervalles temporels (e.g., vers 60 msec et vers 80 msec).

D'autres fluctuations faibles et relativement rapides (~ 10 msec), ont été observées plus tardivement sur des signaux obtenus en réponse aux stimuli FM (voir Figure 5-13-D, site (11,5), vers 120 ~ 170 msec). Nous avons utilisé l'algorithme de détection et caractérisation des UE développé dans la section 4.4 afin d'étudier en détail ces signaux. Les UE ainsi détectés présentent des dispersions d'environ 3 msec et se succèdent à des intervalles d'entre 10 et 25 msec, ce qui correspondrait à une oscillation aperiodique d'entre 40 et 100 Hz (voir section 4.4.6).

Nous avons réalisé des analyses sur plusieurs sites de mesure de manière à confirmer ces résultats. Cependant, ce type d'activité n'a été observé que dans quelques sites de mesure ; sur la plupart des sites aucun UE n'a été détecté et nous n'avons pas observé des fluctuations simultanées dans des sites différents. Ces résultats ne permettent pas de conclure l'existence ou non des UE, ni la présence d'activités synchrones entre sites de mesure. D'autre part, nous n'avons pas pu réaliser des statistiques puisque toutes les données disponibles, de qualité acceptable, ont été utilisées dans le calcul de la moyenne d'ensemble. De plus, l'utilisation de cet algorithme sur des signaux obtenus lors d'un seul enregistrement s'est avérée impossible puisque le RSB est trop faible. Le fait que la variance du bruit du signal soit très grande et que ces fluctuations soient très faibles par rapport au bruit, pose d'énormes difficultés pour l'analyse de ce signal. D'autre part, les algorithmes de débruitage implémentés ne sont pas assez robustes, ils dépendent fortement d'une bonne estimation de la variance du bruit, ce qui n'est pas un

problème facile à résoudre (voir section 4.3.3.1). Ces difficultés rencontrées n'ont pas permis d'obtenir assez de signaux de bonne qualité pour mieux étudier et caractériser ces fluctuations.

5.2.4 *Interprétation théorique de ces résultats*

Nous avons interprété nos observations par rapport aux résultats de l'analyse théorique développée dans le chapitre 3. Les résultats principaux sont résumés par la suite.

Tout d'abord, si nous observons le signal d'activité corticale estimée, en réponse aux stimuli de fréquence constante, nous pouvons inférer que :

- *Le signal observé dans les sites où la réponse spatio-temporelle débute (i.e. les foyers) reflète principalement une activité corticale postsynaptique déclenchée par des PA presque coïncidents (i.e. le processus d'arrivée de PA est un phénomène transitoire).* Tout d'abord, car la forme de la réponse évoquée ressemble non seulement à la forme de l'activité moyenne d'une population corticale en réponse à une impulsion (sous l'effet de l'anesthésie, voir Freeman & Jakubith (1993)), mais aussi la forme du PSTH d'un seul neurone en réponse à un stimulus impulsif (voir Nawrot et al. (1999) et Rieke (1997)). Ensuite, parce que la forme et la durée (environ 30 millisecondes) de cette activité (voir Figure 5-7 (h,i)) ressemblent fortement à la forme et à la durée d'un potentiel postsynaptique AMPA (voir Figure 3-6). Ce fait suggère l'arrivée d'une impulsion de PA d'une durée de l'ordre de la milliseconde, étant donné que, comme nous l'avons montré dans la section 3.2.2.2, la forme du signal $L_{\Delta F/F}$ résulte de la convolution entre l'intensité du processus d'arrivée de PA et le EPSP-AMPA intégré au long d'un segment de dendrite. Ceci a été confirmé par des simulations réalisées avec le modèle développé dans la section 3.4 (i.e. la forme des signaux observés (e.g. Figure 5-7-A-h) est similaire à celle des signaux simulés à partir d'un processus de PA impulsif (voir Figure 3-11-B)). La durée présumée des impulsions serait d'environ 5 msec (voir Figure 3-11-A), ceci signifie que chaque synapse reçoit en moyenne très peu de PA et que les PA arrivent aux synapses presque simultanément.
- *L'activité observée résulte principalement d'une impulsion de PA d'origine thalamique.* La latence du déclenchement de la réponse observée est d'environ 15 msec, et la durée présumée de l'impulsion de PA correspondante est d'environ 5 msec. La latence présumée de l'impulsion de PA est inférieure à celle de la réponse observée étant donné que le filtrage synaptique introduit un retard de quelques millisecondes (voir section 3.2.2.2). Ce temps du début de réponse serait similaire, voire inférieur, à la latence des premiers PA déclenchés dans le cortex, laquelle a été estimée à environ 14 msec par Rutkowski et al. (2000) grâce à des mesures réalisées à l'aide de microélectrodes. Ceci suggère que l'activité observée reflète principalement l'arrivée de PA provenant du thalamus.

Ensuite, par rapport aux signaux observés en réponse aux stimuli de fréquence modulée, nous pouvons déduire que :

- *Il existe probablement une faible activité postsynaptique d'origine intracorticale, une oscillation aperiodique dans la bande gamma, constituée d'événements unitaires (UE). Le processus de PA qui sous-tend cette oscillation est constitué de paquets de PA (voir 3.3.2) qui arrivent aux synapses à des intervalles irréguliers. Cette activité s'accompagne d'une faible, mais longue, dépolarisation. Sa latence (vers 130 msec) suggère une origine intracorticale puisque des activités de caractéristiques similaires, d'origine intracorticale, ont été observées *in vitro* (chez le rat) par Metherate & Cruikshank (1999). La durée des UE détectés suggère la coïncidence de PA. Ceci a été confirmé par des simulations réalisées avec le modèle développé dans la section 3.4 (i.e. la forme du signal de la Figure 5-13-D (site 11,5) (voir aussi Figure 4-22) est similaire à celle des signaux simulés à partir d'un processus de PA contenant un train de paquets de PA (Figure 3-13-B)). La dispersion présumée des PA dans chaque paquet de PA serait inférieure à la milliseconde. Cette activité coïncidente et oscillatoire reste rare et serait plus importante pour des stimuli FM que pour des stimuli à fréquence constante. D'autres expériences sont nécessaires pour confirmer l'existence de cette activité et pour estimer les valeurs type des paramètres de la fonction d'intensité de PA correspondante.*

5.3 Discussion

Dans ce chapitre nous avons décrit quelques caractéristiques du signal d'activité électrique corticale, mesuré par fluorescence potentiel-dépendante, en réponse aux stimuli sonores.

- Nous avons étudié la variabilité du signal d'un enregistrement à l'autre. Nous avons montré que (pour les conditions expérimentales utilisées dans ce travail) la plupart des causes de la variabilité peuvent s'expliquer par des sources extrinsèques. En particulier, nous avons montré qu'une grande partie de la variabilité peut être aisément expliquée par les erreurs résiduelles dans l'estimation de l'artefact cardiaque. Comme corollaire, nous avons montré que la variabilité intrinsèque est, soit imperceptible puisque trop faible par rapport à la variabilité extrinsèque, soit négligeable puisque son influence sur l'activité corticale évoquée est imperceptible ; et donc, en ce dernier cas elle peut être assimilée à une variabilité extrinsèque. Ceci est vrai pour des variations (d'un enregistrement à l'autre) qui varient lentement (dans le temps sur le même enregistrement), et pour celles qui ont un caractère oscillatoire. Par contre, nous ne pouvons rien dire par rapport aux variations rapides et non oscillatoires. Nous avons développé cette étude séparément dans un article qui sera soumis à publication prochainement (voir l'Annexe 1, section 8).
- Ensuite, nous avons étudié les caractéristiques globales de l'activité corticale spatio-temporelle en réponse aux stimuli mono-tonaux et FM. L'utilisation de techniques d'estimation plus précises que celles utilisées habituellement pour estimer l'activité corticale dans les signaux de fluorescence (techniques qui seront présentées dans la

section 4.3) a permis d'obtenir des images et des signaux de bonne qualité. Dans ces signaux d'activité corticale estimés nous avons observé quelques différences par rapport aux descriptions de cette activité réalisées dans des études précédentes.

- En particulier, nos observations suggèrent que l'activité dans les deux aires du cortex auditif (A et DC) en réponse aux stimuli sonores commencent de manière simultanée, et arrivent à leur maximum simultanément, au contraire de ce qui a été observé par Horikawa et al. (1996) qui suggèrent une différence de quelques millisecondes (~ 2 msec) entre les déclenchements des réponses dans les deux aires corticales et leur valeur maximale.
 - Deux facteurs, la variance du bruit et les différences d'amplitude entre les signaux observés dans chaque aire corticale, peuvent donner la fausse impression d'un retard entre les deux signaux. *La différence d'appréciation peut donc être expliquée par l'amélioration du RSB dans nos données par rapport aux données utilisées dans les études précédentes.*
 - Ces deux facteurs, en plus d'une différence de vitesse dans le déclin de la réponse dans chaque aire corticale, donneraient l'impression d'un « déplacement » de l'activité d'une aire à l'autre.
 - En effet, selon Taniguchi et al. (1992), le retard observé dans la réponse de l'aire DC par rapport à l'aire A pourrait être interprété comme étant dû à une propagation de l'activité dans la zone A vers la zone DC (qui selon eux serait probablement un centre hiérarchique plus important que A dans le chemin de propagation de l'information (Taniguchi et al., 1992)).
 - Cependant, plusieurs études réalisées dans différentes modalités du cortex sensoriel suggèrent l'existence de chemins parallèles et complémentaires pour le traitement de l'information (Grossberg, 2000; Metzner & Juranek, 1997; Young, 1998), chemins qui pourraient avoir une vitesse différente.
 - En outre, selon l'hypothèse de Taniguchi et al. (1992), la vitesse de déplacement de l'activité d'une aire à l'autre serait très grande ; ce qui ne peut pas être expliqué facilement par des connexions intracorticales entre les deux aires corticales puisque la vitesse de conduction chez le cobaye est assez réduite. En effet, le temps estimé pour que l'activité se déplace d'un site de mesure à l'autre est de l'ordre de la milliseconde, c'est-à-dire de l'ordre du retard observé par Horikawa et al. (1996) (voir section 3.1.3.2) entre les réponses évoquées dans les deux aires corticales.
 - *Nos observations, qui suggèrent la simultanéité du déclenchement des activités évoquées dans les deux aires, et de l'arrivée à leur valeur maximale, soutient donc l'hypothèse des chemins parallèles pour les aires A et DC (ou plutôt A1 et DC).*
- En plus de la simultanéité, nous observons que les signaux commencent plus tôt (vers 16 msec) que l'instant de déclenchement observé par Horikawa et al. (1996) (20 msec). Ces temps du début de réponse sont en concordance avec l'instant du début d'arrivée des PA, estimé avec des mesures d'activité neuronale réalisées avec des microélectrodes, qui situent la latence des premiers PA à 14 msec environ dans les deux aires du cortex auditif (voir Rutkowski et al. (2000)).

- Nous avons observé un phénomène très intéressant qui n'a pas été décrit auparavant avec ce type de signaux : l'existence des patterns spatio-temporels de dépolarisation tardive, vers 130 msec. Ce type d'activité a été observé principalement en réponse aux stimuli FM, mais une activité similaire, de plus faible amplitude, a été aussi observée en réponse au stimuli de fréquence constante. Les latences et durées de cette dépolarisation sont similaires à celles qui ont été observées dans la réponse des tranches du cortex auditif aux stimuli électriques (Metherate & Cruikshank, 1999), et des similarités semblent exister aussi avec une dépolarisation observée *in vivo*, chez le rat, avec des matrices de microélectrodes (Franowicz & Barth, 1995)(voir section 3.1.3.5, Figure 3-2).
- Par rapport à la densité spectrale de puissance, nous avons montré que l'activité corticale en réponse aux stimuli se situe principalement dans les basses fréquences ($f < 40$ Hz). Même si des oscillations non négligeables existent, nous avons montré que ces oscillations correspondent aux harmoniques de l'artefact hémodynamique.
- Ensuite nous avons réalisé des analyses temps-fréquence sur ces signaux. Selon les publications mentionnées auparavant (Franowicz & Barth, 1995; Metherate & Cruikshank, 1999), ces phénomènes sont souvent accompagnés par des oscillations dans la bande gamma. Ainsi, il était naturel de chercher l'existence de ce même type d'activité dans nos données. Néanmoins, nous n'avons pu mettre en évidence aucune activité oscillatoire importante dans nos données avec ce type d'analyse.
- Une des raisons possibles qui expliquerait que nous n'ayons pas observé d'activités oscillatoires importantes en concomitance avec la dépolarisation tardive est l'utilisation d'un niveau trop profond d'anesthésie. En effet, nous avons étudié des données obtenues sous l'action de barbituriques, et ce type d'anesthésie a pour effet d'amplifier l'inhibition GABAergique, d'empêcher le déclenchement des potentiels postsynaptiques dépendants des canaux NMDA, et par conséquent, d'empêcher la génération d'oscillations dans la bande gamma (voir sections 3.1.3.8 et 3.2). Cependant, ce phénomène mérite d'être étudié plus profondément avec de nouvelles expériences, sous des conditions expérimentales différentes, de manière à arriver à une conclusion satisfaisante.
 - En outre, il faut noter que cette dépolarisation tardive coïncide avec une déformation du signal brut (avant d'éliminer l'artefact), qui se produit toujours, même en absence de stimulation (voir signaux dans la Figure 5-13). Il est donc nécessaire d'étudier l'origine de cette déformation, et sa relation avec la dépolarisation tardive. Nous pouvons donc nous poser deux questions : est-ce qu'il s'agit d'un artefact d'origine hémodynamique ou est-ce effectivement une dépolarisation de la membrane due aux stimuli ?
- Nous avons observé dans certains cas, comme celui montré dans la Figure 5-13-D, de faibles fluctuations qui sont assez proches de celles que l'on pourrait attendre dans la présence d'UE : leur latence et leur structure temporelle sont similaires à celles des

oscillations du potentiel de membrane observées *in-vitro* dans d'autres études (Hsieh et al., 2000; Metherate & Cruikshank, 1999), en réponse à des stimulations thalamocorticales. Il reste par contre à savoir si les fluctuations que l'on récupère ont réellement une origine neuronale, et si elles sont corrélées à une fonction cognitive ou perceptive. Dans nos données, ces fluctuations restent trop rares pour nous permettre d'en déduire leur origine.

- Néanmoins, l'analyse du signal n'a pas permis de conclure l'existence ou non de fluctuations rapides et simultanées, non oscillatoires. Le caractère trop bruité du signal de fluorescence empêche une analyse plus précise de ces fluctuations.
- Il faut signaler que nos données n'ont pas été obtenues sous des conditions expérimentales adéquates pour observer ce type de phénomène, en particulier puisque le colorant utilisé (RH795) ne permet pas d'obtenir des signaux avec un bon RSB. De nouvelles expériences, sous des conditions expérimentales différentes, doivent être réalisées. En particulier, il faudrait utiliser les nouveaux colorants « bleus », qui sont moins sensibles aux variations de concentration de l'hémoglobine, et qui présentent un meilleur RSB (Shoham et al., 1999). D'autre part, une amélioration de la résolution spatiale et temporelle est souhaitable.
- Les résultats de l'analyse théorique du chapitre 3 nous ont permis d'interpréter les signaux étudiés dans ce chapitre en fonction de l'activité postsynaptique dans le site observé. Pour les stimuli de fréquence constante, nous avons proposé, d'une part, que le signal observé représente principalement des activités monosynaptiques dépendantes des récepteurs AMPA, et d'autre part, que le processus de PA arrivant à un site de mesure soit transitoire (voir aussi section 3.1.3.2). Ceci veut dire que les signaux reflètent principalement le processus afférent de PA, c'est à dire une activité d'origine subcortical plutôt qu'une quelconque activité intracorticale. Cela peut s'expliquer du fait que le cortex est profondément inhibé à cause de l'anesthésie.
- Deux facteurs semblent donc très importants à prendre en compte lors de futures expériences : le contrôle précis du niveau d'anesthésie, de manière à ne pas trop inhiber l'activité corticale, et l'amélioration des techniques de mesure et de traitement du signal, de manière à réduire la variance du bruit et l'amplitude de l'artefact hémodynamique, et de façon à améliorer la résolution spatio-temporelle.

CHAPITRE 6

Analyse des enregistrements multi-sites de l'activité corticale

Dans ce chapitre nous allons étudier le problème de la caractérisation de l'activité électrique spatio-temporelle du cortex auditif en réponse aux stimuli. Nous allons explorer quelques techniques de modélisation de l'activité neuronale et leur application à l'analyse des données multi-sites obtenues avec la technique de fluorescence voltage-dépendente. Nous allons commencer par une introduction aux théories de la physique qui sous-tendent ces modèles, pour ensuite présenter quelques modèles couramment utilisés pour décrire l'activité du cortex. Puis, nous allons présenter quelques analyses de données multi-sites en utilisant un modèle appelé modèle de diffusion linéaire (LDM). Nous finirons par une discussion sur les modèles présentés, sur les résultats obtenus lors des analyses, et sur l'analyse de ce type de données d'une manière plus générale.

6.1 Physique et cerveau

L'étude de l'activité neuronale au niveau des systèmes a toujours été liée aux modèles issus de la recherche dans d'autres domaines de la science et de l'étude de phénomènes relativement plus simples. Ceci est illustré par le fait que beaucoup de théoriciens du système nerveux ont aussi travaillé dans d'autres domaines telles que la physique ou la chimie. Les idées avancées par des physiciens comme Freeman, Amit ou Haken (Amit et al., 1985; Freeman, 1972; Haken, 1996) montrent à quel degré les théories de la physique ont imprégné l'étude du cerveau. Si d'autres domaines tels que la psychologie et la biologie ont apporté le « pourquoi » et le « quoi » de l'étude du cerveau, la physique, quant à elle, a apporté des idées sur le « comment » cet organe fonctionne, des modèles sur les mécanismes qui supportent son activité, et les lois qui régissent son fonctionnement. C'est pourquoi plusieurs méthodes d'analyse de l'activité cérébrale sont issues des modèles de systèmes physiques plus simples, relativement bien connus par les physiciens ; et c'est ainsi qu'on retrouve souvent les concepts et le langage des physiciens dans l'étude de l'activité neuronale.

En particulier, dans le cas qui nous occupe dans ce travail (l'analyse de l'activité neuronale multi-sites), les concepts issus de domaines tels que la mécanique statistique ou l'étude des systèmes complexes sont actuellement l'approche privilégiée. Cette approche a aidé principalement à l'analyse et au développement des nouveaux paradigmes de calcul (Bovier & Picco, 1997; Kappen, 1999), et récemment elle a montré aussi son utilité dans le développement d'outils thérapeutiques (Martinerie et al., 1998). Cependant, on est encore loin d'avoir des outils adéquats pour analyser l'activité du cerveau, puisque comme Freeman, Kozma et Werbos l'ont écrit récemment, les outils d'analyse développés à partir des concepts de la physique du

non-vivant sont insuffisants pour comprendre les phénomènes du vivant (Freeman et al., 2001). Des nouveaux outils d'analyse qui tiennent compte des particularités de la matière vivante doivent donc être développés.

6.1.1 Systèmes Complexes, Cerveau et Néocortex

Le cerveau humain est un organe très complexe, tant du point de vue architectural, que du point de vue fonctionnel ; il est considéré comme le système (connu) le plus complexe qui existe dans la nature. C'est un système composé d'une quantité énorme d'éléments (de l'ordre de 10^{12} neurones), qui s'interconnectent entre eux et constituent des réseaux formés par une quantité encore plus grande de liens (synapses), de l'ordre de 10^{15} (Haken, 1985). Le néocortex, couche mince de tissu qui enveloppe le cerveau, responsable de ses fonctionnalités les plus évoluées, est composé chez l'homme d'une quantité de l'ordre de 10^9 neurones interconnectés densément entre eux et avec d'autres parties du cerveau par une quantité de l'ordre de 10^{12} synapses (Mountcastle, 1997), dont 90% de connexions d'une zone du néocortex à une autre (cortico-corticales) (Changizi, 2001). Dans un volume de 1 mm^3 du néocortex d'un petit animal comme la souris, on trouve environ 90.000 neurones interconnectés par environ 700 millions de synapses (DeFelipe, 1997). Finalement, la fonction de chaque neurone, de chaque dendrite ou de chaque synapse peut être en soit très complexe ; des phénomènes dynamiques très variés peuvent se produire dans les dendrites des neurones corticaux (Sejnowski, 1997), ce qui donne aux réseaux de neurones corticaux une énorme richesse dynamique et fonctionnelle.

Ce système neuronal densément interconnecté est capable de percevoir, de ressentir, de réaliser des calculs complexes, de planifier et contrôler des mouvements complexes du corps, et dans le cas de l'homme il est capable de réfléchir, d'avoir une perception consciente de sa propre existence, de décrire les objets qui l'entourent, d'abstraire, d'imaginer, et même de s'étudier lui-même pour essayer de comprendre son fonctionnement. Cependant, étant donné sa complexité, notre compréhension de ce système est encore très vague et superficielle.

6.1.2 Patterns Spatiotemporels et Activité Neuronale

Les systèmes complexes, comme le tissu neuronal, manifestent souvent une activité spatio-temporelle très riche, qui ne peut pas être expliquée uniquement à partir des propriétés de ses éléments constitutifs. Au contraire des systèmes physiques plus simples comme le gaz, dont le comportement macroscopique peut être déduit à partir de la connaissance des propriétés de ses éléments constitutifs (atomes, molécules) et des lois qui les gouvernent au niveau microscopique, les systèmes complexes ne peuvent pas être réduits au niveau microscopique de la même façon. Les interactions entre les éléments du système sont souvent plus importantes que les propriétés de ces éléments pour déterminer ses propriétés au niveau macroscopique, et l'ordre qui se manifeste au niveau macroscopique par les patterns spatio-temporels naît de ses

interactions (i.e. il est intrinsèque au système). Ces systèmes manifestent donc des propriétés émergentes qui ne peuvent pas être prédites uniquement à partir des propriétés des éléments au niveau microscopique (Haken, 1985; Haken, 1996; Kelso, 1995).

Ce type de comportement se produit même dans des systèmes relativement simples par rapport au cerveau, tels que les verres de spin et les lasers ; ce sont des systèmes homogènes dont les éléments (atomes, molécules) sont indiscernables les uns des autres et dont les forces extérieures exercent une action similaire sur chaque élément. L'émergence d'organisation au niveau macroscopique dans ce type de systèmes se produit par un processus d'auto-organisation, grâce aux interactions des éléments à l'échelle microscopique. Même si l'organisation dans une forme particulière dépend d'une excitation extérieure, elle se produit sans que les forces provenant de l'extérieur aient une influence directe sur la structure des patterns. Les patterns spatio-temporels sont intrinsèques au système, et ils se « réveillent » ou « s'endorment » grâce à l'influence des forces extérieures. Les variations des forces extérieures créent des instabilités qui provoquent le changement dans la structure de ces patterns. Donc, pour que ce processus ait lieu le système doit être un système ouvert, c'est à dire un système qui a des échanges permanents avec l'extérieur (Kelso, 1995).

Même si les organismes vivants, et le cerveau en particulier, sont des systèmes beaucoup plus complexes que les verres de spin ou les lasers, l'utilisation de ces systèmes relativement plus simples pour modéliser l'activité du néocortex a été proposée par plusieurs auteurs (e.g., le laser : (Haken, 1985), les verres de spin : (Amit et al., 1985)).

Il est très intéressant de noter que l'idée selon laquelle l'activité mentale (et la perception, en particulier) possède un caractère spatio-temporel, et qu'elle est le résultat de l'interaction entre les éléments qui constituent le système nerveux, n'est pas une idée nouvelle. En effet, on peut trouver les traces de cette idée dans les origines de la neuropsychologie ; au début du siècle le neuropsychologue K. S. Lashley, dans son article « Basic Neural Mechanisms in Behaviour » (Lashley, 1930), a proposé qu'il existe un parallélisme entre le processus de morphogenèse et l'organisation du système nerveux. Selon lui, l'organisation du système nerveux serait relativement indépendante de ses éléments structurels et dépendrait plutôt de la relation entre ses éléments. En s'appuyant sur des études de lésions faites sur le cortex cérébral, il montrait qu'il était impossible d'établir une correspondance entre les éléments du comportement psychologique et des zones spécifiques du cortex, et encore moins une correspondance précise entre récepteurs et effecteurs, avec des éléments (neurones) précis comme auparavant la théorie de localisation cérébrale le promulguait. Selon cette hypothèse, une activité neuronale (donc physique) est sous-jacente aux processus cognitifs (perception, mémoire, conscience), cette activité étant distribuée dans la surface du cerveau (dans le néocortex) dans la forme de patterns spatio-temporels.

Lashley écrivait par rapport à la localisation dans le cortex de l'activité du système visuel en réponse aux stimuli, « *The same cells may not be twice called upon to perform the same function. They may be in a fixed anatomical relation to the retina, but the functional organization plays over them just as the pattern of letters plays over the bank of lamps in an electric sign. We find then at the point of projection on the cortex a variable pattern shifting over a fixed anatomical substratum* ». Selon lui, les éléments de l'activité du cortex ne seraient pas simplement des réactions isolées aux stimuli, les éléments de l'activité cérébrale seraient

plutôt des modes d'organisation ; le cortex serait le substratum sur lequel les réactions aux stimuli pourraient s'organiser de façon spontanée. On retrouve des idées similaires chez Feynman, pour qui l'esprit « flotte » sur le substrat neuronal dans la forme des patterns spatio-temporels : « *Mind must be a sort of dynamical pattern, not so much founded in a neurological substrate as floating above it, independent of it* » (voir Kelso (1995)).

L'étude de l'activité du cerveau au niveau macroscopique et mésoscopique a profité des avancements dans l'étude des systèmes complexes. Il y a principalement (à ma connaissance) deux exemples notoires de ce mariage entre la physique et les neurosciences. D'une part l'approche entre la mécanique statistique et les réseaux de neurones stochastiques formels, qui a permis d'étudier les propriétés mathématiques et computationnelles de diverses architectures neuronales (Amit et al., 1985; Kappen, 1999) ; l'exemple le plus connu de cette approche est celui des réseaux de Hopfield (Hopfield, 1982) qui ont été analysés par Amit, Gutfreund et Sompolinsky avec la théorie de verres de spin (Amit et al., 1985). D'autre part, l'approche synergetique, introduite par Haken qui permet de décrire d'une manière plus générale la dynamique des systèmes complexes avec des propriétés émergentes (Haken, 1996); cette deuxième approche permet d'étudier l'activité globale du cerveau par un nombre réduit de paramètres d'ordre obtenus à partir des signaux neurologiques classiques (EEG, MEG) (Uhl et al., 1998).

Cependant, il faut garder en tête que ces approches sont basées sur des hypothèses parfois très contraignantes, telles que l'homogénéité spatiale du substrat neuronal dans le cas des modèles de réseaux de neurones formels et verres de spin (i.e. éléments indiscernables, homogénéité des interactions et de l'architecture du réseau) et de l'homogénéité du champ appliqué (des entrées). On reviendra plus tard sur ces hypothèses et leur relation avec la réalité physiologique du cortex auditif à un niveau mésoscopique.

6.2 Techniques d'analyse des données d'activité neuronale spatio-temporelle

Parmi les outils plus connus pour l'analyse des données multi-sites d'activité neuronale (N.B., au niveau microscopique : trains de PA) on peut mentionner l'histogramme post-stimulus conjoint (*Joint Post-Stimuli Histogram- JPSTH*) (Palm et al., 1988; Vaadia et al., 1995), et la méthode « gravitationnelle » (Gerstein & Aertsen, 1985), en plus de la méthode plus traditionnelle d'analyse des corrélations par paires des sources d'activité. Le JPSTH permet d'étudier les corrélations temporelles de deux sources d'activité neuronale (trains de PA) par rapport à un stimulus ou à un événement comportemental ; cette méthode permet donc d'analyser la dynamique de la structure des corrélations, ou « connectivité effective », d'un réseau de neurones (Aertsen et al., 1989). Cependant, cette « connectivité effective » estimée est limitée aux corrélations entre paires de neurones, ce qui n'est pas une estimation réaliste de la connectivité des réseaux de neurones corticaux *in vivo*.

Un autre paradigme de modélisation des interactions qui a été proposé pour analyser l'activité neuronale multi-sites est celui de l'interaction gravitationnelle ou électrique entre plusieurs

particules (Gerstein & Aertsen, 1985). Cette technique permet une visualisation des interactions entre deux ou plusieurs neurones de manière dynamique (aucun besoin de décomposer l'ensemble de neurones en paires ou triplets). Chaque neurone est modélisé par une particule caractérisée par un poids ou une charge électrique, qui est fonction de la fréquence de génération des PA du neurone. Les interactions sont alors modélisées de manière très naturelle par des forces électriques d'attraction ou de répulsion entre les particules, ce qui permet une visualisation des distances (différences de fréquence des PA) entre particules et de découvrir les interactions entre neurones (diminution des distances entre les particules). Cette technique est très utile quand on veut étudier des signaux d'activité neuronale enregistrés dans un nombre relativement restreint de sites de mesure (de l'ordre de 10) ; mais au fur et à mesure qu'on augmente le nombre de neurones, l'interprétation des résultats devient très difficile. De plus, cette technique est fondée sur une hypothèse de codification de l'information neuronale dans la fréquence de génération de PA (les « charges » qui caractérisent chaque neurone sont calculées en utilisant des fenêtres temporelles), ceci empêche une analyse plus fine des temps précis d'occurrence et des coïncidences des PA.

Abeles a proposé un modèle de réseaux de neurones corticaux, le « synfire chain » ou chaîne synchrone de génération de PA, qui est fondé sur un paradigme de codification neuronale temporel au lieu de celui plus classique de codification dans la fréquence de génération des PA (Abeles et al., 1993a). Selon ce modèle, la transmission d'information d'un groupe de neurones au suivant dans une chaîne de propagation d'information se fait de manière synchrone ; le recrutement des ensembles de neurones presynaptiques générant des PA en coïncidence, permet d'activer d'autres neurones postsynaptiques sensibles à cette coïncidence. Un « synfire chain » est constitué de plusieurs couches de neurones connectés principalement dans une direction (la direction de transmission de l'information) par des connexions divergentes à la sortie d'une couche et convergentes aux entrées de la couche suivante ; en plus il existe des connexions de réalimentation entre différentes couches qui permettent l'apparition des oscillations ou « réverbérations » et donc des relations temporelles précises entre l'activité des différents neurones dans le circuit.

Ce modèle a été largement utilisé dans l'analyse des signaux provenant des enregistrements multicanaux de l'activité du cortex *in vivo*, partant de l'hypothèse que le mécanisme sous-jacent de l'activité des groupes de neurones observés est celui des « synfire chains ». Pour ce faire, des algorithmes de détection des formes ont été conçus afin de détecter des relations temporelles répétitives entre les trains de PA générés par plusieurs neurones (Abeles & Gat, 2001 ; Abeles & Gerstein, 1988; Tetko & Villa, 1997); ces algorithmes permettent de détecter et de faire des statistiques sur les paires, triplets, etc. des PA qui ont des relations temporelles reproductibles, sans se restreindre aux coïncidences parfaites. Cependant, l'utilité de ce type d'analyse reste assez limitée quand le nombre de sites d'enregistrement devient important, à cause de la complexité combinatoire du problème.

D'autres algorithmes plus complexes d'un point de vue théorique, mais plus performants d'un point de vue pratique, ont été proposés récemment afin de détecter la structure temporelle des activités d'un grand nombre de neurones ; en particulier des techniques de modélisation probabiliste telles que les chaînes de Markov cachées ou les machines de Helmholtz (Abeles et al., 1995; de Sa et al., 1998; Gat et al., 1997). Ces algorithmes permettent d'estimer la structure

d'un processus stochastique modélisant l'activité neuronale multi-sites, à partir d'un ensemble de trains de PA, permettant ainsi d'étudier l'activité d'un grand nombre de neurones et de détecter des corrélations d'ordre élevé sans se restreindre aux paires ou triplets. Cependant, ces algorithmes ne tiennent pas compte du caractère spatio-temporel de l'activité neuronale ni de la géométrie de l'espace de détection (e.g., aucune notion de distance physique entre les neurones, ou de voisinage, n'est prise en compte).

Nous avons privilégié l'approche des modèles plus proches de la réalité physique du cortex et de la géométrie des instruments, notre but étant de détecter des activités coopératives dans le cortex auditif en utilisant des détecteurs organisés sur une structure de réseau bidimensionnelle. Par la suite nous ferons une synthèse des quelques modèles stochastiques de l'activité neuronale, et on discutera des modèles probabilistes définis sur une structure de réseau bidimensionnelle, en particulier le modèle de diffusion linéaire (LDM) que nous avons utilisé pour analyser les signaux d'activité électrique spatio-temporelle du cortex auditif.

6.3 Modèles spatio-temporels et analyse de l'activité neuronale multi-sites

L'activité des circuits neuronaux dépend d'un grand nombre de paramètres : la connectivité des réseaux, les différents types de neurones, de synapses, de neurotransmetteurs, des canaux ioniques présents dans chaque cellule, l'intensité des stimuli, etc. ; cette diversité des paramètres est à l'origine des phénomènes neuronaux très complexes et méconnus qui peuvent avoir un rôle fonctionnel important. Ces phénomènes peuvent être étudiés en détail au niveau d'une cellule ou de réseaux relativement simples, en utilisant des modèles réalistes et des techniques numériques de simulation (Hines & Carnevale, 2001). Ceci permet d'aborder de manière théorique les propriétés et le comportement des neurones isolés ou des circuits neuronaux relativement simples et de faire un lien entre l'expérience et la théorie. Cependant, l'énorme complexité du tissu neuronal rend impossible l'utilisation de cette approche pour caractériser l'activité des réseaux de neurones d'une taille importante, et pour analyser ses propriétés et ses comportements spatio-temporels. D'autres techniques, basées sur une description plus générale du fonctionnement neuronal, ont donc été développées, ceci de manière à synthétiser la fonctionnalité des réseaux sur des modèles plus simples qui puissent être utilisés dans l'analyse des circuits neuronaux de taille considérable. Parmi ces modèles, les modèles stochastiques sont très répandus.

Nous allons présenter dans cette section quelques modèles stochastiques couramment utilisés pour décrire le fonctionnement des réseaux de neurones. On commencera avec le modèle le plus simple, le modèle d'Ising, et on finira avec le modèle qui a été utilisé dans cette étude, le modèle de diffusion. Dans la section suivante (6.4) on décrira la manière dont ce modèle a été utilisé pour analyser nos données.

6.3.1 Modèles stochastiques et activité neuronale

Etant donné la forme stéréotypée du PA et le caractère aléatoire de son occurrence, on peut résumer l'activation d'un neurone avec une variable aléatoire binaire (occurrence ou non du PA); l'analyse des réseaux de neurones est donc généralement limitée à l'étude de la probabilité d'occurrence des PA. Dans le cas du neurone isolé, beaucoup de ses fonctionnalités peuvent être décrites et analysées par l'étude de la probabilité conjointe de génération des PA et des entrées (Rieke, 1997). De la même manière, l'approche la plus courante dans l'étude des réseaux de neurones est de décrire les neurones par des variables aléatoires binaires, et de modéliser les réseaux par des processus stochastiques sur ces variables; il est donc possible d'analyser l'activité des réseaux de neurones en utilisant les techniques statistiques issues de ces modèles (Kappen, 1999).

6.3.1.1 Modèle d'Ising et mesure de Gibbs

Ce modèle, proposé par Ernst Ising (à partir des idées de Heinrich Friedrich Emil Lenz) pour décrire et analyser les mécanismes qui sous-tendent les phénomènes ferromagnétiques, (Ising, 1925) a été repris dans plusieurs domaines (biologie, sociologie, neurosciences, etc.) pour expliquer l'occurrence de certains phénomènes à une échelle macroscopique, à partir d'une description très simple des mécanismes à une échelle microscopique. Il existe une organisation géométrique du système dans \mathbf{Z}^d de manière à ce que la valeur de chaque $s(\mathbf{i})$ représente une quantité physique mesurable dans le point \mathbf{i} de l'espace, telle que la présence (ou non) d'un élément dans le point \mathbf{i} , ou une propriété physique d'un élément toujours présent dans ce point (e.g. orientation). Dans une application réelle, le système est supposé fini et constitué par N éléments (particules, animaux, personnes, ordinateurs, neurones, etc) ($\mathbf{i} \in A_N \subset \mathbf{Z}^d$); il est décrit par un vecteur d'état $\mathbf{s} = \{s(n)\}$ ($n = 1, \dots, N$) dont chaque élément ($s(n)$) prend une des deux valeurs possibles. Chaque valeur possible du vecteur d'état ($s = s_m$; dont $m = 1, \dots, 2^N$) est une « configuration » possible du système dans A_N . La dynamique d'un tel système est décrite par un hamiltonien $H(\mathbf{s})$ qui dépend de la configuration du système et qui est constitué de deux composantes, une première composante (E_J) qui dépend des interactions entre les sites, mesurée par exemple par la covariance spatiale du vecteur d'état ($cov(\mathbf{s})$) et une deuxième composante (E_h) qui dépend d'une source externe au système.

$$H(\mathbf{s}) = E_J(cov(\mathbf{s})) + E_h(\mathbf{s})$$

Le modèle d'Ising suppose que E_J ne dépend que des sites (plus) proches voisins ($\mathbf{i}, \mathbf{j} \in A_N$; $\mathbf{i} \neq \mathbf{j}$; $\|\mathbf{i} - \mathbf{j}\| = l$).

Selon la théorie de la mécanique statistique les propriétés macroscopiques d'un tel système, en équilibre thermodynamique, sont décrites par une mesure de probabilité ($\mu(\mathbf{s})$) sur l'espace de configurations des états microscopiques (e.g., $\mathbf{s} \in \{-1, +1\}^{A_N}$). Le choix de la mesure de probabilité est donné par le principe de maximisation de l'entropie, énoncé par W. G. Gibbs

(1875-78), qui affirme que l'entropie d'un système augmente jusqu'à atteindre un maximum qui dépend des contraintes physiques sur le système (e.g., conservation de l'énergie, conditions expérimentales, etc.). Certaines de ces contraintes sont connues et d'autres sont inconnues ; une manière de voir cette mesure de probabilité est donc comme une mesure du degré d'ignorance que l'on a sur les microétats du système ($s_m(\mathbf{i})$; $\mathbf{i} \in \mathcal{A}_N$) qui produisent le macroétat (configuration) observé (s_m). Cela est la manière d'interpréter la mesure de probabilité lorsqu'on observe un seul événement qui ne peut pas être reproduit (Jaynes, 1985 ; Jaynes, 1988), ce qui est le cas dans les neurosciences où chaque enregistrement est unique et non reproductible. Cependant, si l'on suppose, comme il est fait d'habitude (mais faussement...), qu'une expérience de ce type peut être reproduite sous les mêmes conditions expérimentales, que la dynamique du système est stochastique et que le système est ergodique (qui converge vers une seule mesure stationnaire), la mesure de probabilité représente l'état « aléatoire » vers lequel le processus stochastique converge. En ce cas, il est possible de calculer des statistiques sur le processus stochastique, en espérant que ces statistiques pourront caractériser les événements observés pendant des expériences et prédire les résultats des expériences postérieures.

A partir de la définition d'entropie énoncée par Boltzmann ($S = k \log W$, dont S est l'entropie et $W(E) = \int w(E) dE$ est le nombre d'états (configurations) du système dans l'intervalle d'énergie $[E+dE]$ ($w(E)$ étant la densité d'états par rapport à E)), on peut montrer que la mesure de probabilité pour que le système soit dans la configuration s_m est donnée par la mesure de Gibbs :

$$\mu(s_m) = \frac{1}{Z} \exp(-\beta_T H(s_m)), \quad \text{avec } \beta_T = 1/kT \text{ (} k = \text{Kte de Boltzmann, } T = \text{Température)}$$

dont la constante Z est une constante de normalisation, de manière à ce que $\sum_m \mu(s_m) = 1$:

$$Z = \sum_m \exp(-\beta_T H(s_m)) = 1$$

Cette mesure de probabilité décrit la distribution des configurations quand le modèle est en équilibre (n.b., pour une synthèse historique et une discussion sur le principe de maximisation d'entropie voir : (Jaynes, 1985 ; Jaynes, 1988)).

En particulier, dans le cas du ferromagnétisme, le système est décrit par les spins des atomes du métal en question ; pour $d=2$ les atomes sont organisés sur un maillage bidimensionnel uniforme où chaque spin s_i ($\mathbf{i} \in \{1, \dots, M\} \times \{1, \dots, M\}$, où $M^2 = N$ est le nombre d'atomes, localisés aux intersections du maillage) prend une des deux valeurs possibles selon son orientation ($s_i = \pm 1$). Chaque spin a des interactions avec ses plus proches voisins et le système subit un champ magnétique extérieur qui force les spins à s'aligner dans une des deux orientations. En ce cas, les termes E_J et E_h peuvent s'écrire de la manière suivante :

$$E_J = - \sum_{\mathbf{i} \neq \mathbf{j}, \|\mathbf{i}-\mathbf{j}\|=1} J_{ij} s_i s_j, \quad E_h = - \sum_{\mathbf{i}} h_i s_i$$

où $J_{i,j}$ représente la magnitude de l'interaction entre deux particules situées dans les sites et h_i représente la magnitude du champ magnétique extérieur subi par la particule située dans le site i .

Ce modèle peut aussi être utilisé pour décrire le comportement des réseaux de neurones formels, pour lesquels à chaque intersection du maillage une variable d'état s_i signale la présence ($s_i = 1$) ou l'absence ($s_i = 0$) d'un PA, ou d'un système quelconque dans lequel l'état de chaque site peut être décrit par une variable binaire.

6.3.1.2 Modèles de réseaux de neurones stochastiques

6.3.1.2.1 Modèle de Little

C'est à partir des travaux de Little que l'analyse de l'activité des réseaux de neurones avec des outils issus de la théorie de processus stochastiques a commencé (Little, 1974). Little a proposé le paradigme de la mécanique statistique pour expliquer l'activité d'un réseau de neurones. Il a montré, en particulier, la relation existant entre le modèle d'Ising, qu'on utilise pour décrire les changements de phase dans des systèmes physiques relativement simples, et l'activité spatio-temporelle de certains réseaux de neurones formels. En particulier, il a décrit la manière selon laquelle le phénomène de persistance des mémoires peut avoir lieu dans ces systèmes.

Le modèle de Little peut être décrit par un processus de Markov multidimensionnel, homogène, de premier ordre, défini sur une grille des n sites d'activité (neurones) (Kappen, 1999), où normalement on suppose que chaque site peut prendre deux valeurs, soit 1 si le neurone génère un PA dans l'intervalle $[t, t+\tau[$ ou -1 en cas contraire. Cependant, il est plus naturel d'utiliser la valeur 0 s'il n'y a pas de PA (N.B., les équations ci-dessous correspondent à ce choix). Le vecteur d'état du réseau, $\mathbf{s} = \{s_n\}$ ($n=1, \dots, N$; $N =$ nombre de sites; $s_n \in \{0, 1\}$) peut donc prendre 2^N valeurs binaires $\mathbf{s} \in \{s_r\}$ ($r=1, \dots, 2^N$). Il est modifié selon une probabilité de transition d'état $T(\mathbf{s}', t+\tau | \mathbf{s}, t)$; la probabilité de transition de l'état $\mathbf{s} = \boldsymbol{\sigma}$ au temps t , à l'état $\mathbf{s} = \boldsymbol{\zeta}$ au temps $(t+\tau)$, est donnée par :

$$T(\mathbf{s}=\boldsymbol{\zeta}, t+\tau | \mathbf{s}=\boldsymbol{\sigma}, t) = \prod_{n=1}^N p(s_n = \zeta_n, t+\tau | \mathbf{s}=\boldsymbol{\sigma}, t),$$

dont la probabilité conditionnelle que le site $i \in \{1, \dots, N\}$ change d'état, étant donné que l'état du réseau au temps t est $\boldsymbol{\sigma}$, est donnée par:

$$p(s_i = \zeta_i, t+\tau | \mathbf{s}=\boldsymbol{\sigma}, t) = \frac{1}{2}(1 + \beta \tau \tanh(h_i(\boldsymbol{\sigma})\zeta_i)),$$

où $\beta_T = kT$, (k est la constante de Boltzmann et T la température) et $h_i(\mathbf{s}) = \sum_{n \neq i} w_{in}s_n + \theta_i$

Les « poids » w_{in} représentent l'amplitude moyenne du potentiel postsynaptique déclenché par un PA arrivant au neurone i et provenant du neurone j ; θ_i représente le seuil de déclenchement des PA dans le neurone i , il est fonction des poids; w_{in} et θ_i sont normalisés par rapport à la taille du réseau, le taux moyen de génération de PA et le bruit moyen dans les synapses (Kappen, 1999).

La probabilité qu'un site (neurone) change d'état dépend uniquement de l'état du réseau au temps t , et la transition d'état est évaluée de manière synchrone à chaque intervalle de temps de durée τ . La probabilité que le réseau se trouve dans l'état $\mathbf{s}=\zeta$ au temps $t+\tau$ est donnée par :

$$p(\mathbf{s}=\zeta, t+\tau) = \sum_{r=1}^{2^n} T(\mathbf{s}=\zeta, t+\tau | \mathbf{s}=\mathbf{s}_r, t) p(\mathbf{s}=\mathbf{s}_r, t)$$

Quand la matrice de connectivité synaptique est symétrique, ce modèle est similaire au modèle 2D d'Ising. Cependant, le modèle de Little est un modèle de dynamique parallèle, c'est-à-dire que l'état de tous les sites (neurones) du système sont actualisés de manière synchrone, et il converge vers un état d'équilibre unique caractérisé par une mesure de probabilité différente de la mesure de Gibbs (Kappen, 1999). Cette dynamique parallèle est incompatible avec la réalité physique des réseaux de neurones biologiques, elle demanderait l'existence d'une horloge interne pour synchroniser tous les neurones et l'existence d'une connectivité parfaitement symétrique.

6.3.1.2.2 Modèles de dynamique séquentielle

Une alternative à la dynamique parallèle est donc l'actualisation aléatoire séquentielle, connue aussi comme dynamique de Glauber. Dans ce cas, l'état d'un seul neurone, choisi au hasard, est actualisé à chaque instant $t = t_0 + k\Delta t$. Supposons donc $\phi_i: \{\mathbf{s}_r\} \rightarrow \{\mathbf{s}_r\}$ ($r=1, \dots, 2^N$) une fonction de changement d'état telle que pour $\zeta = \phi_i(\sigma)$, l'élément i du vecteur d'état, et uniquement cet élément, change de valeur : $\zeta_i = 1 - \sigma_i$ et $\zeta_n = \sigma_n$ pour $i \neq n$. La probabilité de transition d'un état $\mathbf{s} = \sigma$ au temps t , à l'état $\mathbf{s} = \zeta$ au temps $(t+\tau)$, pour $\zeta = \phi_i(\sigma)$, s'écrit :

$$T(\mathbf{s}=\zeta, t+\tau | \mathbf{s}=\sigma, t) = \frac{1}{N} p(s_i = \zeta_i, t+\tau | \mathbf{s}=\sigma, t) = \frac{1}{2N} (1 + \beta \tanh(h_i(\sigma)\zeta_i))$$

la probabilité de rester dans le même état est :

$$T(\mathbf{s}=\sigma, t+\tau | \mathbf{s}=\sigma, t) = 1 - \frac{1}{N} \sum_{n=1}^N p(s_n = \zeta_n, t+\tau | \mathbf{s}=\sigma, t)$$

et la probabilité de transition de σ à un état autre que ζ ou σ est nulle.

Ce type de dynamique est plus proche de la réalité physiologique puisque de manière générale les neurones corticaux changent d'état de manière complètement aléatoire et pratiquement indépendamment les uns des autres ; les connexions entre les neurones corticaux se caractérisent par des retards aléatoires, la transmission synaptique est très variable (Tsodyks & Markram, 1997), tout comme les seuils de déclenchement de PA.

Quand la matrice de connectivité synaptique du réseau est symétrique, l'analogie avec le modèle d'Ising est immédiate, et le processus d'actualisation converge vers un état de Gibbs avec un hamiltonien donné par :

$$H(\mathbf{s}) = -\frac{I}{2} \left(\sum_{i=1}^N \sum_{j \neq i} w_{ij} s_j + \theta_i s_i \right)$$

6.3.1.2.3 Modèles stochastiques du néocortex

Les modèles de réseaux de neurones décrits précédemment peuvent être décrits et étudiés avec une relative simplicité avec des outils issus de la théorie de la mécanique statistique. Cependant, ces modèles formels sont assez éloignés de la réalité physiologique ; ni les architectures neuronales décrites ne sont représentatives du tissu cortical, ni la composition et les phénomènes synaptiques dans le tissu neuronal ne sont homogènes comme ces modèles le supposent d'habitude. En outre, l'hypothèse de stationnarité est nécessaire pour réaliser les calculs, ce qui implique que les statistiques des trains de PA doivent être constantes sur de longs intervalles du temps de l'ordre de quelques minutes. Ceci présuppose que l'information neuronale est codée dans les taux de génération de PA des neurones, ce qui contredit les théories plus récentes sur la 'codification temporelle' de l'information et les réalités physiques du traitement du signal dans le système auditif.

En effet, il existe actuellement un débat dans la communauté des neurosciences entre ceux qui soutiennent l'idée selon laquelle l'information neuronale est codée principalement dans les taux des PA générés dans chaque neurone et dans la structure de ces taux dans des ensembles neuronaux (e.g., Shadlen & Newsome (1998)), pour qui l'instant précis d'occurrence de chaque PA n'est pas très important ; et ceux qui soutiennent l'hypothèse d'un code 'temporel' où l'instant d'occurrence de chaque PA et les intervalles inter-PA sont importants. Pour les seconds, les coïncidences dans la génération des PA à travers le réseau, et les oscillations de ces événements de synchronie, sont porteuses de l'information neuronale (e.g, (Buzsáki et al., 1994 ; Singer, 1999)). Même s'il n'existe pas une preuve expérimentale de la validité de la théorie du code 'synchrone', des oscillations concomitantes avec des événements comportementaux ou en réponse aux stimuli ont très souvent été observées (Eckhorn et al., 1988; Gray & Singer, 1989; Herculano-Houzel et al., 1999) (voir chapitre 3).

D'autres modèles de réseaux de neurones binaires stochastiques plus réalistes ont été proposés plus récemment ; ces modèles permettent d'étudier d'un point de vue théorique certaines propriétés dynamiques et fonctionnelles des réseaux de neurones biologiquement plausibles et en particulier du tissu néocortical. Parmi ces modèles on trouve notamment celui proposé par M. Abeles et connu sous le nom de « synfire chains » (Abeles, 1991; Abeles et al., 1994), dans lequel chaque neurone fonctionne sur le principe de coïncidence des entrées et qui a été largement étudié (Bienenstock, 1995; Diesmann et al., 1999 ; Hermann et al., 1995). D'autres modèles qui incluent des phénomènes plus complexes, tels que les potentiels synaptiques dus aux récepteurs NMDA ou GABA (A et B) (Abbott, 1991), ont aussi été proposés.

Cependant, ces modèles sont assez rigides et restent assez simples par rapport à la complexité du tissu cortical. En outre, l'accent de l'analyse avec ce type de modèles de réseaux de neurones est mis d'habitude sur l'analyse des propriétés d'une architecture spécifique du réseau, telles que la stabilité des mémoires stockées, la capacité de stockage, l'apprentissage, etc. L'étude de ces caractéristiques, bien que très importante pour l'analyse théorique des circuits neuronaux, est secondaire quand on s'intéresse à l'analyse des signaux d'activité neuronale *in vivo* qui n'ont pas nécessairement une architecture si rigide ni des mécanismes si simples.

Nous voulons plutôt obtenir des caractéristiques plus générales, indépendantes d'un modèle spécifique, compatibles avec les échelles temporelle et spatiale de l'activité corticale, et susceptibles d'une interprétation physiologique.

6.3.2 *Champs aléatoires, champs aléatoires de Markov et Analyse de l'activité neuronale*

Une méthode d'analyse spécialement adaptée à la caractérisation des signaux d'activité neuronale spatio-temporelle, basée sur la théorie des champs aléatoires et la mécanique statistique, a été proposée dans : (Hervé, 1987). Selon cette approche, les activités observées à la sortie d'un système des sites en interaction tel qu'un réseau de neurones (trains de PA générés par les cellules du réseau) et à son entrée (trains de PA arrivant aux synapses) peuvent être modélisées par des champs aléatoires.

Un système des sites en interaction est représenté dans cette approche par un ensemble mesurable $\{\mathcal{S}_A, \mathcal{T}_A\}$ défini sur un ensemble (un réseau) fini de sites $A \subset \mathbf{Z}^d$, correspondant aux sites d'enregistrement (chaque détecteur est supposé enregistrer l'activité d'un seul neurone, ou l'activité moyenne d'un groupe de neurones) ; où $\mathcal{S}_A = (\mathcal{S}_\theta)^A$ est l'espace d'état, ou des configurations, et \mathcal{S}_θ est l'ensemble des valeurs possibles de l'activité d'un site ; il est muni d'une tribu (σ -algèbre) \mathcal{T}_A d'événements. Finalement, sous certaines conditions (voir Bovier (2001), Preston (1976)), il existe une mesure de probabilité μ_A qui servira à caractériser les états de ce système.

Un ensemble Ψ_A d'interactions ($\Psi_A = \{\psi_{A'}\}_{A' \subset A}$) est censé représenter les corrélations spatiales dans l'activité des sites en A . Le champ aléatoire est donc caractérisé par des distributions de probabilité définies sur l'espace \mathcal{S}_A qui dépendent de Ψ_A . Le plus souvent, le champ aléatoire

d'entrée au réseau est supposé trivial, c'est-à-dire, que l'activité dans chaque site est a priori aléatoire et indépendante de l'activité dans les autres sites, il n'y a pas d'interactions autres que celles introduites par le réseau. On suppose donc que les corrélations dans le champ aléatoire de sortie sont introduites par le réseau étudié.

Cette représentation de l'activité neuronale permet l'utilisation d'outils issus de la théorie de champs aléatoires et la mécanique statistique pour caractériser les signaux multi-sites. Selon la théorie de la mécanique statistique, à chaque configuration $s_A \in \mathcal{S}_A$, et pour chaque condition externe σ_{A_c} (i.e. configuration de la région $A_c = (\mathbf{Z}^d - A)$, zone extérieure à la zone observée), correspond un poids de Boltzmann-Gibbs donné par :

$$p(s_A | \sigma_{A_c}) = \frac{\exp(-\beta_T H_A(\Psi_A(s_A, \sigma_{A_c})))}{Z_A},$$

Ce poids est défini comme la probabilité d'une configuration s_A dans la région décrite par A , étant donnée une configuration fixe σ_{A_c} à l'extérieur de cette région, où $H_A(\Psi_A(s_A, \sigma_{A_c}))$ est un hamiltonien défini sur A mais dépendant aussi de la configuration extérieure à A , β_T est « l'inverse de la température » ($\beta_T = 1/kT$, $k =$ constante de Boltzmann), et Z_A est une constante de normalisation ($\sum_{s_A} p(s_A | \sigma_{A_c}) = 1$) appelée aussi « fonction de partition » et donnée par :

$$Z_A = \sum_{s_A} \exp(-\beta_T H_A(\Psi_A(s_A, \sigma_{A_c})))$$

Les poids $p(s_A | \sigma_{A_c})$ décrivent l'équilibre thermodynamique pour une région A et pour des conditions externes données, et servent à définir des mesures de probabilité pour toute configuration externe fixe σ_{A_c} :

$$\mu_{\beta}^{\sigma}(ds_A) = p(s_A | \sigma_{A_c}) \lambda_A(ds_A) \quad (\text{où } \lambda_A(ds_A) \text{ est la mesure uniforme sur l'espace } \mathcal{S}_A.)$$

Dans le cas où A tend vers \mathbf{Z}^d , l'état stationnaire du réseau est caractérisé par une mesure de probabilité $\mu_{\beta}(ds)$, pour $s \in \mathcal{S}$ ($\mathcal{S} = \mathcal{S}_0^{\mathbf{Z}^d}$). Cette mesure est dite de Gibbs si ses distributions conditionnelles dans la région A , étant donnée une configuration σ_{A_c} dans le reste de l'espace (i.e. $\mu_{\beta}(s_A | \sigma_{A_c}) = \mu_{\beta}(\{s_{ij}\}_{i \in A} = s_A | \{s_{ij}\}_{i \notin A} = \sigma_{A_c}; s = \{s_{ij}\}_{i \in \mathbf{Z}^d})$), coïncident avec les mesures de probabilité définies par les poids de Boltzmann-Gibbs pour la région finie ($\mu_{\beta}^{\sigma}(ds_A)$), appelés aussi spécifications locales. Plus précisément, si les probabilités conditionnelles vérifient la propriété de *quasi-localité* (i.e. l'interaction entre sites diminue avec la distance) et sont strictement positives pour toute configuration externe et interne, le système observé est presque markovien et l'état stationnaire de l'activité du réseau converge vers une mesure gibbsienne (Fernández, 1999). Etant donné que dans la plupart des cas pratiques et des systèmes physiques les interactions diminuent rapidement avec la distance, la propriété de quasi-localité est rarement mise en cause ; on suppose donc très souvent que les champs aléatoires représentant l'état stationnaire du système sont markoviens ou quasi-markoviens et que l'état stationnaire est un état de Gibbs.

Dans certains cas (e.g., quand $S_0 = \{0,1\}$ et quand il existe une identification entre S_A et l'ensemble de sous-ensembles de A), les hamiltoniens H_A peuvent s'écrire comme la somme des potentiels d'interaction locaux :

$$H_A(\mathbf{s}_A|\boldsymbol{\sigma}_{A^c}) = - \sum_{A \cap A \neq \emptyset} \psi_A(\mathbf{s}_A\boldsymbol{\sigma}_{A^c}), \quad \text{où } \sup_{x \in \mathbb{Z}^d} \sum_{A \ni x} \|\psi_A\|_\infty < \infty$$

Le hamiltonien ainsi défini est une fonction quasi-locale (Bovier, 2001), et par conséquent une mesure μ_β compatible avec les spécifications locales construites avec ces hamiltoniens est une mesure de Gibbs. Ainsi, si l'activité d'un réseau neuronal est décrite par un champ aléatoire, et si le hamiltonien peut s'exprimer par la somme des potentiels d'interaction locaux, alors l'activité du réseau est caractérisée par une mesure de Gibbs. Ceci permet, en principe, de caractériser l'activité coopérative du réseau si l'on connaît la mesure de Gibbs ou les spécifications locales compatibles avec μ_β .

En pratique, la représentation de l'activité d'un site est souvent restreinte à deux états (e.g., $S_0 = \{0,1\} = \{\text{inactif}, \text{actif}\}$) et les dépendances spatiales sont restreintes aux sites voisins les plus proches (i.e. le champ aléatoire est markovien). On peut montrer qu'un champ aléatoire de Markov (CHAM) est équivalent à un état de Gibbs pour un potentiel qui dépend uniquement des sites plus proches voisins (Preston, 1974); et les potentiels d'interaction locaux peuvent être obtenus aisément en utilisant la formule d'inversion de Möbius (Preston, 1974; Preston, 1976) à partir des hamiltoniens ou des spécifications locales :

$$\text{Si : } U_\beta(\mathbf{s}_A\boldsymbol{\sigma}_{A^c}) = \sum_{A \subset B} \psi_{\beta,A}(\mathbf{s}_A\boldsymbol{\sigma}_{A^c}) \Rightarrow \psi_{\beta,A}(\mathbf{s}_A) = \sum_{B \subset A} (-1)^{|A-B|} U_{\beta,A}(\mathbf{s}_B\boldsymbol{\sigma}_{B^c})$$

(où $U_\beta(\mathbf{s}) = -\beta_T H(\mathbf{s})$)

De cette manière, l'activité du réseau, en réponse à un autre champ aléatoire d'entrée qui représente le stimulus, peut être caractérisée par les potentiels locaux ou par des variables qui déterminent ces potentiels. La manière la plus simple de le faire consiste à estimer les probabilités conditionnelles par la fréquence empirique de réalisation de chaque configuration locale lors d'une série d'épreuves, et d'utiliser ensuite la formule $U_\beta(\mathbf{s}_A\boldsymbol{\sigma}_{A^c}) = \log(\mu_\beta(\mathbf{s}_A|\boldsymbol{\sigma}_{A^c})) - \log(\mu_\beta(\emptyset))$, afin d'obtenir les $U_{\beta,A}$ avant de réaliser l'inversion.

Cette méthode a été initialement proposée pour analyser l'activité des réseaux de neurones artificiels et le traitement de l'information effectué dans ces structures. (Hervé, 1987; Hervé et al., 1990a) Elle a été appliquée dans deux études différentes : dans l'analyse des trains de potentiels d'action issus des simulations d'une structure quelconque du système auditif périphérique (Hervé et al., 1990b), et plus récemment dans l'analyse des signaux multi-sites de fluorescence potentiel-dépendante représentant l'activité du cortex piriforme en réponse à une stimulation électrique (Litaudon et al., 1997).

Dans le premier cas (analyse de trains de PA), l'application de la méthode est directe : l'activité efférente (et/ou afférente) observée dans les axones qui sortent de (et/ou qui arrivent vers) un réseau de neurones est représentée par un processus ponctuel multidimensionnel $\{\mathbf{M}_k(\mathbf{i})\}_{k \in \mathbb{N}}$ (où

$M_k(\mathbf{i}) = 1$ s'il y existe un PA dans le site indexé par \mathbf{i} , dans l'intervalle $]k\Delta t, (k+1)\Delta t]$, 0 en cas contraire ; avec $\mathbf{i} \in \mathbf{Z}^d$ et $d \leq 3$). Etant donné que l'activité des neurones *in vivo* est par nature stochastique, et que la génération des PA est une fonction probabiliste de l'activité postsynaptique (les entrées), l'activité axonale de chaque neurone peut être représentée par une variable aléatoire binaire, et l'activité du réseau peut être effectivement représentée par un champ aléatoire. Si l'on suppose que la distribution spatio-temporelle des trains de PA à la sortie du réseau dépend de la distribution aux entrées et de l'activité coopérative entre les neurones qui forment le réseau, et si l'on suppose que le champ aléatoire qui représente l'entrée est un champ aléatoire trivial (i.e. pas d'interactions), les interactions seront introduites uniquement par le réseau, et elles pourront être caractérisées par la méthode décrite ci-dessus.

Cependant, tandis que l'utilisation de cette méthode dans l'analyse des trains de PA's produits par un modèle d'un réseau de neurones est aisément justifiée et que les résultats ont une interprétation directe en termes des paramètres de ce modèle, l'analyse des signaux d'activité réelle du cortex observée aux échelles mésoscopiques (signaux de fluorescence, LFP, etc.) n'est pas aussi directe, et l'interprétation des résultats n'est pas facile. En ce cas les signaux d'activité neuronale prennent des valeurs réelles et l'analyse dépend d'un traitement préalable du signal qui binarise ces données. Néanmoins, ce prétraitement n'est pas unique, il n'existe pas une manière unique de faire ce prétraitement et de définir une notion d'activité neuronale qui prend uniquement deux valeurs. Par ailleurs, l'interprétation des résultats obtenus avec cette technique par rapport au processus physiologique observé à cette échelle n'est pas aisée. On reviendra plus tard sur ce problème dans le cadre de l'analyse des signaux de fluorescence par la méthode de diffusion.

Une approche similaire a été proposée par Makarenko, Welsh, Lang et Llinas, ayant pour objectif l'analyse des trains des PA obtenus lors des enregistrements multi-sites de l'activité des cellules de Purkinje dans le cervelet du rat en utilisant un ensemble de microélectrodes disposées en forme matricielle (2D) (Makarenko et al., 1997). Makarenko et al. ont restreint l'analyse à l'étude de l'évolution temporelle des paramètres caractérisant un champ aléatoire markovien invariant par translation qui est censé représenter l'activité spatio-temporelle observée dans l'ensemble de microélectrodes. Dans ce modèle, l'activité du réseau est caractérisée uniquement par deux paramètres (α et β), représentant l'intensité du champ incident et celle des interactions, respectivement. Ces paramètres sont estimés pour l'ensemble des sites enregistrés pour des intervalles Δt de quelques dizaines de millisecondes pendant lesquels l'état du réseau observé est supposé stationnaire (une réalisation du champ aléatoire au temps $t1$ est complètement indépendant d'une réalisation au temps $t2$ (où $t2 = t1 + \Delta T$)). Le modèle de Makarenko et al. est homogène dans l'espace, l'état de chaque site est restreint à deux valeurs, et les interactions d'un site avec les autres sont restreintes aux 4 sites voisins les plus proches, ce qui veut dire que leur modèle est identique au modèle d'Ising.

Le modèle d'Ising a été proposé initialement pour étudier les phénomènes magnétiques (voir 6.3.1.1) ; c'est un modèle à deux paramètres α et β , appelés potentiels de singletons et de paires respectivement. Le modèle simule le comportement d'un objet ferromagnétique bidimensionnel dans la présence d'un champ magnétique externe. Cet objet est composé de n particules (sites) situées sur un support discret Λ bidimensionnel uniforme (une grille), qui répondent à l'intensité d'un champ externe et qui interagissent entre elles. A chaque instant t l'activité des n sites est

représentée par le vecteur d'état $\mathbf{s} = (s_1, s_2, \dots, s_n)$, où le spin (moment magnétique) de chaque particule peut prendre une des deux valeurs ($s \in \{-1, 1\}^A$). Chaque particule interagit uniquement avec d'autres particules dans un voisinage $V_i \subset A$ constitué par les sites les plus proches, et avec le champ magnétique incident. Le hamiltonien s'écrit de la façon suivante :

$$H(\mathbf{s}) = \sum_{i \in \Lambda} \alpha s_i + \frac{1}{2} \sum_{i \in \Lambda} \sum_{j \in V_i} \beta s_i s_j$$

Le potentiel de singletons α peut être interprété comme l'intensité du champ incident, la magnitude du potentiel de paires β comme l'intensité de l'interaction entre deux sites voisins quelconques, et son signe comme le type d'interaction (une valeur positive représente une co-activité entre les sites, une valeur négative montre une inhibition d'activité entre les sites).

(N.B., La lettre β a été utilisée très souvent dans la littérature de la mécanique statistique pour deux quantités différentes et sans relation directe ; d'un côté elle représente souvent l'inverse de la température ($\beta = kT$), et de l'autre côté elle représente l'intensité des interactions entre deux sites voisins dans le modèle d'Ising. De manière à ne pas confondre ces deux quantités j'utilise ici toujours $\beta_T = kT$ au lieu de β pour indiquer l'inverse de la température si le sens de cette lettre n'est pas explicité dans le texte).

Cette approche est moins flexible que celle proposée initialement par Hervé et al., mais les procédures statistiques existantes pour le modèle d'Ising 2D sont rigoureuses et le comportement du modèle en fonction de ses paramètres et son diagramme de phase sont bien connus. Ceci facilite l'estimation de paramètres, l'analyse des données et l'interprétation des résultats. La modélisation par des champs aléatoires plus complexes ou définis dans plus de deux dimensions présente beaucoup plus de difficultés, les calculs sont plus difficiles, voire impossibles (e.g., même s'il existe aussi des transitions de phase pour $d=3$, il a été démontré récemment qu'il est impossible de calculer les fonctions de partition du modèle d'Ising au-delà de 2 dimensions (Istrail, 2000)).

Pour de hautes températures, les spécifications locales sont compatibles avec une seule mesure de Gibbs (théorème d'unicité de Dobrushin), caractérisée par la décroissance des corrélations et donc par l'absence de magnétisation. Par contre, pour des températures basses il existe au moins deux mesures extrêmes (μ^+_β et μ^-_β) et symétriques (i.e. tels que $\mu^+_\beta(s_0) = -\mu^-_\beta(s_0) > 0$) (argument de Peierls). La valeur du paramètre β contrôle le comportement coopératif des particules du matériel, si $\beta > 0$ le matériel est ferromagnétique (l'énergie est minimisée si les sites voisins ont le même état - spins alignés et pointant tous dans le même sens -), si $\beta < 0$ le matériel est antiferromagnétique (l'énergie est minimisée si les sites voisins d'un site donné ont des spins alignés et pointant dans le sens contraire). Si $\beta > 0$ et $\alpha = 0$, les mesures sont caractérisées par des corrélations à courte et longue distance, ce qui veut dire que le modèle est « magnétisé » de manière spontanée. En présence d'un $\alpha \neq 0$, le signe de celui-ci contrôle le sens de la magnétisation (e.g., si $\beta > 0$ les spins s'alignent tous dans le sens du champ incident (α)). Finalement, en présence d'un champ incident $\alpha \neq 0$ et pour des températures plus basses qu'une température seuil, il existe une ligne de transition de phase qui est donnée par l'équation $\alpha + 2\beta = 0$ et qui permet de caractériser le comportement du matériel modélisé (Bovier, 2001).

Dans le cas de la modélisation d'un réseau de neurones, l'espace d'état est ($\mathcal{S} = \{0,1\}^A$) indiquant l'activation ou l'inactivation des neurones au lieu de la magnétisation ; en ce cas β_T est un paramètre qui contrôle le niveau d'un bruit de fond. Selon la position du réseau dans le diagramme de phase par rapport à la ligne de transition de phase, chaque neurone du réseau est, soit excité par ses voisins (ce qui favorise l'activation synchronisée de tous les neurones, par analogie à un état ferromagnétique) soit inhibé par ceux-ci (empêchant la synchronisation, analogue à l'antiferromagnétisme), sauf dans le cas où $\beta = 0$ ou pour un bruit $(\beta_T)^{-1}$ important. Ceci est toujours vrai sauf dans le cas où l'activité du réseau se situe dans la ligne de transition de phase ; en ce cas il existe une compétition entre excitation et inhibition, et dans ce cas des patterns spatiotemporels plus complexes peuvent se produire.

Les résultats des analyses de Makarenko et al. en utilisant ce paradigme suggèrent l'existence des patterns spatiotemporels complexes dans les réseaux neuronaux qu'ils ont étudiés (le complexe olivo-cerebellar). Les paramètres estimés se situent apparemment sur la ligne de changement de phase, et la valeur de β oscille autour de zéro avec une dynamique assez rapide, de l'ordre de 10 msec. Selon eux ce comportement semble correspondre à la réalité physiologique de cette structure neuronale, puisque diverses études réalisées sur ce système montrent que ces neurones s'activent de manière synchrone et rythmique, en activant divers groupes de neurones lors de la planification des mouvements. Ainsi, le paramètre β du champ de Markov sert à caractériser cette activité coopérative dans les trains de PA observés.

(Une très bonne et très claire introduction aux systèmes de spin sur un réseau, qui n'a malheureusement pas été publiée en dehors d'Internet, est : (Bovier, 2001). Deux références classiques sur les champs aléatoires et les champs aléatoires markoviens sont : (Preston, 1974; Preston, 1976), et une courte introduction aux mesures gibbsiennes et non-gibbsiennes dans les systèmes de spin sur un réseau est : (Fernández, 1999))

6.3.3 Modèle de diffusion d'information neuronale

Nous avons étudié une autre approche de l'analyse statistique des processus binaires spatiotemporels : le Modèle de diffusion linéaire (LDM), proposé initialement par François et al. pour la modélisation des données d'activité neuronale multi-sites (Francois et al., 2000a). Ce modèle se base sur le principe de diffusion au lieu de celui d'interaction ; c'est un modèle de nature dynamique et ses paramètres peuvent, en principe, être interprétés plus facilement dans le contexte neuronal que les paramètres des potentiels de Gibbs (voir section 6.5.1).

Nous avons implémenté le modèle pour analyser les signaux d'activité électrique du cortex auditif enregistrés avec la technique optique. Nous avons travaillé en collaboration avec O. François et L.O. Mohamed Abdallahi de l'équipe de modélisation stochastique du laboratoire de modélisation et calcul de Grenoble (LMC), qui se sont intéressés à l'étude théorique du modèle de diffusion à l'aide d'outils mathématiques et de simulation, et aux algorithmes d'estimation des paramètres du modèle. Nous nous sommes pour notre part intéressés aux aspects pratiques et expérimentaux de l'utilisation de ce modèle dans le cadre de l'analyse de l'activité du cortex

auditif *in vivo* et nous avons implémenté les méthodes d'estimation de manière à pouvoir travailler en collaboration directe (à distance) avec le Dr. Junsei Horikawa qui a réalisé les expériences.

Nous avons trouvé des résultats préliminaires intéressants et encourageants, mais aussi des problèmes liés aux algorithmes d'estimation des paramètres (méthode indirecte, voir section 6.3.3.2) et à l'interprétation des résultats. Par rapport aux problèmes d'estimation, François et al. ont développé de nouveaux algorithmes qui permettent d'estimer les paramètres avec une meilleure précision (François et al., 2000b ; Mohamed Abdallahi, 2001) (voir section 6.3.3.2). Nous avons pour notre part travaillé sur le problème d'interprétation des paramètres, en fonction des connaissances actuelles sur l'anatomie fonctionnelle et sur la physiologie du cortex auditif, et sur la validation du modèle par rapport à la justesse dans la description des aspects fonctionnels de l'activité corticale.

6.3.3.1 Description du modèle

Le modèle suppose que les données soient recueillies sur un ensemble de sites $\{z_n\} = \Lambda$, dont chaque site $z_n \in \Lambda$ représente soit un neurone soit un ensemble de neurones, selon le type d'enregistrement. Les sites sont indexés par une variable $n \in \mathbf{Z}$, et l'échantillonnage dans l'espace est supposé arbitraire (la distance d'un site à l'autre n'est pas prise en compte de manière explicite, non plus sa localisation précise dans l'espace). On suppose que Λ possède une géométrie donnée, c'est-à-dire que chaque site z_n possède un ensemble de voisins et pour tout site $z_n \in \Lambda$, son voisinage sera noté V_n . On suppose donc que la topologie des voisinages est arbitraire, et décrite par un graphe $(\Lambda, (V))$ non-orienté. Les données $\mathbf{x}(k) = [x_1(k), \dots, x_N(k)]$ correspondent aux observations réalisées par un ensemble de détecteurs, de manière synchrone à chaque instant $(t_0 + k\Delta t)$, $k \in \mathbf{Z}$.

Une variable d'état binaire ($s_n \in \{0, 1\}$) représente l'activité dans chaque site z_n de la grille ; l'ensemble des sites observés est supposé fini (dimension = N) ; en conséquence, à chaque instant t l'ensemble des sites Λ est décrit par un vecteur d'état binaire $\mathbf{s} = [s_1, \dots, s_N]$, $\mathbf{s} \in \{0, 1\}^N$, dont la valeur $s_n = 1$ code pour un site actif, tandis que la valeur $s_n = 0$ code pour un site inactif. Le modèle de diffusion est décrit par un processus stochastique $\{\mathbf{S}(t) ; t \geq 0\}$ à valeurs dans l'espace d'état \mathbf{s} . Le modèle le plus simple, intégrant à la fois la dépendance temporelle et spatiale, et le concept de propagation de l'information, est décrit par un processus de Markov pour lequel seules les modifications élémentaires (i.e. un seul site z_n change sa valeur : $s_n \rightarrow \bar{s}_n$) sont autorisées dans un court intervalle de temps dt . Ce processus est défini par les taux de transition $\gamma(\mathbf{s}, \mathbf{s}')$ entre l'état $\mathbf{s} = [s_1, \dots, s_{n-1}, s_n, s_{n+1}, \dots, s_N]$ et l'état $\mathbf{s}' = [s_1, \dots, s_{n-1}, (1-s_n), s_{n+1}, \dots, s_N]$:

$$P(\mathbf{S}(t+dt) = \mathbf{s}' \mid \mathbf{S}(t) = \mathbf{s}) = \gamma(\mathbf{s}, \mathbf{s}')dt + o(dt)$$

où $\mathbf{S}(t)$ dénote l'état du système à l'instant t . Les taux de ce processus de Markov sont de la forme :

$$\gamma(\mathbf{s}, \mathbf{s}^n) = \begin{cases} \delta, & \text{si } s_n = 1 \\ \lambda + \frac{\mu}{|V_n|} \sum_{j \in V_n} s_j & \text{si } s_n = 0 \end{cases}$$

Un site quelconque sera activé selon un taux λ , il sera éteint selon un taux δ , et chaque site actif propagera l'information vers ses voisins selon un taux μ appelé « taux de diffusion » ; ces paramètres sont inconnus et on souhaitera les estimer à partir des observations. Le paramètre δ peut être interprété comme l'inverse de la durée moyenne d'activité d'un site, chaque site actif retourne à son état de repos indépendamment des autres sites.

Ce modèle admet un seul état d'équilibre et converge exponentiellement vite vers celui-ci (Mohamed Abdallahi, 2001). La vitesse de convergence vers l'état d'équilibre est majorée par le taux d'innovation λ si les paramètres du modèle sont positifs. Cependant, en pratique les paramètres λ et μ peuvent être négatifs. Afin de garder la cohérence du modèle, les valeurs négatives sont autorisées tant que $\gamma(\mathbf{s}, \mathbf{s}^i) > 0$. On suppose que les valeurs négatives des paramètres λ ou μ sont dues au caractère inhibiteur de l'innovation du système ou des interactions. La convergence exponentielle des paramètres permet d'approximer le modèle par son état stationnaire si l'échantillonnage temporel des données est assez lent par rapport à la vitesse de convergence. La véracité de cette dernière condition est difficile à estimer puisque λ peut être très variable.

Cependant, l'échantillonnage typique dans les enregistrements avec la technique optique est relativement lent (~ 1 msec) et nous avons donc supposé qu'en pratique le processus observé se comporte comme s'il était en équilibre à chaque instant d'observation (i.e. $k \gg 1/\lambda$). En conséquence, l'ensemble des paramètres $\{\delta, \mu, \lambda\} \in \mathbb{R}$ est supposé constant pendant l'intervalle $]t_0 + (k-1)\Delta t, t_0 + k\Delta t]$, à la fin duquel on suppose que le processus de Markov est en état d'équilibre. Cependant, la valeur des paramètres peut changer d'un intervalle au suivant. Nous voulons donc estimer une suite de paramètres $\{\delta_k, \mu_k, \lambda_k\}$ pour chaque vecteur des données $\mathbf{x}(k)$.

On peut donc supposer que l'état du système à la fin de l'intervalle $\mathbf{S}(t_0 + k\Delta t)$ est identique aux données observées à l'instant $(t_0 + k\Delta t)$ si $\mathbf{x}(k)$ est aussi un vecteur binaire. Cependant, les valeurs du signal de potentiel électrique membranaire que l'on veut modéliser ne sont pas binaires ; en conséquence, à chaque instant $(t_0 + k\Delta t)$ le vecteur d'état est fonction de la valeur du vecteur de données à cet instant $\mathbf{S}(t_0 + k\Delta t) = \phi(\mathbf{x}(k))$, dont $\phi: \mathbf{Z} \rightarrow \{0, 1\}$ est une fonction qui détermine le niveau d'activité à partir de la valeur du potentiel électrique observé dans un site quelconque. Cette fonction n'est pas définie explicitement ici, elle doit être définie selon la nature des données à analyser et selon certains critères pratiques qui seront discutés plus tard. Cependant, une définition adéquate de ϕ est très importante si l'on veut réellement modéliser le processus physiologique qui a lieu dans le néocortex en réponse aux stimuli, et assurer que l'interprétation des résultats aura un sens physique et physiologique en plus d'un sens purement mathématique. Pour l'instant, on supposera ϕ la fonction d'identité et $\mathbf{x}(k)$ binaire.

Le comportement spatiotemporel de $\mathbf{x}(k)$ est donc codé par ces 3 paramètres. En particulier, μ_k représente le degré de synchronisation de l'activité des sites observés ; ce paramètre représente le taux auquel un site diffuse son activité vers un voisin choisi au hasard (avec probabilité $1/|V_i|$) dans l'intervalle $]t_0 + (k-1)\Delta t, t_0 + k\Delta t]$. Si $\mu_k = 0$, les sites s'activent et s'éteignent

indépendamment les uns des autres; en ce cas la probabilité d'observer une activité cohérente est très faible puisque l'état de chaque site est modifié indépendamment des autres selon les taux λ_k et δ_k . Par contre, si $\mu_k > 0$, la probabilité d'observer une activité cohérente est plus importante à cause de la diffusion de l'activité des sites actifs vers ses voisins ; ainsi, les valeurs grandes et positives de μ_k codent pour des données qui ont tendance à former des blocs d'activité. L'influence d'un site sur ses voisins peut aussi être inhibitrice si $\mu_k < 0$; en ce cas, la valeur négative de ce paramètre code pour un comportement spatio-temporel où les sites actifs sont isolés.

Un avantage de ce modèle par rapport aux modèles issus de la mécanique statistique est que les paramètres (la valeur absolue) sont tous donnés en unités de fréquence (kHz). Ceci permet d'interpréter facilement les taux λ et μ par rapport aux taux de trains des PA quand les données représentent l'activité des réseaux des neurones et l'état de chaque site représente l'état d'un neurone. Cependant, dans le cas des signaux d'activité neuronale observés à une échelle mésoscopique ou macroscopique l'interprétation peut être plus difficile, comme on le verra plus tard.

6.3.3.2 Estimation des paramètres

Le Modèle de diffusion défini précédemment comme un processus de Markov peut être considéré comme la description d'un système de particules en interaction. Les procédures d'estimation des paramètres pour ce type de modèles sont très rares et se limitent à quelques cas spécifiques, ceci dû au fait que très souvent les états d'équilibre de ces modèles n'ont pas d'expression analytique simple ; par conséquent, les procédures traditionnelles du maximum de vraisemblance ne sont pas utiles. Néanmoins, plusieurs algorithmes ont été récemment développés, dans le cadre de ce projet, par O. François, L. O. Mohamed Abdallahi, et al. ((François et al., 2000a; François et al., 2000b ; Mohamed Abdallahi, 2001)), et nous avons implémenté et testé certains d'entre eux pour analyser les données d'activité électrique du cortex auditif.

Un premier type de techniques d'estimation, proposé par Besag consiste à maximiser une quantité appelée « pseudo-vraisemblance conditionnelle approchée » qui suppose l'indépendance de l'activité observée dans chaque site par rapport à celle des autres sites dans le maillage (Besag, 1974). La première procédure de ce type est décrite en (François et al., 2000a); elle est appelée « méthode indirecte » puisqu'elle utilise une identification du LDM avec un modèle d'Ising 2D stochastique ; on estime d'abord les paramètres du modèle d'Ising approché, qui seront ensuite utilisés pour estimer les paramètres du modèle LDM en état stationnaire. Une deuxième procédure de ce type, appelée « méthode directe » (Mohamed Abdallahi, 2001), permet le calcul des paramètres du modèle LDM directement à partir d'une approximation de la fonction de pseudo-vraisemblance conditionnelle du modèle ; cette approximation est fondée sur une hypothèse de réversibilité du processus, et suppose que le LDM converge vers un état de Gibbs.

L'hypothèse d'indépendance d'activité des sites qui permet d'utiliser la pseudo-vraisemblance conditionnelle pose la contrainte d'une faible covariance spatiale pour que les résultats des estimations soient fiables. Une autre procédure a été développée par François et al. pour obvier à cette contrainte (Francois et al., 2000b); cette procédure est inspirée des techniques de validation-croisée et permet d'estimer les paramètres par une régression linéaire. Finalement, une quatrième procédure qui n'utilise pas le concept de pseudo-vraisemblance, mais celui de générateurs du processus, est décrite dans la thèse de L. O. Mohamed Abdallahi (Mohamed Abdallahi, 2001). La méthode directe tout comme l'indirecte (voir la section suivante) peuvent être simplifiées en utilisant l'approximation de champ moyen ; cette approximation remplace l'interaction (supposée faible) entre sites voisins par une interaction avec un champ d'activité dû aux sites voisins, introduisant ainsi une forme d'indépendance entre les activités des sites.

Nous avons utilisé principalement la méthode « indirecte » dans l'analyse des signaux d'activité électrique du cortex auditif. Nous allons résumer rapidement cette méthode et on montrera ensuite les résultats obtenus ; les algorithmes correspondants et son fondement théorique sont décrits en détail dans (Francois et al., 2000a). Les autres méthodes d'estimation mentionnées précédemment peuvent être consultées dans (Francois et al., 2000b) et (Mohamed Abdallahi, 2001).

6.3.3.2.1 Méthode indirecte

Comme nous l'avons déjà dit dans la section précédente, l'état d'équilibre du modèle LDM est analytiquement incalculable. Une première approximation du modèle stationnaire par un champ aléatoire de markov (CHAM) a été faite et les paramètres de ce modèle ont été estimés par maximisation de la pseudo-vraisemblance conditionnelle approchée du CHAM. Le cas plus connu pour lequel des procédures d'estimation fiables existent est le modèle d'Ising de dimension 2 décrit précédemment. Dans la suite on suppose que les estimations sont faites pour les données observées à l'instant $(t+k\Delta t)$; et on utilisera l'ensemble des symboles $\{\alpha, \beta, \lambda, \delta, \mu\}$ pour les paramètres des modèles au lieu de $\{\alpha_k, \beta_k, \lambda_k, \delta_k, \mu_k\}$, afin de simplifier l'écriture.

La pseudo-vraisemblance conditionnelle approchée pour le modèle d'Ising s'écrit :

$$PL(\alpha, \beta) = \prod_{n=1}^N P(\sigma_n | (\sigma_v, \alpha, \beta); v \in V_n),$$

où σ est l'état du processus en équilibre (i.e. l'état stationnaire ; on l'identifie aux données observées à chaque instant pour lequel on veut calculer les paramètres : $\sigma = \mathbf{x}(k)$), α et β sont les paramètres du modèle d'Ising, et V_n est le voisinage du site n . Pour le modèle d'Ising la probabilité conditionnelle s'écrit :

$$P(\sigma_n | (\sigma_v, \alpha, \beta); v \in V_n) = \frac{1}{1 + \exp(-(\alpha + \beta \sum_{v \in V_n} \sigma_v))}$$

Les valeurs de paramètres ont été estimées ensuite par maximisation de la pseudo-vraisemblance conditionnelle ; cette maximisation a été réalisée à l'aide d'un algorithme du gradient à pas (h) constant et valeurs initiales $\hat{\alpha}_0$ et $\hat{\beta}_0$ arbitraires:

$$\hat{\alpha}_{i+1} = \hat{\alpha}_i + h \sum_{n=1}^N (\sigma_n - P(s_n | (\sigma_v, \alpha_i, \beta_i); v \in V_n))$$

$$\hat{\beta}_{i+1} = \hat{\beta}_i + h \sum_{n=1}^N \left(\sum_{v \in V_n} \sigma_v \right) (\sigma_n - P(\sigma_n | (\sigma_v, \alpha_i, \beta_i); v \in V_n))$$

Après quelques itérations, cet algorithme converge vers les estimations de β et α pour l'intervalle observé, qui seront ensuite utilisées pour estimer les paramètres du modèle LDM. Le modèle LDM est un modèle à 3 paramètres (δ, λ, μ), et son équation d'équilibre peut s'écrire de la manière suivante :

$$\lambda - (\delta + \lambda - \mu)E[\sigma_n] - \mu E[\sigma_n \sigma_v] = 0$$

Cependant, on a vu que l'utilisation de la technique de pseudo-vraisemblance conditionnelle implique qu'on suppose vraie l'hypothèse d'indépendance d'activité entre les sites, c'est-à-dire que la covariance spatiale est très faible. En ce cas, on peut aussi approximer l'équation d'équilibre par l'équation de champ moyen :

$$\lambda - (\delta + \lambda - \mu)u - \mu u^2 = 0,$$

Equation 6-1

où la variable u est la probabilité qu'un site quelconque soit actif et peut être estimée par la moyenne empirique de l'activité ($\hat{u} = (1/N) \sum_{j=1}^N (\sigma_j)$). Cette approximation nous permet d'estimer un paramètre si on connaît la valeur des deux autres paramètres ; on peut donc écrire pour μ :

$$\mu \approx \frac{\delta}{(1 - \hat{u})} - \frac{\lambda}{\hat{u}}$$

Equation 6-2

On suppose que le paramètre δ peut être estimé directement à partir des données ; par exemple, il peut être estimé comme la valeur moyenne de l'inverse de la durée de l'activité pour tous les sites. Il ne reste donc qu'à estimer le paramètre λ .

La deuxième étape de cet algorithme consiste à identifier le modèle LDM avec le modèle d'Ising en utilisant une propriété des champs aléatoires de Markov, à savoir que le rapport de taux de naissances et morts en un site est égal au rapport entre les probabilités conditionnelles dans ce site. On identifie donc les probabilités conditionnelles de deux modèles de manière à exprimer la valeur de λ dans un site en fonction des paramètres α et β et de l'activité dans le voisinage de ce site.

$$\frac{P(\sigma_n^+=0 \mid \bar{\sigma}_n=1)}{P(\sigma_n^+=0 \mid \bar{\sigma}_n=1) + P(\sigma_n^+=1 \mid \bar{\sigma}_n=0)} = \frac{\delta}{(\lambda_n + \delta + \mu \bar{\sigma}_n^v)} = \frac{1}{1 + \exp(\alpha + \beta M \bar{\sigma}_n^v)}$$

où $\bar{\sigma}_n^v = (1/M) \sum_{m \in V_n} \sigma_m$ est le champ moyen dû à l'activité dans le voisinage du site n (V_n),

et $M = |V_n|$ est le nombre des sites voisins.

La valeur de λ estimée est obtenue en faisant la moyenne des estimations pour tous les sites (pour lesquels $\hat{u} \neq \bar{\sigma}_n^v$) et en utilisant l'équation de champ moyen pour μ (Equation 6-2) :

$$\hat{\lambda} = \frac{\hat{u}\delta}{N} \sum_{n=1}^N \frac{\exp(\alpha + \beta M \bar{\sigma}_n^v) - \frac{\bar{\sigma}_n^v}{1-\hat{u}}}{\hat{u} - \bar{\sigma}_n^v} \quad \text{Equation 6-3}$$

Celui-ci est l'algorithme que nous avons utilisé dans nos analyses. La précision de l'estimation dépend principalement de celle des paramètres α et β , et de la valeur de la covariance spatiale. Néanmoins, dans le cas où $\hat{u} \sim \bar{\sigma}_n^v$, où si $\hat{u} \sim 1$, et selon le processeur utilisé, les algorithmes peuvent devenir instables et des erreurs numériques importantes peuvent se produire.

Par rapport au biais d'estimation quand les covariances sont grandes, on peut dire que même si ce biais est important les résultats obtenus par simulation montrent que la méthode indirecte retient la forme des courbes des paramètres. Ceci veut dire que si l'on s'intéresse uniquement à l'évolution des paramètres et non à leur valeur, on peut utiliser cette méthode. Par contre, si on veut comparer des résultats obtenus lors de plusieurs expériences, il faut tenir compte de ce problème.

6.3.3.2 Méthode indirecte + Régression linéaire

L'utilisation conjointe de la méthode indirecte quand les covariances spatiales sont petites ($cov < 0.05$), et de l'algorithme d'estimation par régression linéaire quand elles sont importantes, permet d'estimer les paramètres avec une meilleure précision. Il faut noter néanmoins que pour des covariances trop grandes ($cov > 0.06$) il est nécessaire de faire une correction aux valeurs estimées par ce deuxième algorithme comme il est décrit en (Francois et al., 2000b).

6.3.3.3 Méthode directe

La méthode « directe » est plus récente, plus simple et plus précise ; on va donc résumer rapidement cette procédure par souci d'information, même si nous ne l'avons pas utilisée dans nos analyses. Elle a été développée par L.O. Mohamed Abdallahi, et elle est décrite en détail dans sa thèse (Mohamed Abdallahi, 2001).

Au lieu d'estimer les paramètres du modèle d'Ising, puis ceux du modèle LDM, une approximation de la fonction de pseudo-vraisemblance conditionnelle pour le modèle LDM est directement maximisée. Cette approximation est fondée sur l'hypothèse selon laquelle le modèle LDM converge vers un état de Gibbs, et donc que le modèle LDM est réversible (Preston, 1974). Cette réversibilité hypothétique permet d'écrire la probabilité conditionnelle pour chaque site comme :

$$u_n = P(\sigma_n = 1 \mid \sigma_v; v \in V_n) = \frac{\lambda + \mu \bar{\sigma}_n^v}{(\lambda + \delta + \mu \bar{\sigma}_n^v)}$$

La fonction de pseudo-vraisemblance conditionnelle s'écrit :

$$PL(\delta, \lambda, \mu) = \prod_{n=1}^N P(\sigma_n \mid (\sigma_v, \delta, \lambda, \mu); v \in V_n) = \prod_{n=1}^N u_n^{\sigma_n} (1 - u_n)^{(1 - \sigma_n)}$$

Finalement, les paramètres sont estimés en maximisant $\log(PL)$ par une méthode quelconque. Cette maximisation peut être encore simplifiée à un seul paramètre si l'on utilise l'approximation de champ moyen tel qu'il a été indiqué dans le cas de la méthode indirecte.

6.4 Analyse de l'activité électrique multi-sites du cortex auditif

Etant donné que le modèle LDM a été conçu pour modéliser des processus spatiotemporels binaires, et que les données issues de la technique de fluorescence prennent des valeurs réelles, nous avons transformé, dans un premier temps, chaque séquence de données en une nouvelle

séquence de données à valeurs binaires en définissant une fonction d'activité ($\phi: \mathbb{R} \rightarrow \{0,1\}$) pour chaque site. Nous avons interprété les séquences d'images ainsi obtenues pour chaque ensemble d'expériences comme des réalisations d'un processus binaire stochastique spatiotemporel qui peut être décrit par un modèle LDM. On s'intéressait à l'évolution des paramètres de ce modèle, qui est censée décrire l'activité neuronale spatio-temporelle ; les paramètres ont été estimés selon les procédures décrites dans la section 6.3.3.2. Cependant, cette approche présente plusieurs inconvénients qui posent des difficultés dans l'interprétation des résultats (voir section 6.5.2).

Dans une deuxième approche, nous avons voulu étudier les données brutes avec le même modèle, ceci afin de mieux tenir compte de l'information sur le processus physiologique présente dans le signal, de manière à pouvoir interpréter les résultats obtenus par rapport à cette information. Bien que le modèle LDM soit défini pour des systèmes pour lesquels l'espace d'état de chaque site est $\{0,1\}$, nous l'avons utilisé aussi pour analyser ce type de données qui prennent des valeurs réelles quelconques. Il faut donc justifier cette utilisation, de manière à faire une interprétation valide des résultats.

6.4.1 Description des données

L'ensemble de données brutes (voir la section 2.2. pour la description du protocole expérimental, des stimuli utilisés, de la zone observée, etc.) peut s'écrire :

$$\mathbf{Z} = \{\mathbf{z}_l\}_{l=1, 2, \dots, L} = \{z_{i,j,k,l}\}_{i=1, 2, \dots, I; j=1, 2, \dots, J; k=1, 2, \dots, K; l=1, 2, \dots, L}$$

où $z_{i,j,k,l}$ est la valeur de $\Delta F/F$ observée dans le site $\{x_i, y_j\} \in \mathbb{R}^2$ du cortex au temps $t_{l+k} = \tau(l+k)$, K est le nombre d'échantillons par signal acquis (\mathbf{z}_l), L est le nombre de signaux acquis, et les stimuli sont présentés au temps $\{t_s\}_{s \in \{1, 2, \dots, L\}}$.

Ces données brutes ont été prétraitées, en éliminant les artefacts cardiaques et le bruit, afin d'estimer un ensemble de signaux multi-sites ($\mathbf{F} = \{\mathbf{f}_n\}_{n=1, 2, \dots, N}$; avec $N \leq L$) qui représentent les réponses du cortex aux stimuli. Chaque $\mathbf{f}_n = \{f_{i,j,k,n}\}_{i=1, 2, \dots, I; j=1, 2, \dots, J; k=1, 2, \dots, K}$ est le résultat du prétraitement T sur un ensemble de signaux bruts :

$$\mathbf{f}_n = T(\{\mathbf{z}_l\}_{l \in \{m\}}) \text{ pour } m \in \{1, 2, \dots, L\}$$

Par rapport à T , la méthode traditionnelle d'estimation du signal d'activité neuronale décrite dans la section 4.3.1 a été utilisée dans un premier temps. La qualité des données a été ensuite améliorée comme il est décrit dans les sections 4.3.3 et 4.3.5.4, cette procédure permet de diminuer la quantité de données nécessaires pour obtenir un seul \mathbf{f}_n (il est toujours nécessaire de calculer une moyenne d'ensemble). L'utilisation de la moyenne d'ensemble implique que $N \ll L$ et que les \mathbf{f}_n représentent donc des réponses type à un stimulus donné, mais elle implique aussi que des détails importants de la réponse qui ne sont pas alignés parfaitement d'une acquisition à l'autre aient pu disparaître.

On notera chaque ensemble de données multi-sites qu'on analysera dans ce chapitre par \mathbf{f}_n^h , et on l'appellera « Distribution du Potentiel Cortical Evoqué Auditif (DPCEA)» numéro n sous de conditions expérimentales \mathbf{h} , où le type de stimulus est compris comme une condition expérimentale. Chaque \mathbf{f}_n^h résulte du traitement d'un groupe de données brutes (obtenues sous des conditions expérimentales \mathbf{h} , de la manière décrite dans le paragraphe précédent, et représente une estimation de l'activité spatio-temporelle du cortex sous ces conditions. Les DPCEA sont indexées par ordre chronologique (n) et chacune est étiquetée selon un ensemble de paramètres ($\mathbf{h} = \{v, t, n_m, g, \dots\}$) décrivant l'expérience, tels que : la fréquence de stimulation (v) et son intensité (t), le nombre d'acquisitions qui sont moyennées afin d'obtenir une seule DPCEA (n_m), l'identification de l'animal (g), etc. Finalement, pendant une expérience on obtient typiquement un ensemble de DPCEAs ($\mathbf{F}^h = \{\mathbf{f}_n^h\}_{n=1, 2, \dots, N}$; où N est le nombre de DPCEAs) avec un même ensemble de paramètres \mathbf{h} , de manière que l'ensemble total de DPCEAs est : $\mathbf{F} = \{\mathbf{F}^h\}_{\mathbf{h} \in \mathbf{H}}$, où \mathbf{H} est l'ensemble de conditions expérimentales possibles.

Par ailleurs, chaque \mathbf{f}_n^h peut être interprété aussi comme une suite de K matrices bidimensionnelles (i.e. $\mathbf{f}_n^h = \{M_{n,k}^h\}_{k=1, 2, \dots, K}$) qu'on appellera « observations multisites » ou « Images du Potentiel Cortical (IPC) ». Chaque observation multi-sites ($M_{n,k}^h$) correspond à l'ensemble des valeurs de l'activité électrique estimée du cortex pour les conditions \mathbf{h} , observées au temps $t_{0(n)+k}$ sur tous les sites de mesure (i.e. $M_{n,k}^h = \{f_{i,j,k,n}^h\}_{i=1, 2, \dots, I; j=1, 2, \dots, J}$), où l'on suppose qu'un stimulus serait présenté au temps $t_{0(n)}$. Chaque $f_{i,j,k,n}^h$ représente donc la valeur de la réponse dans le site $\{x_i, y_j\}$ de l'aire du cortex observé, au temps t_k après le début de l'enregistrement ($t_{0(n)}$).

Plus précisément, pour nos données, chaque observation multi-sites $M_{n,k}^h$ consiste en 144 « observations simples » ($f_{n,k,i,j}^h$). Chaque DPCEA peut être donc interprété comme une séquence temporelle d'images de 12x12 pixels (voir Figure 6-2-A).

Lors de chaque expérience, seulement un nombre limité de DPCEAs sont valables ($\{\mathbf{f}_v^h\}_{v \in V \subset \{1, \dots, N\}}$); le reste ($\{\mathbf{f}_u^h\}_{u \in \{1, \dots, N\} - V}$) sont inutilisables à cause de l'absence de réponse ou à cause de problèmes lors de l'enregistrement. Il n'existe donc pas de continuité chronologique dans la suite de DPCEAs, et très souvent le nombre de DPCEAs valables est très faible.

Etant donné que les analyses ont été réalisées sur une DPCEA à la fois, et afin de simplifier l'écriture, on ne prendra en compte par la suite les paramètres \mathbf{h} et n que lorsque ce sera nécessaire pour éviter les ambiguïtés, et l'on supposera $t_{0(n)} = 0$. Ainsi, on écrira de manière générale \mathbf{f}_n pour la DPCEA numéro n d'une expérience quelconque \mathbf{F}^h , et M_k pour chaque IPC observée au temps t_k dans une DPCEA quelconque \mathbf{f}_n .

6.4.2 Implémentation du modèle LDM

Le modèle LDM est défini pour chaque observation multi-sites M_k par 3 paramètres (λ_k, μ_k et δ_k). Nous voulons estimer les paramètres λ_k et μ_k pour chaque M_k , et étudier l'évolution des courbes discrètes $\boldsymbol{\lambda} = \{\lambda_1, \lambda_2, \dots, \lambda_K\}$ et $\boldsymbol{\mu} = \{\mu_1, \mu_2, \dots, \mu_K\}$ pour chaque \mathbf{f}_n . Le paramètre δ peut

être vu comme un facteur d'échelle temporelle, qui peut être calculé ou estimé à partir des données ou de la connaissance que l'on a a priori sur le processus étudié. Cependant, l'interprétation des courbes λ et μ dépend de la définition que l'on donne au concept d'activité corticale dans chaque site de mesure. Cette définition n'est pas unique ; nous avons proposé trois définitions que nous allons détailler par la suite (voir aussi la section 3.3).

6.4.2.1 1^{ère} Définition de l'activité corticale, espace d'état binaire

Tous les modèles présentés dans les sections précédentes reposent sur une notion d'activité de caractère discret, et particulièrement sur une définition binaire de l'espace d'état de chaque site observé : soit il y a de l'activité dans un site, soit il n'y en a pas. Dans le cas où l'on étudie l'activité dans les axones des neurones individuels cette définition peut bien décrire les PA observés (e.g., $s_0 = 1 \Rightarrow$ site actif = présence de PA ; $s_0 = 0 \Rightarrow$ site inactif = absence de PA). Cependant, dans le cas où l'on observe le potentiel membranaire intégré d'une population de neurones au niveau mésoscopique, la caractérisation du niveau d'activité dans un site de mesure par un espace d'état binaire n'est pas si évidente (voir la section 3.3.1.1). Nous avons néanmoins travaillé, dans un premier temps, en partant de l'hypothèse que la réponse du cortex à un stimulus, observée dans un site de mesure quelconque, peut être décrite de cette manière.

La manière la plus simple de définir l'activité d'un site cortical, dans le cas des signaux de fluorescence, est de supposer qu'un site est actif quand il y a une augmentation significative de l'amplitude du signal observé dans ce site par rapport à un seuil ; le seuil peut être défini en fonction d'un niveau de repos (ou niveau d'inactivité) et du RSB. On peut aussi définir l'activité d'un site par l'instant de réponse maximale, si la valeur à cet instant dépasse un seuil, et par la durée de l'activité, c'est à dire l'intervalle temporel entre les instants où la réponse vaut une fraction prédéfinie de la valeur maximale (voir Figure 6-1).

Les résultats montrés dans cette section ont été obtenus à partir de DPCEAs estimés à partir de la moyenne d'ensemble d'au moins dix signaux bruts ($n_m = 10$), pour des paramètres expérimentaux identiques, et sous anesthésie. Nous avons défini dans un premier temps l'instant d'activité d'un site comme l'instant où le signal optique arrive à sa valeur maximale, dans le cas où la valeur maximale est supérieure à un seuil dépendant du bruit de la mesure. Si le signal ne dépasse pas ce seuil (repos + $3*\sigma$) le site est classé comme inactif. La valeur de repos et l'écart type ont été mesurés pendant la période précédant les réponses évoquées (i.e. 0 à 18 ms après la stimulation). Les séquences d'images brutes sont ainsi transformées en des séquences d'images binaires où la valeur de chaque pixel représente le niveau d'activité dans chaque site, où l'activité d'un site vaut 1 pendant la période d'activité (définie selon la procédure décrite dans le paragraphe précédent) et 0 quand il n'y a pas d'activité (voir Figure 6-2-B).

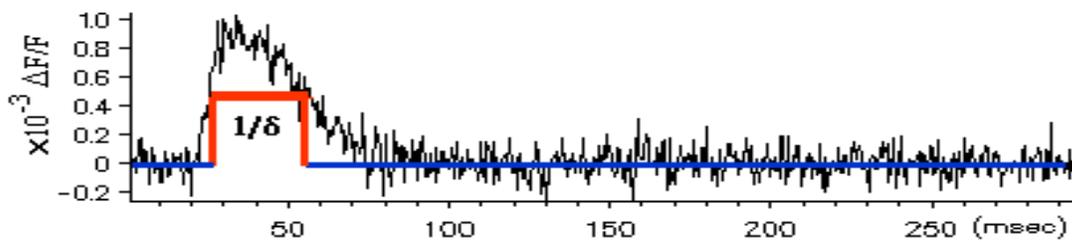


Figure 6-1—Définition de l'activité d'un site de mesure (Signal de fluorescence simulé)

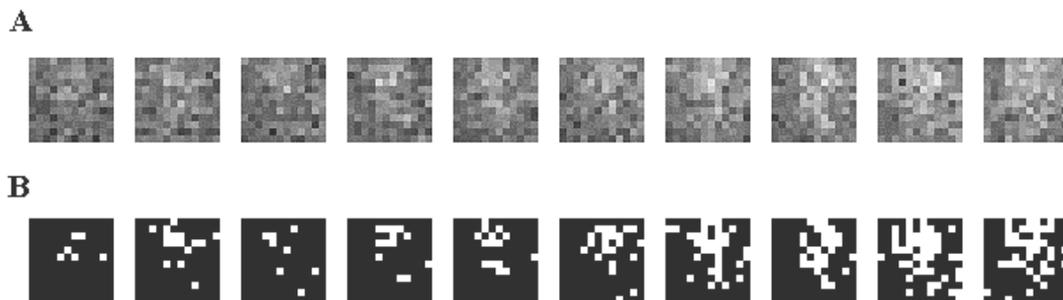


Figure 6-2 Processus binaire d'activité corticale spatio-temporel (**B**) calculé par seuillage des signaux de fluorescence (**A**).

6.4.2.2 2ème Définition de l'activité corticale (intensité des potentiels d'action)

Etant donné que la définition de l'activité d'un site par une variable binaire posait quelques problèmes tant conceptuels que pratiques (problèmes qui seront présentés dans la discussion, section 6.5.2), nous nous sommes ensuite intéressés à la valeur instantanée du signal, sans aucune transformation par seuillage. Compte-tenu de la nature du signal étudié nous avons assimilé sa valeur instantanée à l'intensité de l'activité neuronale à une échelle microscopique (ceci est justifié dans la section 3.2.2 pour le type de données que nous avons analysé). Ensuite nous pouvons interpréter cette intensité, après avoir effectué une normalisation adéquate des données, comme la probabilité d'activité dans le site observé. Ainsi, il serait possible d'utiliser la technique d'estimation à partir de l'équation de champ moyen (Equation 6-1) pour analyser les signaux directement, sans autre transformation que la simple normalisation, et à condition d'éliminer le bruit des instruments. Le paramètre δ peut être estimé en ce cas par l'inverse de la durée moyenne d'un potentiel postsynaptique.

Nous reviendrons plus tard sur cette définition, dans la section 6.5.2, sur sa justesse et sa pertinence lors de l'analyse de ce type de données.

6.4.2.3 3^{ème} Définition de l'activité corticale (Événements de synchronie neuronale locale)

Finalement, une troisième définition d'activité corticale a été proposée, selon laquelle l'activité d'un site cortical quelconque dépend du degré de synchronie de l'activité neuronale locale (à l'échelle microscopique, sous chaque site de mesure). Cette synchronie est censée refléter l'activité d'ensembles de neurones pendant des processus cognitifs ou de perception, selon certaines théories des neurosciences. On suppose donc que ces événements de synchronie sont visibles sur le signal de fluorescence, c'est-à-dire que des « signatures » de ces événements se produisent lors des processus cognitifs ou perceptifs (voir section 3.3). On a appelé ces signatures par le terme « événements unitaires » (UE : *Unitary Events*). Selon cette définition, un site est actif quand un UE se produit, et quand l'amplitude de cet UE dépasse un seuil $k\sigma$ et sa durée ne dépasse pas un seuil c/δ . En ce cas, le paramètre δ est de l'ordre de la durée moyenne des UE, qui peut en principe être estimé à partir des données. Le paramètre σ correspond à la variance du bruit et peut être calculé aussi à partir des données.

Une méthode de détection et de caractérisation de ce type d'activité a été présentée dans la section 4.4, et un exemple sur des données réelles est illustré dans la Figure 4-22. Néanmoins, nous n'avons pas pu analyser les DPCEAs en utilisant cette définition de l'activité corticale puisque des problèmes pratiques se sont présentés. Ceci sera discuté plus en détail dans la section 6.5.2.

6.4.3 Implémentation des algorithmes du modèle LDM

Les algorithmes d'estimation des paramètres (méthode indirecte) ont été implémentés en langage C ; ils ont été compilés et exécutés sous Windows (Intel Pentium II) et sous Macintosh (68k, PowerPC). Ils ont été intégrés dans une bibliothèque des fonctions pour l'analyse des signaux multi-sites (MUSA, pour MULTIsite Signal Analysis library) que nous avons commencé à développer pendant cette étude. Cette bibliothèque a été intégrée au logiciel d'analyse des signaux (images) optiques (ORAS), développé au département de Neurophysiologie de l'Université d'odontologie et de médecine de Tokyo, où une partie des analyses ont été réalisées.

La performance de l'algorithme d'estimation implémenté (méthode indirecte, voir section 6.3.3.2.1) n'est pas la meilleure. Les résultats obtenus étaient très différents sur chaque plateforme et présentaient parfois des erreurs numériques importantes et aléatoires ; ceci principalement dans le cas des processeurs du macintosh (plateforme de développement du logiciel ORAS), à cause probablement de la différence de précision de l'unité de calcul en virgule flottante entre les deux processeurs. La raison de ces erreurs est que l'algorithme

implémentant la méthode d'estimation indirecte est numériquement instable quand la valeur du champ moyen s'approche de la valeur moyenne d'activité dans tous les sites, et quand les niveaux d'activité locaux sont importants (voir Equation 6-3). Des algorithmes robustes (par troncation des valeurs extrêmes) ont donc été implémentés pour résoudre ce problème. Cependant, cette solution n'est pas entièrement satisfaisante, d'une part parce que les temps de calcul deviennent plus importants, et d'autre part parce que le nombre de données disponibles pour l'estimation des paramètres à chaque instant est déjà très limité (144).

Un autre problème de la méthode indirecte est le biais qui se présente quand les covariances spatiales sont importantes ($cov > 0.05$), puisque l'approximation de champ moyen repose sur l'hypothèse des petites covariances spatiales. Néanmoins, même si ce biais est assez important, la forme des courbes d'évolution des paramètres du modèle LDM ne change pas. Nous avons donc étudié principalement les formes des courbes et non pas les valeurs des paramètres eux-mêmes.

Il est recommandable, lors de futures analyses avec ce modèle, d'implémenter les nouvelles méthodes d'estimation directe mentionnées dans la section 6.3.3.2, qui ne présentent pas ces problèmes.

6.4.4 Analyse des résultats

6.4.4.1 Analyse des données binaires

Certains de nos résultats sur les données binaires confirment des résultats préliminaires de cette étude, déjà publiés dans (Francois et al., 2000a; Francois et al., 2000b), mais nous avons observé aussi quelques différences qu'il semble nécessaire de signaler.

Nous avons observé qu'en règle générale l'activité moyenne dure environ 20 msec et présente un seul pic d'activité qui se produit entre 24 et 27 msec (voir Figure 6-6 (u)), tandis que l'évolution de la covariance spatiale présente une oscillation, avec deux pics vers 21 et 30 msec, et un minimum vers 24 ~ 26 msec.

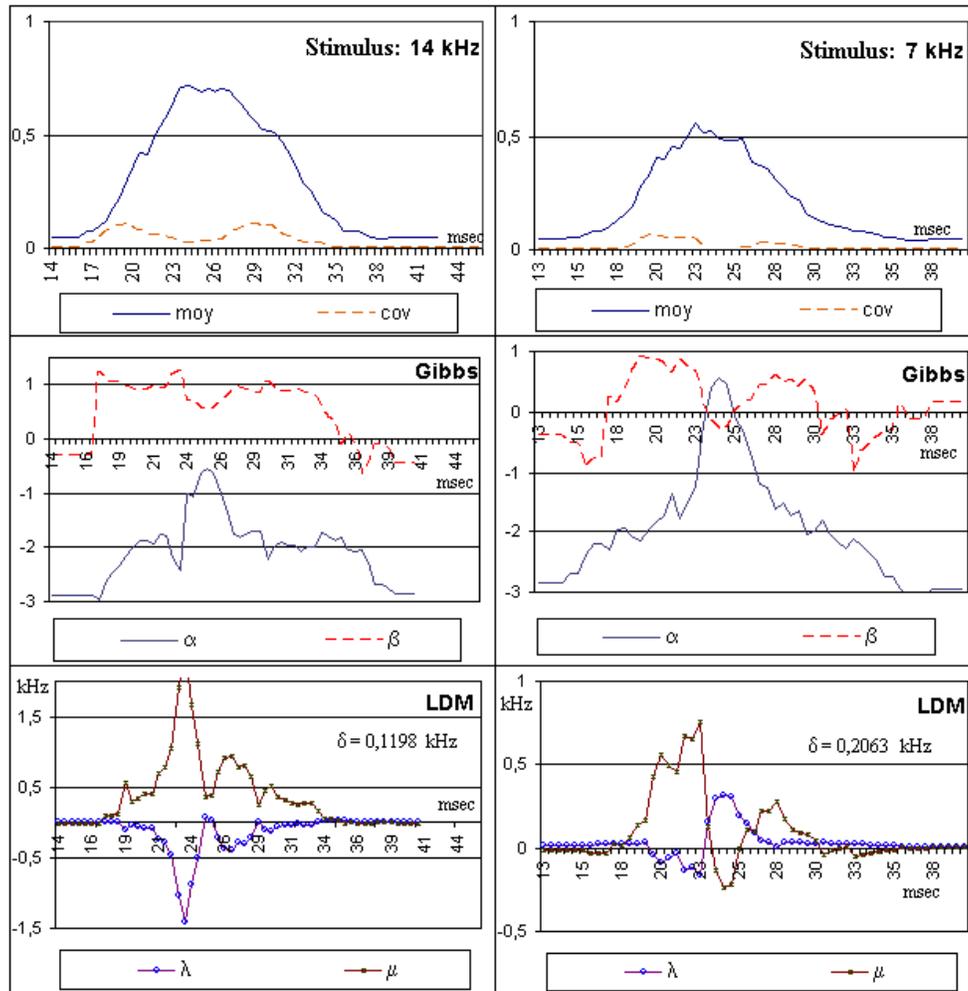


Figure 6-3. Analyse de l'activité multi-sites du cortex en réponse aux stimuli de 14 et de 7 kHz. Evolution de la moyenne et de la covariance spatiale empiriques (en haut) des réponses spatio-temporelles du cortex auditif aux stimuli de 14 et 7 kHz (colonnes gauche et droite, respectivement). Evolution des paramètres des potentiels de Gibbs (au milieu) et des paramètres du modèle de diffusion (en bas) pour ces mêmes données.

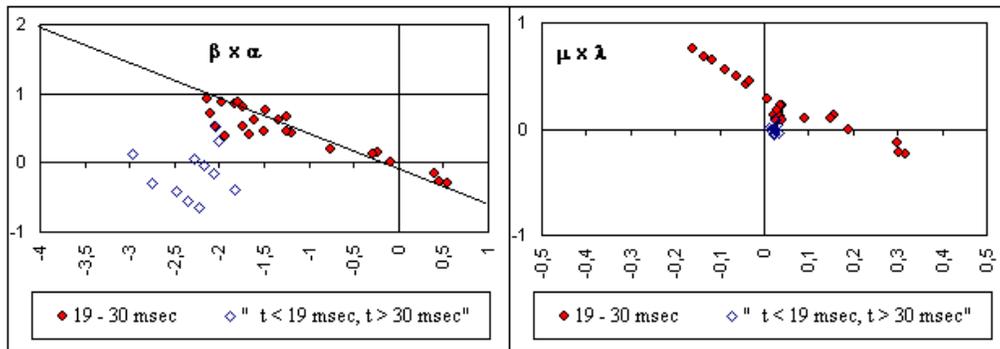


Figure 6-4. Relation entre les paramètres du CHAM et du modèle LDM, observée sur des données binaires de l'activité du cortex en réponse aux stimuli. **A** : En rouge, la relation entre β et α pendant la période la plus active ; les points tombent sur la ligne de transition de phase. En bleu, la même relation en dehors de la période d'activité. **B** : Relation entre les paramètres du modèle de diffusion pendant les mêmes périodes.

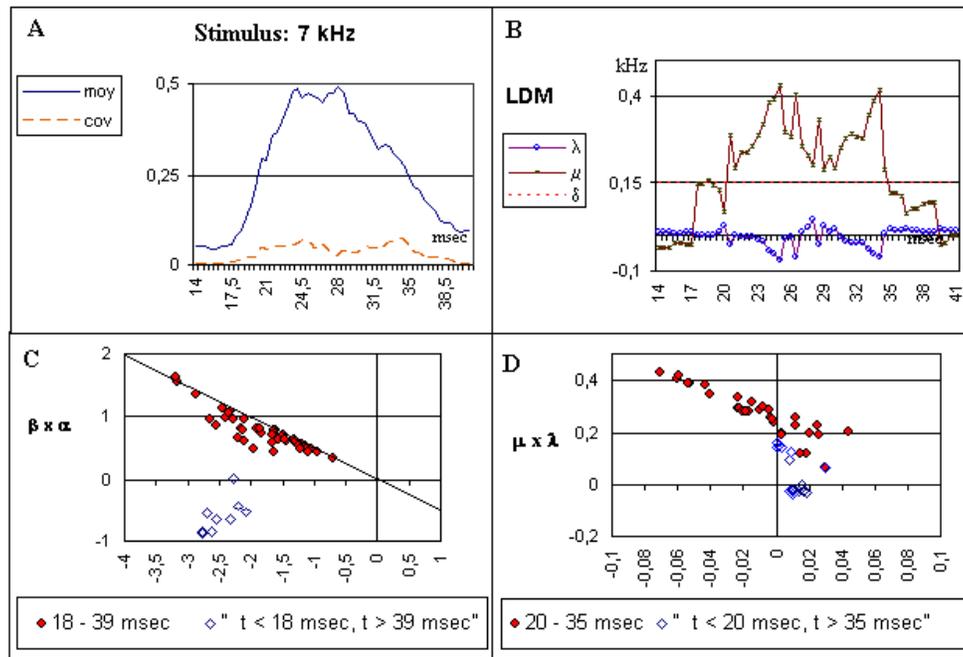


Figure 6-5. Analyse de l'activité multi-sites du cortex en réponse à un stimulus de 7 kHz. **A** : Activité moyenne et covariance spatiale. **B** : Evolution des paramètres du modèle de diffusion. **C et D** : Relation $\beta \times \alpha$ et $\mu \times \lambda$ pour des données binaires de l'activité du cortex en réponse à un stimulus de 7 kHz.

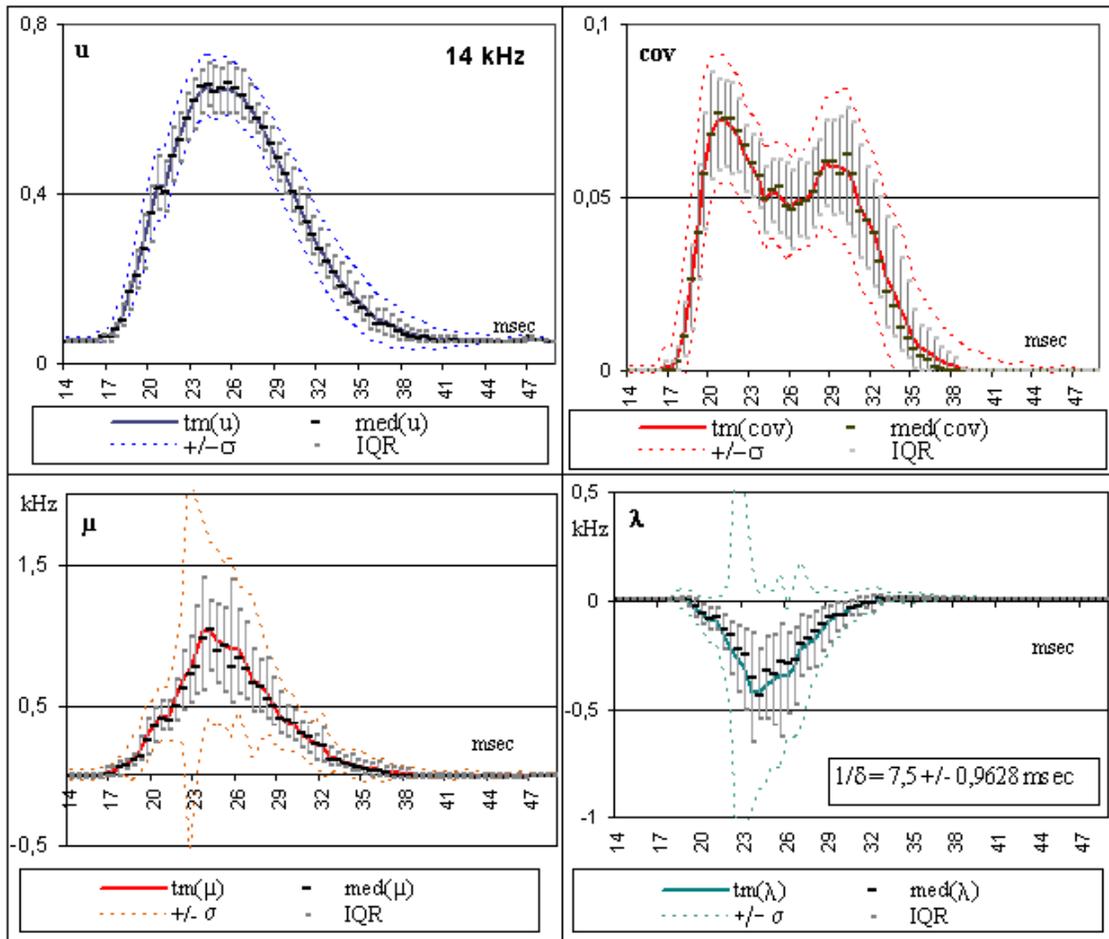


Figure 6-6. Statistiques descriptives de : l'activité moyenne (u), la covariance spatiale (cov), les paramètres de diffusion (μ) et d'innovation (λ) du modèle LDM, estimés pour des réponses corticales aux stimuli de 14 kHz ($N = 50$; tm = moyenne robuste par troncature des valeurs extrêmes, med = médiane, σ = écart type, IQR = Intervalle Interquartile).

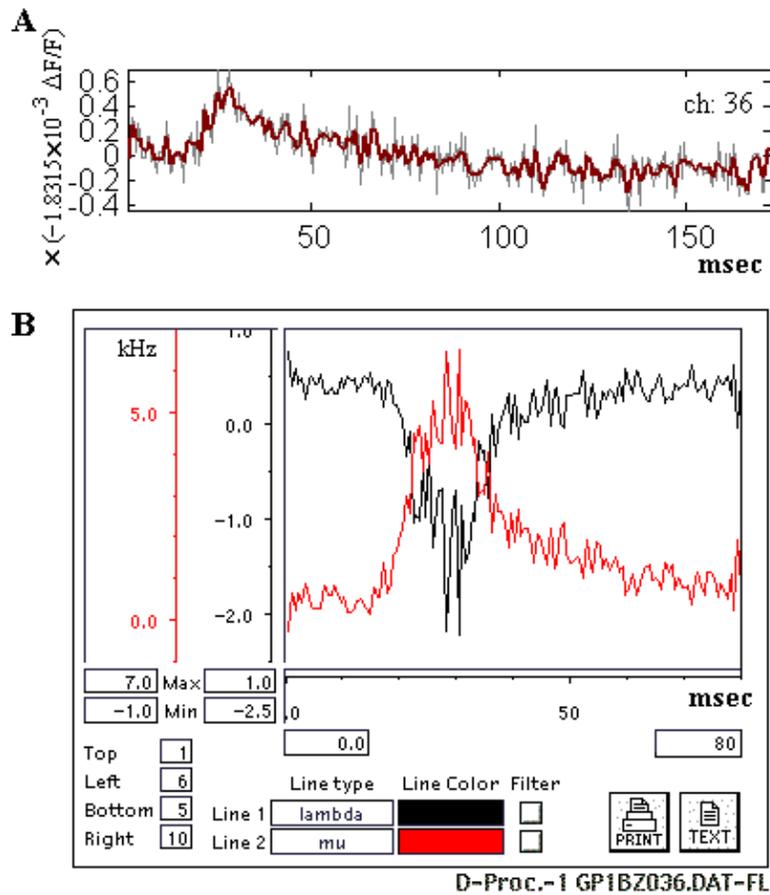


Figure 6-7. Modèle LDM pour un DPCEA obtenu lors de l'application d'une stimulation de 12 kHz et pour la 2^{ème} définition d'activité corticale (valeur instantanée du signal = probabilité d'activité neuronale dans le site observé). **A** : Signal observé sur un site de mesure quelconque pendant cette expérience. **B** : Evolution des paramètres estimés μ et λ pendant les premières 80 msec.

Des oscillations ont été aussi observées sur les paramètres du modèle LDM et sur ceux du champ aléatoire de Markov (CHAM), ils oscillent avec la même phase, et suivent les oscillations de la covariance spatiale (voir Figure 6-3). De plus, les oscillations des paramètres λ et μ ont des amplitudes symétriques, c'est-à-dire que les pics positifs de μ se produisent en même temps que les pics négatifs de λ , et inversement.

Cependant, les périodes des oscillations des paramètres sont assez différentes d'un enregistrement à l'autre. Par exemple, avec les mêmes types de données (stimuli à 7 kHz et à 14 kHz), François et al. (2000a,b) ont observé deux pics d'activité vers 26 et 34 msec pour une stimulation de 7 kHz, et vers 24 et 29 msec pour une stimulation de 14 kHz. Dans nos analyses, sur un nombre plus important de données, nous observons des instants d'activité maximale et minimale très différents, comme il est manifeste dans la Figure 6-3. Dans cet exemple, les deux pics du paramètre μ en réponse à un stimulus de 7 kHz, ainsi que la valeur minimale de ce paramètre, se produisent entre 4 et 6 msec plus tôt que ceux observés dans François et al. (2000a). Ces différences que l'on trouve dans la courbe du paramètre μ d'une expérience à l'autre se présentent aussi dans celle du paramètre λ .

De plus, dans plusieurs enregistrements nous n'observons pas d'oscillations (e.g., Figure 6-5-B). Les statistiques d'ensemble calculées sur un grand nombre d'enregistrements confirment ce manque de reproductibilité des courbes des paramètres du modèle LDM. Aucune oscillation n'est observée dans l'évolution de la moyenne d'ensemble de ces paramètres, et la variabilité d'un enregistrement à l'autre est très importante (voir Figure 6-6 μ et λ). Finalement, il faut noter aussi que l'amplitude des oscillations dépend de l'amplitude de l'activité moyenne (cp. Figure 6-5 et Figure 6-3).

Le manque de reproductibilité des résultats est probablement dû, en grande partie, aux erreurs lors de l'estimation des paramètres λ et μ . L'utilisation d'algorithmes plus précis, en particulier l'approche directe, peut diminuer ce problème. Cependant, il existe aussi une variabilité significative dans les courbes de covariance spatiale (voir Figure 6-6-cov). Cette variabilité provient nécessairement des données analysées (binaires), mais elle peut être due à la transformation par seuillage des données brutes. Il est toutefois intéressant de noter que les oscillations sont manifestes dans la covariance spatiale d'ensemble.

D'autre part, les valeurs de μ et β sont de manière générale positives, et celles de λ et α sont négatives. Ceci suggère que les interactions entre les populations neuronales observées dans les sites de mesure sont de nature excitatrice pendant les périodes d'activité en réponse aux stimuli, et que les innovations sont de nature inhibitrice. La symétrie dans l'amplitude des paramètres d'innovation et de diffusion correspond en fait à la pente négative des lignes de transition de phase, sur laquelle ces paramètres tombent pendant les périodes d'activité (voir Figure 6-4). Ceci a déjà été observé dans (François et al., 2000a) et a été interprété comme la signature de la compétition entre un processus d'innovation à caractère inhibiteur, d'origine inconnue, et un processus de diffusion intracortical. De plus, il a été suggéré que cette compétition est à l'origine des oscillations observées dans l'évolution des paramètres des modèles LDM et des potentiels de Gibbs.

Néanmoins, nous n'avons pas trouvé une explication satisfaisante à l'origine de ces oscillations. Il est clair qu'elles existent dans les données traitées par seuillage, mais il n'est pas certain

qu'elles soient dues à des effets de compétition, comme nous l'avons suggéré précédemment. De plus, la Figure 6-5 présente un autre exemple où les données tombent aussi sur la ligne de transition de phase, même si l'activité est assez faible, et où les oscillations ne sont pas clairement observables. Finalement, l'hypothèse d'une innovation à caractère inhibiteur est difficile à justifier. D'autres analyses sont nécessaires afin d'élucider au mieux ces problèmes.

6.4.4.2 *Analyse des données à valeurs réelles*

Les analyses réalisées sur des données non traitées par seuillage ne montrent pas le même type d'oscillations que dans le cas des données binaires (voir Figure 6-7). Les courbes des paramètres λ et μ présentent une forme très similaire à celle de la forme de l'activité moyenne. De plus, la forme de cette activité moyenne est très similaire à celle des réponses observées dans les sites les plus actifs. En fait, pendant les réponses aux stimuli d'une seule fréquence, l'activité est restreinte à un nombre très limité de sites de mesure, ce qui explique cette observation. Dans la Figure 6-7-A nous montrons l'activité d'un des sites de mesure les plus actifs, que l'on peut comparer à l'évolution des paramètres du modèle LDM dans la Figure 6-7-B. Cependant, ces analyses ont un caractère préliminaire et présentent des problèmes d'ordre pratique et théorique. D'abord, des problèmes d'estimation du signal dus au mauvais RSB, et puis, des problèmes par rapport à la justesse du modèle LDM pour la description des données non binaires. Ce dernier problème sera traité dans la discussion, section 6.5.2.

6.5 Discussion

Le but de l'étude présentée dans ce chapitre était de développer une méthodologie d'analyse de l'activité spatio-temporelle du cortex auditif en réponse aux stimuli, à partir de données issues de la technique d'imagerie optique par fluorescence potentiel-dépendante (VSDOI). Nous avons étudié plusieurs paradigmes de modélisation. Nous nous sommes en particulier intéressés à la modélisation statistique spatio-temporelle de l'activité des tissus neuronaux. Les données brutes ont été pré-traitées de façon à obtenir dans chaque site de mesure une représentation adéquate de l'activité du tissu neuronal dans ce site. Parmi les modèles étudiés, seul le modèle de diffusion (section 6.3.3) a été implémenté, et c'est à partir de celui-ci que nous avons analysé nos données. Il n'a pas été possible de réaliser d'autres analyses que nous avions planifiées pour des problèmes pratiques. Nous discuterons ensuite de points particuliers ayant trait à la problématique de modélisation.

6.5.1 *Modèles issus de la théorie des champs aléatoires et de la mécanique statistique pour analyser des signaux d'activité corticale*

L'utilisation du paradigme de la mécanique statistique est une approche courante pour la modélisation de l'activité neuronale. Les résultats obtenus par Hervé et al., dans l'analyse des trains de PA de réseaux de neurones simulés (Hervé et al., 1990a; Hervé et al., 1990b), et sur les signaux d'activité des populations de neurones du cortex piriforme *in vivo* (Litaudon et al., 1997), ainsi que ceux obtenus par Makarenko et al. dans l'analyse des trains de PA de neurones de Purkinje enregistrés *in vivo* (Makarenko et al., 1997), sont intéressants et méritent d'être étudiés plus en détail.

Dans l'approche la plus simple de la modélisation des données d'activité corticale *in vivo* par ce paradigme, il est courant de supposer que, sous l'effet de la stimulation, le réseau de neurones observé est sujet à l'action d'un champ aléatoire d'activation (ou d'inactivation) homogène, et que tous les sites de mesure répondent de la même manière à ce champ. Dans ce cas, nous pouvons représenter l'activité du cortex par un champ aléatoire simple, tel que le modèle d'Ising (proposé par Makarenko et al. (1997) pour représenter l'activité des cellules de Purkinje enregistrées *in vivo*). Ce modèle est par définition un modèle homogène dans l'espace, ce qui le rend compatible avec certaines caractéristiques du tissu cortical à l'échelle des unités fonctionnelles. Par exemple, le fait que le paramètre α soit invariable à travers la région étudiée correspond bien au fait que les neurones appartenant à une même unité fonctionnelle répondent à des champs réceptifs très similaires. En outre, cette homogénéité du champ incident est compatible avec le fait que les arbres dendritiques des neurones pyramidaux projettent leurs ramifications dans la direction tangentielle du cortex à travers le volume occupé par l'unité fonctionnelle (voir section 3.1.1), de manière que l'on puisse supposer que toutes les cellules observées reçoivent en moyenne la même information. Par contre, l'invariabilité du paramètre β indique que les variations d'intensité des interactions entre les neurones d'une même unité fonctionnelle sont supposées faibles. Ce manque de structure est caractéristique de plusieurs paradigmes de représentation du cortex, mais il est plus difficile à justifier par des arguments biologiques. Alternativement, on peut utiliser un modèle plus flexible tel que le modèle d'Ising stochastique, pour lequel les paramètres α_i et β_{ij} (où $i, j \in \mathbf{Z}^d$) sont des variables aléatoires à travers le réseau. Néanmoins, ce modèle est plus difficile à étudier, il est beaucoup moins connu que le modèle d'Ising déterministe, et on peut montrer qu'il ne présente pas de changement de phase pour $d < 3$ (Bovier & Picco, 1997).

Cependant, la restriction de ces modèles aux interactions de type « plus proches voisins » ne semble pas correspondre à la réalité physique du tissu cortical à cette échelle, puisque les projections de chaque neurone pyramidal sont typiquement très profuses, et les axones des neurones des couches superficielles du cortex font synapses avec les dendrites des neurones appartenant à d'autres unités fonctionnelles.

On peut modéliser l'activité corticale par un champ aléatoire markovien plus complexe avec des interactions variables dans l'espace (e.g., (Litaudon et al., 1997)). Par contre, même si cette approche est plus flexible et plus réaliste, les problèmes d'estimation des paramètres sont encore

plus importants que dans le cas du modèle d'Ising. Ces problèmes ont été résolus en partie par Hervé et al. (1990a,b) dans le cadre des simulations du nerf auditif et pour des trains de PA. Cependant, cette solution impose plusieurs conditions qui ne sont pas évidentes à remplir lorsque l'on traite des données expérimentales : une haute fréquence d'échantillonnage, la supposition que le système converge rapidement vers la mesure de Gibbs en réponse à un stimulus stationnaire, et des configurations locales restreintes à des sites voisins actifs simultanément (paires) et aux sites actifs isolés (singletons).

En outre, ces approches présentent d'autres inconvénients importants dans le cas qui nous occupe :

- *En premier lieu, ces modèles sont purement spatiaux :*

Un champ aléatoire est un objet purement statique, la mesure de Gibbs associée décrit l'état d'un système en équilibre d'échanges énergétiques, c'est-à-dire qu'elle décrit un système mort. Par contre, les tissus neuronaux sont des systèmes complexes, vivants, loin de l'équilibre.

La manière usuelle de résoudre ce problème est de réaliser l'estimation des paramètres sur une fenêtre de temps pendant laquelle le système est supposé en équilibre. Cependant, étant donné que, dans le cortex auditif, les événements synaptiques qui sont à l'origine des signaux observés présentent des dynamiques assez rapides, de l'ordre de 10 millisecondes, il est souhaitable d'incorporer la nature dynamique du signal dans le modèle.

- *Deuxièmement, il y a un problème d'échelle⁵ et de représentation des phénomènes neuronaux observés :*

Ces modèles décrivent un système de sites en interaction où chaque site fonctionne d'une manière relativement simple (i.e. la variable d'état locale est binaire dans le modèle d'Ising et restreinte à un nombre fini de valeurs discrètes dans le modèle de Potts), et où les interactions entre sites sont aussi relativement simples (i.e. symétriques, avec les plus proches voisins, etc).

La relative simplicité de ces modèles limite leur utilité dans la représentation de phénomènes neuronaux aux échelles qui nous intéressent dans cette étude (définies dans la section 3.1.2). Si nous étions intéressés par l'analyse de phénomènes qui se produisent à l'échelle d'une colonne corticale, à partir des phénomènes qui se produisent à une échelle microscopique représentée par le neurone, c'est-à-dire à partir des trains de PA, on pourrait justifier l'utilisation du paradigme de la mécanique statistique pour modéliser ces données. Néanmoins, nous voulons étudier l'activité corticale à l'échelle des aires

⁵ La région étudiée dans ce travail correspond à peu près à la taille d'une aire fonctionnelle, c'est-à-dire qu'elle comprend environ 10^6 neurones, correspondant à quelques centaines de colonnes et à plusieurs milliers de minicolonnes. D'autre part, chaque site observé comprend un nombre relativement élevé de neurones, de l'ordre de 10^1 à 10^2 minicolonnes, chaque minicolonne ayant environ une centaine de neurones. Voir le chapitre 3 pour une description plus précise de l'anatomie du cortex auditif et une définition des diverses échelles d'étude.

fonctionnelles, où l'échelle microscopique correspond à celle des mini-colonnes ou des colonnes. En ce dernier cas, ce paradigme de modélisation est plus difficile à justifier.

Dans le premier cas, les neurones sont censés appartenir à une même unité fonctionnelle, leurs champs réceptifs sont très similaires et la plupart des interactions sont restreintes au volume occupé par la colonne. Ainsi, cette approche est valable dans l'étude des réseaux de neurones artificiels stochastiques complexes du style « synfire chains » (e.g., (Bienenstock, 1995)), ou d'autres modèles plus simples comme celui de Hopfield, qui sont censés modéliser le fonctionnement des groupes de neurones appartenant à une même unité fonctionnelle corticale (Hopfield, 1982).

Par contre, dans le deuxième cas, l'architecture du tissu cortical observé par les photodétecteurs est beaucoup plus complexe et hétérogène. Chaque site comprend des centaines de mini-colonnes avec des champs réceptifs et des fonctionnalités différentes (voir sections 3.1.1 et 3.1.2), et la zone observée comprend plusieurs colonnes qui appartiennent parfois à des aires fonctionnelles différentes. A cette échelle, nous ne sommes pas en train d'observer dans chaque site de mesure des trains de PA de neurones isolés, mais l'activité intégrée des populations de milliers de neurones qui interagissent de manière complexe, tant localement qu'avec d'autres populations voisines ou lointaines.

Tandis que les modèles de la mécanique statistique ont été proposés pour étudier l'émergence des propriétés macroscopiques complexes à partir des propriétés plus simples observées à des échelles microscopiques, et ceci pour des matériaux inertes et homogènes dans l'espace, nous nous intéressons pour notre part aux propriétés complexes d'un tissu vivant et structuré, à des échelles macroscopiques et mésoscopiques grossières à partir des observations des activités à des échelles mésoscopiques fines, elles aussi relativement complexes.

A ces échelles, le tissu neuronal présente un aspect structuré et ne peut pas être toujours représenté par des modèles homogènes dans l'espace. De plus, l'activité de chaque site ne peut pas être facilement assimilée à celle d'une simple particule. Par exemple, la rétro-alimentation entre couches de neurones, typique de plusieurs architectures de réseaux de neurones biologiques, et caractéristique du tissu cortical, n'est pas décrite de manière explicite dans ce type de modèle. Ces interactions locales peuvent introduire des dynamiques locales complexes (e.g., voir (Favorov & Kelly, 1996; Stoop et al., 2001; Stoop et al., 2000)) qui ne peuvent pas être réduites de manière simple et unique à un comportement binaire ou à une évolution sur un nombre fini et restreint d'états discrets.

- *Troisièmement, le nombre de données est trop faible :*

Les théories des champs aléatoires et de la mécanique statistique se basent sur l'existence d'un nombre fini mais très grand d'éléments composant l'objet observé, ce qui permet de rapprocher les systèmes étudiés des systèmes infinis, pour lesquels la théorie reproduit les phénomènes macroscopiques observés dans les systèmes physiques réels (e.g., changements de phase) (Bovier, 2001).

Par contre, nos données étaient enregistrées sur un nombre relativement restreint de sites d'observation (soit 12*12 photodiodes, soit 32 microélectrodes, selon la technique de mesure utilisée). Ceci pose évidemment des problèmes pour les procédures statistiques. De plus, d'un point de vue purement théorique, un champ aléatoire défini sur un ensemble fini de sites ne reproduit pas les changements de phase que la physique statistique est censée étudier (Bovier, 2001).

Ce problème pourra éventuellement être atténué avec les nouvelles techniques d'enregistrement optique qui permettent d'enregistrer l'activité de beaucoup plus de sites (voir Shoham et al. (1999)).

- *Enfin, il y a un problème d'interprétation des paramètres :*

Même si les paramètres de ces modèles ont une interprétation physique très claire dans le cas du ferromagnétisme, leur interprétation dans le contexte biologique n'est pas évidente. En plus, les problèmes mentionnés auparavant rendent encore plus complexe cette interprétation.

En conclusion, on peut difficilement justifier, du point de vue de la fonction et de la physiologie du cortex, l'utilisation de ce type de modèle pour décrire et analyser l'activité corticale enregistrée *in vivo* à des échelles mésoscopiques. Néanmoins, cette approche peut être utile pour caractériser les patterns spatio-temporels d'activité corticale en réponse aux stimuli, mais ceci dans un contexte purement technologique, où l'on ne s'intéresse pas à l'interprétation des paramètres en termes d'activité neuronale sous-jacente.

6.5.2 Modèle de diffusion

Le modèle de diffusion (LDM) proposé par Francois et al. (2000a) présente, en principe, certains avantages par rapport aux champs aléatoires dans l'analyse des données d'activité neuronale. Premièrement, ses paramètres sont facilement estimés à partir des données expérimentales. Deuxièmement, si la définition d'activité dans chaque site est adéquate, les paramètres estimés sont interprétables en termes de fréquences d'activation (inactivation). Troisièmement, le modèle LDM est par définition un modèle dynamique, au contraire des champs aléatoires purement statiques.

Néanmoins, à partir des résultats obtenus avec le modèle de diffusion (sections 6.4.4.1 et 6.4.4.2), nous nous sommes posé quelques questions sur la validité de cette approche pour analyser les signaux $L_{\Delta F/F}$, sur la validité des résultats et sur leur interprétation :

1. Que mesure-t-on réellement avec la technique optique aux résolutions temporelle et spatiale utilisées (0.576 msec, $\sim (250\mu\text{m} \times 250\mu\text{m})/\text{pixel}$) ? C'est-à-dire, quels sont les phénomènes neuronaux que l'on observe, et de quelle manière se manifestent-ils dans le signal $L_{\Delta F/F}$?

2. A partir de la réponse à la question 1 : les définitions d'activité d'un site que nous avons proposées sont-elles adéquates pour ce type de données et de modélisation ? Sinon, comment définir l'activité d'un site ?
3. Comment interpréter les paramètres δ , λ , et μ d'un point de vue physiologique, selon les différentes manières d'implémenter le modèle ?
4. Le modèle de diffusion représente-t-il de façon adéquate l'activité spatio-temporelle du cortex à cette échelle et dans ce système biologique ? Sinon, existe-t-il un modèle plus adapté ?

Ces questions nous ont amenés à mieux étudier l'organisation et la physiologie du cortex à l'échelle observée avec la méthode optique, et les relations entre le signal mesuré et les phénomènes neuronaux sous-jacents. Cette étude a été présentée dans le chapitre 3. La première et la deuxième question ont été partiellement élucidées dans ce chapitre (voir section 3.2 et 3.3). Nous allons maintenant développer ces points.

Définition d'activité d'un site et interprétation des paramètres :

Nous avons déjà discuté dans la section 3.3 de la définition de l'activité neuronale dans un site de mesure. Nous allons reprendre ici la discussion et étudier quelques points importants en lien avec ce problème.

- *1^{ère} définition d'activité :*

Même si la définition de l'activité binaire d'un site, proposée dans la section 6.4.1 s'adapte directement au modèle de diffusion, et même si le processus binaire spatio-temporel ainsi construit peut effectivement être caractérisé par l'évolution des paramètres du modèle de diffusion, l'interprétation de ces résultats au niveau physiologique n'est pas si évidente.

Tout d'abord, parce que nous avons un problème avec la définition de la fonction seuil. Nous n'avons pas de moyen adéquat pour définir un seuil unique qui permette une interprétation physiologique claire de l'activité d'un site (voir section 3.3).

De plus, les instants précis du début, sommet et fin d'activité ne sont pas faciles à estimer pour un seuil donné, à cause principalement de la mauvaise qualité du signal optique. Cette approche nécessite un lissage préalable du signal optique ou un algorithme d'estimation régularisé. Dans un premier temps, nous avons utilisé une simple moyenne d'ensemble, mais celle-ci n'est pas une approche optimale pour traiter ce type de signal (voir section 4.3.1). D'autres algorithmes (décrits dans le chapitre 4) ont été implémentés, mais les résultats ne sont pas très robustes à cause du très mauvais RSB des signaux. Ces erreurs d'estimation des intervalles d'activité peuvent être à l'origine des différences importantes que l'on observe dans l'évolution des paramètres du modèle de diffusion d'un enregistrement à l'autre (voir Figure 6-6, λ et μ).

D'autre part, nous avons vu dans la section 3.3.1.1 que cette définition d'activité n'a de sens que si l'animal est anesthésié, puisque quand l'animal n'est pas anesthésié la réponse du cortex aux stimuli est beaucoup plus complexe (voir section 3.1.3.8). En ce dernier cas, aucun lien direct ne peut être établi entre la définition binaire d'activité et les phénomènes physiologiques qui sont à l'origine du signal. De plus, même si l'animal est anesthésié, cette définition d'activité pose des problèmes d'interprétation. En effet, étant donné que la « fonction de transfert » des populations neuronales observées tend vers zéro quand l'animal est anesthésié (voir 3.3.1.1), l'activité ainsi définie décrit l'activité subcorticale, afférente, plutôt que l'activité du cortex lui-même. Ceci a été expliqué dans les sections 3.2 et 3.3.1.

En outre, cette définition d'activité suppose que la forme de la réponse évoquée dans chaque site de mesure soit toujours similaire : une forme régulière, avec une seule dépolarisation suivie d'une repolarisation. Dans le cas de la réponse à un stimulus mono-tonal de courte durée, comme celle que nous avons étudiée dans ce chapitre, la forme des signaux semble être bien décrite de cette manière. Néanmoins, en réalité, cette forme varie selon le stimulus et selon la localisation spatiale du site. En particulier, dans le cas de la réponse du cortex à un stimulus FM, le signal observé dans un seul site de mesure peut présenter une forme plus complexe, avec une séquence de dépolarisations d'amplitudes et de durées différentes (e.g., voir Figure 5-13), et ne peut pas être décrit d'une manière aussi simple que dans le cas mono-tonal.

Finalement, dans ce cas, nous n'avons pas trouvé une manière claire d'interpréter les valeurs de λ et de μ en fonction des activités physiologiques.

En conclusion, même si l'évolution des paramètres λ et μ peut servir effectivement à résumer et caractériser les patterns spatio-temporels observés sur les images binaires construites par seuillage, cette façon de définir l'activité d'un site n'est ni précise, ni représentative des phénomènes neuronaux que l'on veut étudier. Cette implémentation du modèle peut donc avoir éventuellement une application technologique, mais son utilité pour l'étude de la fonction du cortex est discutable.

- *2^{ème} définition d'activité :*

Nous avons déjà discuté dans la section 3.3.1.2 cette manière de caractériser le signal observé dans un site de mesure. Nous allons discuter d'autres aspects de cette approche en prenant en compte l'aspect spatial du problème.

Comme nous l'avons vu, sous certaines conditions (e.g., anesthésie), nous pouvons supposer que le signal de fluorescence a une relation simple avec l'intensité de l'arrivée des potentiels d'action à la population neuronale observée par chaque photo-détecteur (voir section 3.2.2.2). Dans ce cas, le niveau d'activité peut donc être défini par la valeur instantanée du signal lui-même ou selon une fonction monotone croissante de cette valeur. Dans la section 6.4.2.2 nous avons donc assimilé la valeur instantanée du signal à la probabilité d'arrivée des PA à chaque instant, après avoir normalisé les signaux d'une manière appropriée (e.g. ; par rapport à la valeur maximale et minimale espérée de son amplitude).

Une manière plus précise de définir cette probabilité nécessite la déconvolution du signal, de manière à obtenir l'intensité du processus d'arrivée de PA à la zone observée. A partir de cette intensité, il est en principe possible d'estimer la probabilité d'arrivée de PA à chaque instant (voir section 3.3.1.2). L'activité définie de cette manière décrit clairement les phénomènes observés, contrairement au cas précédent.

Supposons que nous pouvons transformer le signal de cette manière, et obtenir un nouveau signal qui représente la variation de la probabilité d'arrivée de PA au volume observé. Etant donné que dans la définition du modèle de diffusion les sites prennent des valeurs binaires et non des valeurs réelles, la question qui nous intéresse est de savoir si cette manière de définir l'activité d'un site est compatible avec le modèle de diffusion. Par la suite, nous allons essayer de répondre à cette question.

Nous supposons un processus spatio-temporel $\{\mathbf{X}_t; t \geq 0\}$ à valeurs dans \mathbb{R}^{Λ_s} , défini sur un sous-espace $\Lambda_s \subset \mathbf{Z}^2$ de sites de mesure. Les images M_k représentent la valeur de ce processus aux temps t_k , où l'on suppose que le processus a convergé à un état stationnaire. On suppose, comme avant, que les paramètres du modèle changent aux temps $\{t_k\}$. La valeur du paramètre δ peut être définie constante, comme la durée d'un PA. Ainsi, les paramètres du modèle peuvent être clairement interprétés d'un point de vue biologique.

Comme nous voulons décrire l'activité corticale, nous pouvons supposer l'existence d'un processus spatio-temporel $\{\Xi_t; t \geq 0\}$ à valeurs dans $\{0,1\}^{\Lambda_0}$, défini sur un sous-espace $\Lambda_0 \subset \mathbf{Z}^2$ d'une résolution très fine, beaucoup plus fine que celle du processus observé. Ce processus représenterait dans notre cas l'activité neuronale à l'échelle microscopique (la distribution spatio-temporelle de trains de PA) qui n'est pas observable directement. Si les covariances spatiales de ce processus à échelle microscopique sont petites, nous pouvons l'approcher par son équation de champ moyen (Equation 6-1). Etant donné que l'équation de champ moyen s'exprime en fonction de la probabilité d'activité dans chaque site n , et que les covariances sont faibles, on peut estimer cette probabilité dans chaque site par la moyenne empirique de l'activité, calculée avec les valeurs d'activité du site et des sites voisins ($\hat{u}_n = (1/|V_n|)\sum_{m \in V_n}(\xi_m)$), ou par convolution avec un noyau approprié ($\hat{u}_n = (1/C)(\phi * \Xi_t)(n)$), où le noyau ϕ est la réponse impulsionnelle d'un filtre passe-bas spatial, C est une constante de normalisation, $n \in \Lambda_0$, et $V_n \subset \Lambda_0$. Dans notre cas, ce filtre passe-bas représente l'intégration spatiale de l'activité microscopique réalisée par les photodétecteurs.

Néanmoins, il faut prendre en compte que le sous-espace Λ_s se situe à une échelle différente de celle de Λ_0 , l'activité corticale est observée à une résolution beaucoup plus grossière que celle de Λ_0 . Ceci peut être compris dans le cadre d'une analyse multirésolution (voir Annexe 2, section 9.9) : la transduction réalisée par les photodétecteurs peut être interprétée comme la projection du processus Ξ_t sur un ensemble de fonctions $\{\phi_{s,p,q}\}_{(p,q) \in \Lambda_s}$. Si cet ensemble est une base de Riesz pour le sous-espace Λ_s (e.g., de la forme : $\phi_{s,p,q}(x,y) = 2^s \phi(2^s x - p, 2^s y - q)$, où $p,q \in \mathbf{Z}$) nous aurons donc une approximation du processus Ξ_t à l'échelle s . De cette manière nous obtenons un nouveau processus spatio-temporel $\{\mathbf{U}_t^s; t \geq 0\}$ à valeurs dans $[0,1]^{\Lambda_s}$, mais défini sur une grille sous-échantillonnée ($\Lambda_s \subset \Lambda_0 \subset \mathbf{Z}^2$).

Si l'hypothèse de faible covariance se vérifie à l'échelle microscopique, nous pouvons donc interpréter le signal de fluorescence multi-sites, après débruitage, et après déconvolution et normalisation d'amplitude, comme les valeurs du processus U_t^s aux instants $\{t_k\}$, dont la valeur instantanée dans chaque site de mesure correspond à la probabilité d'activité d'un groupe de neurones observés par chaque photodétecteur, c'est-à-dire $X_t = U_t^s$.

Ainsi, nous pouvons imaginer qu'il serait possible d'utiliser la même technique d'estimation par champ moyen pour analyser les signaux originaux directement, à condition d'éliminer le bruit des instruments et de normaliser les signaux par rapport à une activité maximale.

Néanmoins, plusieurs problèmes nous empêchent encore de justifier l'utilisation du modèle de diffusion dans ce cas. Tout d'abord, nous avons fait un changement d'échelle important, et la justification du calcul du paramètre λ et μ par l'Equation 6-3 à l'échelle du processus X_t n'est plus évidente, et nous amène à des contradictions : l'hypothèse de faible covariance à l'échelle du processus Ξ_t impliquerait qu'à l'échelle du processus X_t la diffusion entre les sites soit négligeable. Au contraire, si la diffusion entre sites voisins à l'échelle du processus X_t n'est pas négligeable, la covariance spatiale à l'échelle du processus Ξ_t ne peut plus être faible. Ainsi, nous ne pouvons pas justifier, de cette manière, l'utilisation du modèle de diffusion avec cette définition d'activité.

Il est nécessaire de mieux étudier ce problème si l'on veut donner une interprétation claire des résultats des analyses réalisées avec cette implémentation du modèle.

- *3^{ème} définition d'activité :*

La troisième manière que nous avons proposée pour caractériser le signal de fluorescence consistait à détecter des événements de synchronie locale, ou événements unitaires (UE), et à définir l'activité d'un site par rapport à la localisation, l'amplitude et la dispersion de ces UE. Cependant, ce type d'évènement a rarement été observé dans nos données, et nous n'avons pas pu réaliser des études sur la distribution spatio-temporelle des UE.

Cette approche, où l'on définit l'activité d'un site par rapport à la synchronie des PA arrivant aux synapses contenues dans ce site, se base sur deux hypothèses. Tout d'abord, que les événements de synchronie locale ont une relation avec la représentation de l'information sensorielle ou mentale dans le cortex ; plus précisément, que ces événements sont corrélés aux mécanismes de liaison entre diverses caractéristiques des objets sensoriels. Ensuite, que cette activité synchrone est observable, détectable, et caractérisable, sur des signaux $L_{\Delta F/F}$ ou LFP.

Nous avons montré dans le chapitre 3 plusieurs arguments théoriques et expérimentaux qui soutiennent la première hypothèse (voir sections 3.1.3.5 et 3.3). Par contre, nous avons moins d'arguments pour soutenir la deuxième hypothèse, et il se peut que ces événements soient imperceptibles dans les signaux $L_{\Delta F/F}$, tout d'abord, parce que la synchronie de l'activité neuronale n'est pas nécessairement corrélée aux variations du taux de PA observées sur toute une population (Steinmetz et al., 2000), puis, parce que les variations du potentiel de membrane liées aux événements synchrones peuvent être trop faibles pour être détectées avec la technique optique. Etant donné que nos données sont très bruitées, et que

nous n'avons pas une technique de mesure alternative, nous ne pouvons pas assurer que les fluctuations observées dans le signal aient une origine neuronale.

De plus, il faut tenir compte du fait que les événements de synchronie locale se produisent plus fréquemment pendant des périodes d'éveil, qui sont souvent accompagnées par des variations oscillatoires des LFP dans la bande γ (Fetz et al., 2000). La rareté des UE détectés dans nos données peut être expliquée par le fait que les expériences ont été réalisées sur des animaux anesthésiés, et que l'activité oscillatoire semble être moins fréquente sous ces circonstances (Fetz et al., 2000; Herculano-Houzel et al., 1999). Il faut noter cependant que l'activité synchrone locale ne doit pas nécessairement se produire de manière oscillatoire, et il existe l'hypothèse selon laquelle l'activité oscillatoire reflète des mécanismes attentionnels plutôt que de représentation d'information (Fetz et al., 2000).

Nous pouvons conclure par rapport à ce sujet, que même si cette définition de l'activité d'un site est compatible avec nos connaissances sur la physiologie et la fonction du cortex, les conditions expérimentales de notre étude n'étaient pas des plus favorables pour l'observation des UE.

Validité du modèle de diffusion pour la modélisation de l'activité du cortex auditif

Comme dans le cas des champs aléatoires, le modèle de diffusion est plus adapté à la modélisation de l'activité neuronale dans une seule unité fonctionnelle du cortex qu'à la modélisation de l'activité corticale à des échelles mésoscopiques. En plus de la difficulté que nous avons eu à définir l'activité d'un site de manière à ce que les résultats soient interprétables d'un point de vue physiologique et fonctionnel, il faut tenir compte des problèmes liés à l'hétérogénéité spatiale du processus d'arrivée des PA à la zone observée, ainsi que des problèmes liés à la structure du cortex à ces échelles.

L'hétérogénéité spatiale du processus d'arrivée des PA provient, en premier lieu, du fait que le cortex auditif présente une structure anatomo-fonctionnelle qui est modulaire et parallèle, structure imposée par les projections thalamo-corticales et cortico-corticales afférentes (section 3.1.1). Ainsi, avec la résolution spatiale utilisée dans cette étude, on peut imaginer que dans chaque site de mesure on observe l'activité intégrée de plusieurs mini-colonnes de champs réceptifs et fonctions différentes, et forcément ces différences existent aussi d'un site de mesure à l'autre. En second lieu, l'homogénéité du processus d'innovation dépend du stimulus. En particulier, lors de la stimulation par des sons mono-tonaux et FM, seulement un nombre très limité de projections thalamo-corticales sont activées. Ainsi, étant donné que les unités fonctionnelles situées dans chaque site de mesure répondent à des champs réceptifs différents, et que les stimuli utilisés dans cette étude présentent des caractéristiques assez simples, le processus d'innovation produit par ce type de stimuli est intrinsèquement hétérogène.

Ceci est immédiatement observé dans la structure de la distribution spatio-temporelle du potentiel de membrane observé sur le cortex, en réponse aux stimuli mono-tonaux et FM, lors des enregistrements réalisés sous anesthésie. Étant donné que les signaux $L_{\Delta F/F}$, enregistrés sous anesthésie, représentent principalement l'activité postsynaptique dans chaque site de

mesure, le fait que les variations de potentiel de membrane soient localisées sur les « bandes » d'isofréquence reflèterait tout simplement la structure (anatomo-fonctionnelle) tonotopique de la division ventrale du corps genouillé médian (voir section 3.1.1.2), plutôt que le résultat d'une quelconque activité coopérative intracorticale.

D'autre part, il faut tenir compte de la connectivité du cortex auditif à l'échelle à laquelle nous l'étudions dans ce travail. Le modèle de diffusion suppose que l'activité des voisins augmente la probabilité d'activation d'un site quelconque, et ceci de manière isotrope. Cependant, ceci ne semble pas être le cas pour le cortex auditif. Tout d'abord, parce que la connectivité du cortex auditif est intrinsèquement anisotrope. Il existe des connexions excitatrices (dépendantes des récepteurs AMPA) à longue distance, mais uniquement dans le sens des bandes d'isofréquence. D'autre part, on pense qu'il existe des interactions excitatrices à travers différentes bandes d'isofréquence et à travers différentes aires (A et DC), dépendantes principalement des récepteurs NMDA, même si nous n'avons trouvé dans la littérature aucune preuve de l'existence physique de connexions intracorticales qui supportent ce type d'interaction. Cependant, ce dernier type d'interactions ne supporte pas le concept de diffusion d'information à cause de la fonction potentiel-dépendante du récepteur NMDA. Ce type d'interaction aurait plutôt un effet multiplicateur et synchronisateur des réponses de chaque module fonctionnel (voir sections 3.1.1.2 et 3.1.3.7).

Un autre point important à discuter est le fait que nous avons obtenu des mesures provenant des différentes aires corticales, parmi lesquelles les plus importantes sont les aires A1 et DC (section 3.1.1). Ces aires correspondent très probablement à deux chemins différents et parallèles de traitement de l'information auditive. En fait, l'aire DC correspond très probablement à l'aire R observée dans les singes Rhésus, selon des descriptions anatomiques et fonctionnelles récentes sur ce dernier animal (e.g., Rauschecker (1998), Rauschecker & Tian (2000)). Le fait que l'activité de l'aire R ne change pas avec la destruction de l'aire A1 par lésion montre que les fonctions de ces deux aires sont indépendantes, et les dernières hypothèses sur le fonctionnement du cortex suggèrent qu'elles sont complémentaires (Grossberg, 2000).

Ce cadre anatomo-fonctionnel n'est pas compatible avec le modèle LDM ou les champs aléatoires, puisque ces modèles ont été proposés pour la description des phénomènes spatio-temporels qui se produisent sur des substrats et sous l'action de champs homogènes.

Problèmes d'estimation des paramètres :

Finalement, étant donné que le modèle LDM est une approche relativement récente de la modélisation de l'activité neuronale, les premiers algorithmes d'estimation développés, en particulier l'approche indirecte (section 6.3.3.2.1) que nous avons utilisée dans cette étude, sont peu précis. Pour des études futures, l'approche directe (section 6.3.3.2.3) pourrait donner des résultats moins biaisés.

6.5.3 Perspectives sur la modélisation et l'analyse de l'activité corticale observée en multiples sites

Dans cette étude nous avons abordé principalement les techniques d'analyse de données binaires à travers des modèles spatio-temporels relativement simples. Cependant, nous avons vu postérieurement que ces modèles sont construits selon des hypothèses peu réalistes pour la description de l'activité corticale observée sur des sites multiples et à des échelles mésoscopiques. Tout d'abord, on a supposé que l'activité du tissu cortical sous les sites de mesure peut être facilement simplifiée à des variables binaires. Ensuite, on a supposé que les interactions entre les populations neuronales du cortex sont restreintes à des courtes distances et à des effets additifs. Finalement on a supposé une homogénéité tant dans la connectivité que dans le processus d'innovation (ou champ incident) auquel le tissu est soumis.

Nous avons montré qu'aucune de ces hypothèses n'est facilement vérifiable dans le cas qui nous occupe. Par conséquent, il faudrait modifier ces modèles de manière à mieux décrire l'activité du cortex, ou aborder d'autres approches de la modélisation. Selon les points évoqués précédemment, nous pouvons énoncer quelques sujets qu'il faudra étudier lors d'une future modélisation en vue de l'analyse de l'activité électrique du néocortex observé en sites multiples à des échelles mésoscopiques.

Modélisation de l'activité postsynaptique de populations de neurones :

Tout d'abord nous devons prendre en compte que les signaux que l'on veut modéliser représentent chacun la somme d'activités postsynaptiques d'une population de milliers de neurones qui sont contenus dans le volume observé par chaque photodétecteur. D'autre part, nous avons vu qu'une relation simple entre cette activité postsynaptique et l'intensité des PA incidents existe sous des conditions d'anesthésie profonde, où l'activité synaptique excitatoire ne dépend que des récepteurs non-NMDA. Néanmoins, cette condition est assez restrictive, au moins dans le cas du cortex auditif où l'activité synaptique dépendante du récepteur NMDA en absence d'anesthésie est significative, et où des phénomènes complexes peuvent avoir lieu (voir 3.1.3.6). En conséquence, lors des enregistrements in-vivo et sous anesthésie légère ou sans anesthésie, on pourra difficilement récupérer le processus de PA incident, et les signaux observés peuvent être très complexes.

On peut imaginer plusieurs manières de modéliser ces données. La plus simple est, peut être, d'utiliser des modèles spatio-temporels généraux, non spécifiques à l'activité du cortex (e.g., Stroud et al. (1999), Wickle et al. (1998)). Néanmoins, il peut être difficile d'interpréter les paramètres de ces modèles en fonction de la physiologie et de la fonction du cortex. Une autre possibilité est l'approche synergétique (Friedrich et al., 1998; Haken, 1978), qui a été utilisée dans le cadre de l'analyse de la dynamique des distributions spatiales d'activité cérébrale à partir des mesures macroscopiques (EEG, PE) (Haken, 1996; Uhl, 1999). Cette approche présente l'avantage, par rapport aux modèles LDM et aux champs aléatoires, de permettre

l'analyse de variables réelles, et non binaires, et que l'on peut prendre en compte des interactions complexes.

On peut aussi essayer d'aborder le problème avec des modèles spécifiques à l'activité des populations neuronales, qui permettent de décrire de manière plus précise les mécanismes d'activation et d'interaction des ensembles neuronaux (Nykamp & Tranchina, 2001; Omurtag et al., 2000). Par exemple, dans ce même ordre d'idées, Tuckwell et Chawla se sont intéressés à l'analyse des mesures macroscopiques de l'activité du cerveau (Chawla et al., 1999; Chawla et al., 2000; Tuckwell, 2000). Néanmoins, la complexité de ce type de modèle peut limiter son utilité dans le cadre de l'analyse des mesures multi-sites.

Finalement, on peut imaginer un modèle structuré et simplifié de la fonction du cortex à l'échelle des mini colonnes, similaire à l'approche proposée dans (Shaw et al., 1985), où une transformation simple du signal observé dans chaque site de mesure représenterait l'activité d'une mini-colonne, et où l'on représenterait de façon simplifiée les interactions entre mini-colonnes. Ces modèles ont été utilisés dans le cadre de la computation artificielle ; il reste à imaginer la manière de l'implémenter dans le cadre de l'analyse des signaux d'activité corticale réelle.

Modélisation des entrées et des interactions complexes, et échelle d'observation :

Comme nous l'avons déjà mentionné, les signaux que l'on a analysé lors de cette étude reflètent l'activité intégrée des groupes de neurones, où l'échelle d'intégration est proche de l'échelle correspondant aux unités anatomiques et fonctionnelles du cortex, les colonnes et mini-colonnes. Ainsi, on serait en train d'observer l'activité de réseaux de mini-colonnes, plutôt que l'activité de réseaux de neurones. Cette différence d'échelle implique des différences importantes par rapport à la modélisation.

Lors de futurs travaux de modélisation, il faudra tenir compte de l'existence d'interactions complexes, locales et non locales à ces échelles. Par exemple, l'existence des boucles de rétro-alimentation locale, dans une même mini-colonne, qui peuvent expliquer l'existence de phénomènes oscillatoires locaux (voir section 3.1.6.4). Ainsi, dans un modèle plus réaliste, chaque site pourrait avoir un nombre limité d'états parmi lesquels des états oscillatoires. Le nombre d'états et les types d'oscillations pourraient être obtenus à partir des simulations de l'activité des minicolonnes (e.g., Favorov & Kelly (1996)), ou à partir des mesures expérimentales à l'échelle microscopique.

Aussi, il faut tenir compte des interactions non locales complexes. Rappelons que les connexions excitatrices horizontales des couches imagées (II et III) du cortex auditif terminent en général sur des récepteurs NMDA, au contraire des synapses des projections thalamo-corticales qui dépendent principalement des récepteurs non-NMDA. Ces récepteurs possèdent une caractéristique très importante : si la cellule réceptrice est inactive, de manière à ce que la membrane soit au potentiel de repos, le récepteur NMDA ne fonctionne pas à cause d'un blocage ionique de magnésium. Ce blocage diminue avec la dépolarisation de la cellule. Grâce à ce mécanisme, le récepteur NMDA est potentiel-dépendant, et cette dépendance implique que la

fonction des connexions excitatrices horizontales est multiplicative plutôt qu'additive (voir sections 3.1.3.6 et 3.1.3.7).

Une des fonctions des interactions excitatrices horizontales serait donc de "faciliter" le transfert d'information « verticale » provenant des champs réceptifs, sans que l'information "horizontale" ne soit transférée à la sortie de la mini-colonne quand le champ réceptif est inactif. Plusieurs auteurs proposent que cette connexion a pour rôle de donner un "contexte" au transfert d'information. Une autre fonction de ce type d'interaction serait de synchroniser les activités des sites distants, de manière à ce que l'information sur un stimulus puisse être reconstruite à partir de ses caractéristiques, qui seraient traitées de manière distribuée par les mini-colonnes. Selon ce paradigme, chaque mini-colonne serait un seul processeur qui traite un point de l'espace des paramètres à analyser (fréquence, intensité, etc), et elle serait inactive quand son champ réceptif n'est pas stimulé, c'est à dire, qu'elle ne « sentirait » pas l'activité des mini-colonnes voisines, mais qu'elle « saurait » quand d'autres mini-colonnes seraient actives. Une mini-colonne qui n'a pas d'entrée active continuera à être inactive même si les voisins sont très actifs. Son activité ne sera pas « diffusée » aux processeurs voisins, et au contraire, elle inhibera son voisinage quand elle sera active (voir 3.1.1 et Favorov & Kelly (1996)). Par contre, l'activité des mini-colonnes voisines sert à "faciliter" le transfert d'information, et à « découvrir » des relations entre les caractéristiques du stimulus (Phillips & Singer, 1997).

D'autre part, il faut tenir compte du rôle de l'inhibition à cette échelle. Une mini-colonne activée inhibe son entourage de façon à améliorer la sensibilité du champ réceptif. Donc, les mini-colonnes répondent de préférence à une seule caractéristique du stimulus (e.g., une seule fréquence), de façon à se distribuer la tâche d'analyse. L'inhibition est plus forte sur le voisinage et diminue rapidement avec la distance. Ce fait correspond bien aux images de tonotopie et à ce que l'on connaît sur la topologie du cortex.

L'architecture du réseau des mini-colonnes, que l'on observerait avec les techniques de mesure multi-sites, serait donc différente de celle plus traditionnelle des réseaux de neurones qui modélisent une petite partie du cortex. Il y aurait un voisinage proche inhibé et un voisinage distant avec des connexions "contextuelles". Néanmoins, selon l'aire du cortex étudié, et la résolution spatiale de la technique de mesure, des interactions « diffusives » entre sites de mesure proches pourraient aussi exister.

Cette description de la fonction des interactions locales et non locales est appuyée par des résultats expérimentaux (e.g., (König et al., 1995)), et il existe aussi des développements théoriques récents qui montrent son intérêt du point de vue de la représentation et du traitement de l'information sensorielle dans le cortex (e.g., (Phillips, 2001a; Phillips & Singer, 1997)). Un point de départ pour l'analyse des mesures multi-sites à partir de ce paradigme peut se trouver dans : (Smyth et al., 1996), où une manière de mesurer la modulation contextuelle dans un système formé de deux sous-systèmes avec deux entrées indépendantes et avec une interaction contextuelle a été proposée.

La description de types d'interactions selon des modèles relativement simples du type LDM et CHAM est impossible, puisqu'ils reposent sur l'hypothèse que les interactions sont relativement simples, linéaires et restreintes à un voisinage proche. Même si des interactions plus complexes peuvent être décrites dans le cadre plus général des champs aléatoires (non markoviens), il

existe toujours la restriction que le hamiltonien qui décrit les interactions puisse s'exprimer comme une somme des potentiels d'interaction locaux (voir section 6.3.2). D'autre part, ces modèles reposent sur l'hypothèse que, en absence d'interactions (ou de diffusion), la probabilité d'activation d'un site quelconque est indépendante de celle de ses voisins et que cette probabilité ne dépend que d'un taux d'innovation (dans le cas du modèle LDM) qui est le même pour tous les sites (ou de l'intensité d'un champ incident homogène, dans le cas des CHAM). Néanmoins, en pratique le processus d'innovation peut être très hétérogène, principalement à cause de deux facteurs : d'une part, à cause de la structure anatomo-fonctionnelle du néocortex, et d'autre part, à cause des stimuli utilisés dans les expériences. Nous allons développer ces deux points ci-dessous.

Structure anatomo-fonctionnelle de la zone néocorticale observée

La structure anatomo-fonctionnelle du néocortex aux échelles mésoscopiques est très différente de celle observée à des échelles microscopiques. Il est important de tenir compte du fait que la zone observée comprend plusieurs aires corticales. La modélisation doit prendre en compte le fait que la connectivité à l'intérieur de chaque aire est différente de celle qui existe entre deux aires, et que la connectivité à l'intérieur de chaque aire peut être anisotrope et peut comporter différents types de récepteurs, et par conséquent, différentes fonctionnalités.

De plus, il est important de prendre en compte que ce sont les projections thalamo-corticales et cortico-corticales qui sont à l'origine de la structure anatomo-fonctionnelle des aires du cortex, tandis que dans le cortex auditif, les projections thalamo-corticales sont parallèles et reproduisent dans le cortex la structure fonctionnelle tonotopique existante dans la division ventrale du corps genouillé médian (voir section 3.1.1.2), la connectivité entre le bulbe olfactif et le cortex olfactif se caractérise, au contraire, par une divergence de l'information au niveau bulbaire et une convergence au niveau cortical, de manière à ce qu'il n'existe pas une structuration topographique (Freeman, 1994). Ainsi, la modélisation de l'activité du cortex auditif sera très différente de celle du cortex olfactif.

Le cas du système olfactif est intéressant, puisque la divergence \rightarrow convergence de l'information entre le bulbe et le cortex olfactifs implique que l'entrée au cortex olfactif est effectivement « déstructurée ». C'est pourquoi cette architecture neuronale s'adapte mieux que celle du cortex auditif à la modélisation par les méthodes décrites auparavant.

De plus, il est important de prendre en compte l'organisation hiérarchique qui existe entre les différentes aires sensorielles. Par exemple, dans le cas du cortex auditif, il semblerait que les aires A1 et DC (R chez le singe) traitent différents aspects des mêmes objets sensoriels de manière parallèle (e.g., le « où » et le « quoi » (Rauschecker & Tian, 2000)), et que les aires qui les entourent (voir section 2.2.3 et 3.1.1) traitent probablement des informations plus complexes provenant des deux premières.

Ainsi, une modélisation plus flexible, dans laquelle il serait possible d'inclure les anisotropies de la connectivité locale, les différents types d'interaction, ainsi que la modularité et l'organisation hiérarchique des zones observées, décrirait de manière plus précise l'activité

corticale et permettrait d'analyser les interactions entre les différentes aires corticales en plus des interactions locales dans chaque aire corticale.

Cependant, la résolution spatiale limitée des techniques de mesure existantes ainsi que l'imprécision des mesures limitent la faisabilité de cette approche. De plus, l'augmentation de la flexibilité de la modélisation implique nécessairement une plus grande difficulté dans la description du modèle, mais surtout dans l'estimation des paramètres à partir des données expérimentales.

Une autre possibilité est de se focaliser dans un premier temps sur la modélisation et l'analyse de l'activité de chaque aire corticale de manière indépendante, ce qui implique que l'on puisse isoler l'aire en question (par lésion des aires voisines, par exemple), puis d'intégrer les résultats obtenus pour chaque aire dans un modèle global.

Complexité des stimuli, stimuli naturels :

Un deuxième facteur dont on doit tenir compte lors de la modélisation et l'analyse de l'activité corticale évoquée, est le type de stimulus utilisé. Nous avons vu que dans le cas du cortex auditif un stimulus simple (mono-tonal ou FM) n'active que quelques mini-colonnes dans chaque aire A1 et DC, ce qui limite énormément la possibilité d'observer des interactions entre les sites.

Cependant, il est important de rappeler que lors de la stimulation FM nous avons observé une dépolarisation tardive (voir section 5.2.2), et que la latence de cette dépolarisation est similaire à celle d'une dépolarisation accompagnée par des oscillations gamma qui a été observée par d'autres auteurs avec d'autres techniques (voir 3.1.3.5). Il est possible donc qu'un stimulus plus complexe facilite les interactions entre différentes mini-colonnes, et facilite le déclenchement d'une activité spatio-temporelle complexe intrinsèque au cortex.

Ceci nous amène au problème des « stimuli naturels », qui est un sujet de recherche très actif actuellement (Reinagel & Laughlin, 2001). Etant donné qu'un animal doit normalement répondre aux stimuli complexes provenant de sources naturelles, et non aux stimuli artificiels simples, il est très probable que la fonction du cortex soit « calibrée » pour des stimuli complexes. Il est très intéressant de noter que certaines caractéristiques des stimuli naturels semblent avoir un caractère universel à travers les différentes modalités sensorielles. Par exemple, la structure des profils de concentration des odorants naturels qui se déplacent par advection ressemble à la structure des images naturelles, où des objets (plumes) se déplacent et se déforment, mais pour laquelle la « texture » est la même pour une même odeur. D'autre part, l'existence d'objets auditifs et des relations entre ces objets qui donne lieu à une « scène » auditive, de manière similaire à ce qui se passe dans le système visuel, a été proposée (Kubovy & Van Valkenburg, 2001). De plus, des champs réceptifs spectro-temporels, qui ressemblent fonctionnellement aux champs réceptifs des cellules complexes du système visuel, ont été récemment observés et caractérisés dans le cortex auditif primaire de manière qu'il semble exister un parallèle entre le traitement de l'information visuelle et le traitement de l'information auditive (King & Schnupp, 1998).

On peut donc imaginer que les « scènes auditives naturelles » possèdent une structure similaire aux images naturelles, dans un espace temps-fréquence par exemple. L'étude des statistiques des « scènes auditives naturelles » est donc un sujet important, qui permettra de mieux concevoir les expériences et de faire une modélisation plus réaliste de l'activité spatio-temporelle du cortex.

Ainsi, dans le cas du système auditif, et lors de futures expériences, on peut imaginer l'utilisation de stimuli qui possèdent des structures « naturelles » dans l'espace temps-fréquence. Cette approche présente au moins deux avantages par rapport aux stimuli simples. D'une part, on peut espérer que le processus d'arrivée de PA au cortex en réponse à un stimulus de ces caractéristiques soit plus « homogène » (dans l'espace) que celui provoqué par un stimulus mono-tonal, ce qui faciliterait la modélisation de l'activité spatio-temporelle corticale. D'autre part, on peut espérer que le pattern spatio-temporel de l'activité du cortex en réponse à ce type de stimulus soit plus riche que pour les stimuli plus simples. De plus, étant donné que nous sommes intéressés par l'étude de la représentation de l'information sensorielle et de la perception, cette approche semble plus adéquate.

Conclusion et Perspectives

Dans ce travail nous avons abordé le problème de l'analyse des signaux de l'activité électrique du cortex auditif, mesurés à une échelle mésoscopique sur des sites multiples.

L'intérêt de cette étude réside dans le besoin qui existe actuellement de trouver des moyens de traiter les informations sur l'activité spatio-temporelle des tissus neuronaux, obtenues avec des nouvelles techniques d'enregistrement multi-sites. Ces techniques permettent d'obtenir une grande quantité d'information à une haute résolution temporelle et spatiale, et permettent d'aborder de nouveaux problèmes théoriques et pratiques. En particulier, elles permettent l'étude des interactions entre populations de neurones, et les relations entre ces interactions et la fonction du tissu neuronal. Ces techniques peuvent aussi être utilisées pour le développement des solutions technologiques à des problèmes médicaux (e.g., monitoring de l'activité corticale, conception des prothèses sensorielles et neuroprothèses). Néanmoins, le manque d'outils adéquats pour l'analyse, l'interprétation et la compression de l'information obtenue avec ces techniques d'enregistrement multi-sites, limite actuellement notre capacité à aborder les problèmes mentionnés précédemment. C'est pourquoi, ce travail traite principalement de la recherche d'une méthodologie d'analyse de signaux multi-sites, et en particulier, de signaux obtenus par la technique de fluorescence potentiel-dépendante.

Notre travail peut se résumer comme suit :

- Etude des plusieurs aspects théoriques et pratiques de ce problème.
- Réalisation d'analyses théoriques sur des informations trouvées dans la littérature.
- Etude du problème d'estimation et de caractérisation de l'activité corticale à partir des signaux $L_{\Delta F/F}$.
- Réalisation d'analyses descriptives sur des données expérimentales.
- Modélisation et analyse spatio-temporelle de ces données.

Les analyses basées sur des signaux expérimentaux ont été réalisées sur des données issues de la technique de fluorescence potentiel-dépendante, en collaboration avec le Dr. Junsei Horikawa, neurophysiologiste de l'Université Médicale et Dentaire de Tokyo, Japon.

D'un point de vue expérimental, il est à noter que la difficulté de participer aux expérimentations (distance géographique) ne nous a pas permis d'étudier plusieurs problèmes d'intérêt. En particulier, nous n'avons pas pu étudier ni contrôler l'effet de l'anesthésie sur l'activité du cortex. Nous n'avons de plus pu participer de manière significative à la conception des expériences. Les limitations technologiques des appareils de mesure utilisés (e.g., mauvais RSB, résolution spatio-temporelle insuffisante) ont aussi limité nos analyses. Ces différents facteurs ne nous ont pas permis d'effectuer toutes les analyses que nous souhaitions.

A partir de l'analyse des données expérimentales et de l'analyse théorique basée sur la littérature, nous avons décrit plusieurs caractéristiques du signal $L_{\Delta F/F}$ évoqué en réponse aux stimuli mono-tonaux et FM. Cette description nous a permis de mieux comprendre la nature de ces signaux et de proposer plusieurs manières de caractériser l'activité corticale. Nous avons en

particulier proposé que, sous des conditions d'anesthésie profonde, le signal $L_{\Delta F/F}$ dépend d'une manière simple de l'intensité du processus d'arrivée des PA à la zone observée par chaque photodiode. Ceci permettrait, en théorie, de récupérer cette intensité à partir du signal mesuré. De plus, nous proposons que, dans ces circonstances, le signal $L_{\Delta F/F}$ reflète principalement l'activité afférente provenant du thalamus, et que l'activité intrinsèque au cortex est très faible à cause d'une trop forte inhibition. Il est toutefois à noter que cette relation n'est valable que sous anesthésie.

Alternativement, pour des expériences réalisées sous anesthésie légère ou sans anesthésie, nous avons proposé de caractériser les signaux à partir des événements de synchronie de l'activité post-synaptique sous chaque site de mesure, c'est-à-dire, des événements de synchronie locale. Chacun de ces événements aurait une signature, que nous avons appelée événement unitaire (UE). Une description simple de ces événements a été proposée. Cependant, une étude théorique plus détaillée du signal $L_{\Delta F/F}$, qui inclut les variations de potentiel de membrane produites par l'activité synaptique dépendante des récepteurs NMDA, est souhaitable.

Nous avons étudié la relation entre la valeur maximale de la réponse évoquée et les erreurs résiduelles de l'élimination de l'artefact hémodynamique à partir des données expérimentales. A partir de cette analyse, nous avons montré, d'une part, que (sous anesthésie profonde) les variations lentes du signal ou celles plus rapides de type oscillatoire, qui se produisent d'un enregistrement au suivant, peuvent être expliquées par les erreurs résiduelles de l'élimination de l'artefact. D'autre part, nous avons montré que la relation entre les erreurs résiduelles et la valeur maximale de la réponse est constante à travers les enregistrements. Suite à ces observations, nous avons suggéré que l'activité corticale spontanée est imperceptible ou négligeable, et que les variations de l'activité corticale évoquée, d'un enregistrement à l'autre, sont négligeables. Ceci dit, lors d'enregistrements sans anesthésie, ce résultat n'est probablement plus valable. De nouvelles analyses sous ces conditions expérimentales sont donc envisageables et souhaitables.

Nos observations sur les latences et durées des réponses corticales dans chaque aire corticale, avec des nouvelles techniques de débruitage, supportent l'hypothèse selon laquelle la région corticale observée est composée d'au moins deux modules parallèles et complémentaires de traitement de l'information sensorielle. Cette conclusion est importante du point de vue de la modélisation.

Nous avons proposé une méthodologie basée principalement sur l'utilisation de la transformée en ondelettes pour l'estimation de l'activité corticale et la détection et l'estimation des paramètres des UE, à partir des signaux $L_{\Delta F/F}$. Dans le cas de l'estimation, nous avons choisi d'utiliser des méthodes de débruitage par rétrécissement des coefficients de la TOO, et en particulier des approches Bayésiennes. Nous avons étudié en détail l'algorithme de Huang et Cressie (2000), et avons montré une des sources de biais de cette méthode. Nous avons ensuite proposé un algorithme itératif très simple qui permet d'améliorer la précision de cette technique et des techniques similaires. La solution n'est cependant pas entièrement satisfaisante, étant donné que la qualité de l'estimation est très variable d'un signal à l'autre, et qu'il est encore nécessaire d'utiliser la moyenne d'ensemble sur quelques signaux afin d'obtenir des résultats acceptables. Ces problèmes sont dus au fait que les algorithmes sont très sensibles aux erreurs liées à l'estimation de la variance du bruit, et que le RSB des signaux $L_{\Delta F/F}$ obtenus avec le colorant RH795 est extrêmement bas. Des améliorations des techniques de traitement du signal doivent donc être recherchées. Pour les expériences futures, il sera judicieux d'utiliser les nouveaux colorants actuellement développés dans plusieurs laboratoires (e.g., (Shoham et al., 1999)), qui produisent des signaux ayant de meilleurs RSB.

En ce qui concerne la caractérisation de l'activité synchrone locale, nous avons proposé une méthodologie basée sur la TOD2 et sur des ondelettes B-Spline. Nous avons testé la méthode sur des signaux simulés et sur des données expérimentales, et nous avons montré des résultats préliminaires satisfaisants, et des améliorations à la qualité de l'estimation sont déjà envisagées. Cependant, nous n'avons pas pu valider les résultats de la technique, ni l'existence des UE, par une technique alternative. De plus, nous n'avons pas testé cette hypothèse lors d'enregistrements sous anesthésie légère ou sans anesthésie, ni sous des stimulations autres que les sons mono-tonaux ou FM. Une étude sous des conditions expérimentales plus favorables à la production des UE est nécessaire.

Un problème pour lequel nous n'avons pas à ce jour trouvé de solution acceptable est celui de l'estimation et de l'élimination de l'artefact hémodynamique. La meilleure solution est probablement celle proposée dans : (Shoham et al., 1999), qui consiste à développer de nouveaux colorants moins sensibles à l'activité hémodynamique.

Nous avons suggéré que, à des échelles mésoscopiques, des méthodes simples telles que le modèle LDM ou les champs aléatoires ne sont pas les approches les plus adaptées aux problèmes de modélisation et d'analyse spatio-temporelle de l'activité neuronale, ainsi qu'à l'étude des interactions entre sites de mesure. Cette conclusion nous semble valide, principalement dans le cas spécifique de l'étude du cortex auditif et pour des stimuli simples. Cependant, selon les stimuli utilisés et l'aire fonctionnelle du cortex étudiée, les modèles de type LDM peuvent être utiles (le cas de l'étude du cortex olfactif, par exemple). Il faut, néanmoins, faire attention à ce que les hypothèses de ces modèles soient vérifiées, et tenir compte des problèmes qui peuvent se présenter lors de l'interprétation des paramètres estimés. Nous avons proposé plusieurs pistes pour cette recherche, mais aucune direction claire n'a été trouvée. Cependant, nous voulons souligner la structure (hypothétique) modulaire et hiérarchique du néocortex, et le parallélisme et la complémentarité de ces modules, selon l'aire du cortex étudiée. Cet aspect est important à prendre en compte lors de la modélisation.

D'autre part, il existe trois problèmes importants qu'il faut aborder lors des futures études : l'anesthésie, le type de stimulus, et le bruit. Ces trois paramètres doivent être contrôlés de manière à ce que l'on maximise la probabilité d'observation des phénomènes spatio-temporels complexes sur le néocortex. De nouvelles expériences, sous anesthésie légère ou sans anesthésie, avec de nouveaux colorants plus performants (afin d'obtenir des données moins bruitées), et enregistrées avec une meilleure résolution spatio-temporelle, si possible, doivent être réalisées. De plus, des expériences sous anesthésie contrôlée permettront aussi d'étudier la relation existant entre l'attention de l'animal et les caractéristiques de la réponse spatio-temporelle évoquée.

Par rapport aux choix des stimuli, plusieurs options sont à considérer. Nous pouvons en particulier distinguer deux niveaux d'analyse de l'activité corticale, et deux types de stimuli correspondants à ces analyses. D'une part, lors de la caractérisation de l'activité dans chaque site de mesure, et si l'on suppose que l'échelle d'observation est celle de la mini-colonne ($\sim 50 \mu\text{m}$), des stimuli spécifiques à l'activité de chaque mini-colonne peuvent être recherchés. Par exemple, pour les mini-colonnes du cortex auditif primaire, on peut considérer le contrôle de la localisation en temps et en fréquence du stimulus. En ce cas, l'utilisation des stimuli basés sur les ondelettes de Gabor est une option intéressante. Cependant, l'utilisation des stimuli plus complexes dans le plan temps-fréquence, comme ceux proposées dans (King & Schnupp, 1998) peuvent mieux correspondre à l'activité des neurones dans les aires corticales primaires.

Par contre, lors de l'analyse de toute une aire fonctionnelle, nous proposons que l'utilisation des stimuli « naturels », possédant une structure riche, soit préférable. Ce type de stimuli a, probablement, plus de chances de produire des réponses spatio-temporelles complexes et pertinentes (du point de vue de la perception sensorielle), et il est plus intéressant du point de vue de la modélisation (voir section 6.5.3) et des applications pratiques. Par exemple, lors de la conception et du test de prothèses auditives, où l'on s'intéresse à ce que la stimulation générée par la prothèse produise des réponses corticales similaires à celles qui étaient produites par l'organe supplanté, il serait plus judicieux d'utiliser des stimuli sonores de caractéristiques similaires à celles que le patient trouvera dans la vie courante. Différentes approches de la caractérisation des stimuli « naturels » commencent à se développer (Reinagel & Laughlin, 2001), cependant dans le cas de stimuli auditifs il existe à ce jour peu de développements. L'étude et la caractérisation de ce type de stimuli sont donc des directions de recherche intéressantes à suivre en parallèle au problème de modélisation.

Finalement, nous voulons rappeler l'importance de l'utilisation et développement de nouvelles techniques de mesure, optiques ou autres, qui permettent d'améliorer le RSB et la résolution spatio-temporelle. Cependant, la réalisation des mesures multi-modalité (intracellulaire, LFP, VSDOI), et des analyses comparatives et complémentaires sur ces modalités, est souhaitable. Il faut aussi noter que les phénomènes spatio-temporels complexes qu'on voudra étudier se produisent probablement à des latences de l'ordre de 10^2 msec, ainsi donc, des enregistrements de longue durée sont nécessaires.

En conclusion, ce travail est une base pour la mise en place d'expériences futures afin d'appréhender des informations sur l'activité corticale lors de la perception auditive, dans les meilleures conditions possibles. Nous avons donné des bases pour la mise en place d'une méthodologie d'analyse de signaux issus de la technique de fluorescence afin d'extraire l'information pertinente de l'activité corticale. Nous avons aussi étudié et évalué un certain type de modèles de l'activité spatio-temporelle neuronale, puis proposé et discuté de nouveaux concepts de modélisation et d'analyse de cette activité. Plusieurs applications de ce travail et de la suite de nos recherches sont envisagées. Entre autre, ce travail permettra dans le futur le développement des outils d'analyse du fonctionnement des prothèses auditives.

Annexe 1

A PROPOS DE LA VARIABILITE ET DE L'ESTIMATION DU SIGNAL OPTIQUE

ON THE VARIABILITY OF EVOKED CORTICAL RESPONSES MEASURED BY OPTICAL IMAGING TECHNIQUES

Camilo La Rota^{*}, Olivier François, Junsei Horikawa[§] & Thierry Hervé
Laboratoire TIMC, Faculté de Médecine, Université Joseph Fourier, 38706 La Tronche, France
[§] Department of Neurophysiology, Tokyo Medical and Dental University, Kanda-suragadai 2-3-10, Tokyo 101, Japan
^{*} Corresponding author: e-mail: Camilo.Larota@imag.fr, clarota@hotmail.com

Abstract

Cortical evoked responses observed with fluorescence dyes and optical imaging techniques are characterized by an important variability across trials. This variability can be of intrinsic (neural) or extrinsic origin. There are claims that the neural sources of the intrinsic variations play an important role in the shaping of the evoked responses. For this hypothesis to be validated, analyses of single-trial evoked responses and of the intrinsic trial-to-trial variability must be performed. This article explores the variability of single-trial evoked responses and shows that, under common experimental conditions, intrinsic variations are hardly distinguishable from the extrinsic ones. Additionally, it shows how estimation errors can lead to misleading interpretations about cortical activity and intrinsic variability that have probably flawed some published results.

8.1 Introduction

The spatiotemporal electrical activity of the sensory cortex can be observed using voltage-sensitive fluorescence dyes and optical imaging recording techniques (Grinvald et al., 1999a; Grinvald et al., 1999b). Analysis of the data obtained with this technique is often restricted to rough ensemble-average estimates of the stimuli-evoked neural activity. Important additional information may be obtained by the analysis of single-trial data, which needs better estimation procedures.

The principal aim in the analysis of the electrical cortical activity is to describe the variations of the neural activity within and among recorded signals, and the determination of the relationships of these variations with changes on the stimuli and/or on associated patterns of behaviour. However, event-related cortical signals obtained with optical imaging techniques are typically characterized by an important extraneous variability, such that repeated presentations of the same stimulus lead to signal waveforms that vary erratically and often hugely from trial to trial. Therefore, finding deterministic relationships between particular conditions of stimulus or behaviour and given signals is a difficult task.

The variability observed in this kind of signals may arise either from extrinsic sources or from intrinsic ones; extrinsic variability (ExV) is due to instrumental noise and to biological (other than neural) activities, whereas intrinsic variability (InV) is due to neural activity. A major source of ExV comes from the sensibility of some fluorescent dyes to the changes in hemoglobin concentration occurring inside the observed tissue (Shoham et al., 1999). This artifact is strongly correlated with the cardiac pulse, and is therefore called “*hemodynamic artifact*” (HA). Its amplitude is significantly higher than the amplitude of the signal fluctuations related to neural activity, whereas its variability is of the same order of magnitude. Intrinsic variability is partly due to normal variations of evoked or event-related responses’, which are related to the function of the neural tissue in response to the stimulus or related to behaviour. These fluctuations are thus usually called “*correlated variance*” (CV). In addition, InV may arise from other sources, such as “spontaneous” intracortical phenomena and thalamocortical inputs. These “spontaneous” intrinsic fluctuations are commonly assumed to be independent of the neural function of the cortical area under observation, so they are usually treated as background noise; they are thus called “*uncorrelated variance*” (UV) together with the extrinsic variations (correlated and uncorrelated referring here to stimuli and/or behaviour).

A standard hypothesis assumes that when the experimental conditions are fixed, neural activities replicate in all experiments exactly, and thus any signal variations observed among trials are supposed to be part of the UV. On the contrary, when an experimental condition is deliberately changed across trials, neural evoked activity may naturally change, and this variability is supposed to be part of the CV. Good signal estimation procedures are thus expected to preserve the CV and to minimize the UV (Freeman, 1979a). This is usually achieved with extensive averaging over a large number of repeated experiments.

However, there are claims that low-frequency spontaneous variability between trials may play an important role in the neural stimuli information processing and in the shaping of the evoked response (Amit & Brunel, 1997 ; Arieli et al., 1995; Arieli et al., 1996; Tsodyks et al., 1999). Validating such claims requires accurate single-trial estimations of the evoked responses and of the intrinsic UV in order to study the relationship between both of them. Nevertheless, the separation of the intrinsic variations from the extrinsic ones is a hard task in optical signals due to their very low Signal to Noise Ratio (SNR).

One may thus ask the following questions: Is it possible to eliminate only the ExV in order to study the InV in single-trials? If it is possible, then how it can be done? Can we measure the relationship between ongoing spontaneous activity and evoked activity with this technique? If it is possible, which is this relationship?

This article shows that one can not easily eliminate the HA from the optical signal in single trials, and that confusion between the HA residual errors and spontaneous neural activity is almost inevitable. Moreover, we show that the mix-up of these two sources of UV has already produced errors in the interpretation of the relationship between low-frequency UV and evoked responses in the published literature. Therefore, one must be cautious when interpreting trial-by-trial variability in optical signals.

The article is organized as follows: In section 2, the experimental context of the study is presented together a simple model representing the data. In section 3, an introductory discussion about the intrinsic variability and its functional role is presented. In section 4, the extrinsic variability is studied and characterized. In section 5, we present and discuss the typical procedures that are used to eliminate the extrinsic variability and estimate the neural activity. In

section 7 we study the relationship between the trial-to-trial variability and the evoked responses. And finally, in section 8 we discuss the results.

8.2 Context

8.2.1 *Optical Imaging with Voltage Sensitive Dyes*

Time-dependent interactions between large neuronal populations are expected to be the fundamental mechanism of neocortical information processing (deCharms & Zador, 2000; Gerstein et al., 1989; Hebb, 1949). During the last three decades new multisite recording techniques have been developed in order to measure these interactions (e.g., Voltage-Sensitive Dye Optical Imaging (VSDOI) (Ebner & Chen, 1995; Grinvald et al., 1999b; Wu et al., 1998), multisite flexible electrode arrays (Takahashi et al., 2000), and others (Stieglitz & Meyer, 1999)). These techniques complement the information obtained with more traditional techniques, such as the EEG or needle microelectrode recordings, allowing us to observe the spatiotemporal electrical activity at an intermediate spatial scale.

The use of VSDOI techniques enables the measurement of fast (less than 1msec) membrane potential changes in functional fields of the neocortex with a spatial resolution of the order of $(100\mu\text{m})^2$ or more (Ebner & Chen, 1995). Thanks to this temporal and spatial resolution one can actually observe the spatio-temporal evolution of neural populations' activities *in vivo*. For instance, VSDOI based studies of the Auditory Cortex (AC) have already revealed important facts about its functional organization and dynamic properties (Horikawa et al., 1996; Horikawa et al., 1997; Horikawa et al., 1998; Hosokawa et al., 1998; Taniguchi et al., 1992; Taniguchi & Nasu, 1993).

8.2.2 *Experimental Procedures*

The animal preparation and optical recording procedures have been described in detail elsewhere (Horikawa et al., 1996)). In short, animals (guinea pig) were anesthetized with Nembutal (30 mg/kg, supplementary doses of 10 mg/kg-h). The auditory cortex (AC) was exposed by surgical procedures and a voltage-sensitive dye (RH795, 0.2 mg/ml) was applied. Pure tone (frequencies: 4, 7, 8, 12, 14, 16 kHz, duration: 50 ms, rise-fall time: 10 ms, intensities: 70, 75 dB SPL) and FM bursts (instantaneous frequencies: 4 to 16, 16 to 4 kHz, duration: 100 ms, rise-fall time: 10 ms, intensity: 70 dB SPL) were delivered to the ear contralateral to the recording side. The fluorescent signals emitted by the AC were recorded using a 12x12-channel photodiode array at a rate of 0.576 ms/frame. The optical responses were expressed as $\Delta F/F$, where ΔF is the change in fluorescence intensity due to neural responses and F is the fluorescence intensity at rest. Stimulation and recording were synchronized with the heartbeat, and interleaved recordings without and with applied stimuli have been obtained. Stimulation-free recordings were obtained in order to provide an estimation of the HA for each signal containing cortical responses. The cortical recording area was 3mm x 3mm, covering part of both anterior (primary auditory cortex, AI) and dorsocaudal (DC) fields. The measuring microscope was focused 200 μm below the surface of the AC (layers II–III). Experiments were conducted in a dark, soundproofed room.

8.2.3 Signal model

Our data was collected from a set of L photodetectors (e.g., $L=144$) and represents the electrical activity in a corresponding set of cortical sites. We will refer to the raw signal from any single cortical site in a general manner as the local fluorescence change ($L_ΔF/F$) signal; it represents the local changes on emitted fluorescence from a given area of the cortex. We will separately process the signal observed at each cortical site $l \in \{1, \dots, L\}$, so we will drop the spatial information. The raw $L_ΔF/F$ signal observed at any site during the m^{th} recording (z_m) can thus be described according to the following model:

$$z_m = s_m + e_m = (f_m + u_m) + (a_m + \eta_m)$$

where z_m , s_m , e_m , f_m , u_m , a_m and η_m are K -dimensional vectors (e.g., $z_m = \{z_m(t_k)\}_{k=1,2,\dots,K}$), where K is the number of time-samples; s_m is the intrinsic component of the signal for the same recording, which is composed by an evoked response (f_m) if a stimulus was presented during that recording, and by an ongoing spontaneous activity uncorrelated with the stimulus (u_m); e_m is the extrinsic component of the signal, which is itself composed by the artifact on that recording (a_m) and by the instrumental noise (η_m). The intrinsic signal (s_m) results from the summation of the synaptic activities of a neuron population; it is an irregular function that can be described by a stochastic process taking non negative values, and whose mean amplitude and statistical properties depend on the underlying afferent spiking processes (see section 3.2.2). The artifact (a_m) is supposed to be a slowly varying, regular function, that fluctuates from recording to recording around a prototype artifact ($\mu_\alpha = \{\mu_\alpha(t_k)\}_{k=1,2,\dots,K}$); and the noise (η_m) is assumed to be an uncorrelated Gaussian process with constant variance σ_m^2 . As a further simplification, we will assume that the variance is constant across recordings (i.e. $\eta = \{\eta_m\}_{m=1,2,\dots,M} \sim \text{Gauss}(0, \sigma^2 \mathbf{I}_M)$)

Finally, let us define the set $\{t_m\}_{m=1,2,\dots,M}$ as the set of ECG peak times during M cardiac cycles; the signal recording is triggered at each one of these instants, resulting in a set $\mathbf{Z} = \{z_m\}_{m=1,2,\dots,M}$ of raw signals for each experiment. Stimulation is also synchronized with these instants, but it is usually presented only for half of the recordings in an alternative manner (i.e. at instants $\{t_m\}_{m=2,4,\dots,2N}$). This procedure results in two different sets of signals: $\mathbf{Z}^A = \{z_n^A\}_{n=1,2,\dots,N}$ is the set of raw signals obtained in absence of stimulation, and $\mathbf{Z}^B = \{z_n^B\}_{n=1,2,\dots,N}$ is the set obtained under stimulation. The pair of signals $\{z_n^A, z_n^B\} = \{z_{m-1}, z_m\}$, for m even, can be considered as trial number n , with $n = m/2$ and $N=M/2$ being the number of trials.

8.3 Intrinsic Variability

In theory, VSDOI measures are specific to membrane potential and highly localized in space and in time. Thus, if intrinsic variability (InV) is observed, it is supposed to reflect solely the stimuli-uncorrelated activity of neural tissues underneath the measuring site. This is not the case when using other kind of electrophysiological measures; such as Local Field Potentials (LFP), for which the sources of uncorrelated activity located far away from the measuring site can easily corrupt the evoked responses due to the sensitivity of these measures to extracellular currents.

This variability may take different forms and may arise from different sources. For instance, it can reflect local spontaneous intracortical activity, or ongoing global activity resulting from the dynamical interplay of the cortex with the thalamus and other brain structures, or it can result

from neurochemical modulation. One possible source of InV is the spontaneous activity of cortical neurons, which are always active even in absence of stimulation; this spontaneous activity is stochastic, global, and permanent. Even though this activity does not seem to be important at the cell scale (the spikes rate emission of a single neuron during spontaneous activity is of about 1 to 5 Hz (Amit & Brunel, 1997)), the high interconnectivity seen at the cortical level means that at any instant a much greater number of action potentials originating in local and far neurons reach thousands of synapses in each pyramidal neuron (DeFelipe, 1997). Therefore, dendritic trees undergo a continuous flow of spike trains that triggers large numbers of excitatory and inhibitory postsynaptic potentials, enhancing the spontaneous intrinsic signal. These postsynaptic potentials rise very quickly and their duration typically ranges between 10 and 20 milliseconds (Williams & Stuart, 2000b). The instantaneous sum of all spontaneous postsynaptic activities in a given cell can thus be significant and very dynamical.

Functional role of the cortical spontaneous activity

The spontaneous spiking of a given cell is not an isolated phenomenon; it is correlated with the mean postsynaptic activity in other sites, as has been shown in (Arieli et al., 1995). Although the functional role of this activity is still not well understood, several authors have conjectured that it has a fundamental relationship with the function of the cortical area (Amit & Brunel, 1997 ; Arieli et al., 1995; Arieli et al., 1996; Tsodyks et al., 1999). In particular, Amit proposes that this stochastic spiking background activity reflects the existence of a global cortical stable attractor, over which local structured fluctuations can occur (Amit & Brunel, 1997). These local fluctuations would be related to stimuli responses, their localization and amplitude depending on learning processes. According to this conjecture, the spontaneous intrinsic activity will maintain the cortical cells near threshold, so that they could react quickly in response to stimuli.

Similarly, analyses by Arieli et al. and Tokioka et al. suggest the existence of a spontaneous ongoing cortical activity that may be observed with VSDOI measures, and claim that this activity is not an independent noise process (Arieli et al., 1996; Tokioka et al., 2000). Arieli et al. have conjectured that this activity is related to the instantaneous cortical state and to attentional modulation (Arieli et al., 1995). They suggest that this phenomenon may reflect the activation of large synchronous neural assemblies, and they show evidence that this activity is indeed time-locked to the coherent activity of neuronal populations (Arieli et al., 1995). In addition, Steinmetz et al. and Herculano-Houzel et al, have shown that attention can actually influence cortical activity (Herculano-Houzel et al., 1999; Steinmetz et al., 2000). Finally, Tokioka et al., maintain that this activity shows an oscillatory behaviour and that its spectral content is independent of stimuli and restricted to low frequencies (5 to 11Hz).

Both Arieli et al. and Tokioka et al., believe that the amplitude of the spontaneous ongoing activity, as observed using VSDOI techniques, is almost as large as the amplitude of evoked responses; and they base their studies on this assumption. However, the fact that the signal variations considered in these studies reflect indeed intrinsic spontaneous activities remains questionable. On the contrary, we believe that it is difficult to validate this conjecture, and that much of what these authors call spontaneous activity is in fact due to extrinsic activity residuals. This issue will be addressed in section 8.7.

8.4 Extrinsic signal variability

Extrinsic variability (ExV) in fluorescent dyes measurements may result from different sources. Some extraneous fluctuations are related to the measuring instruments (i.e. photodetection and electronic noise, fluctuations in excitation-light intensity, etc.), while others are related to biological activity that is not directly correlated with the neural activity. Other sources of ExV; such as fluctuations in the dye-exciting light or other biological artifacts (the so-called intrinsic signals in optical imaging literature) are often considered as secondary in importance.

The most important sources are: the random noises introduced by the measuring technique, and a low frequency artifact related to the hemodynamic activity. This artifact is due to the sensitivity of the dye to the oxy-hemoglobin and deoxy-hemoglobin concentrations, and is thus correlated with the cardiac pulse; its magnitude depends on the fluorescent dye used and on the wave length of the light used to excite the dye and it easily overwhelms the amplitude of the intrinsic signals. Although simple in theory, the accurate suppression of the HA is difficult in practice and the residual errors contribute to an important low frequency ExV. On the other hand, the instrumentation noise is usually very important and accounts for most of the high frequency ExV.

In this section, the two main sources of ExV are discussed in turn.

8.4.1 Hemodynamic artifact

Since the excitation wavelength of the RH795 dye coincides with the peak absorption of hemoglobin, *in vivo* measurements of neural activity obtained with this dye are very sensitive to the hemodynamic activity. According to Shoham (1999), changes in hemoglobin concentration strongly modify the number of photons available for dye excitation (Shoham et al., 1999); as a consequence, the hemodynamic activity contributes to the signal significantly. This is illustrated in Figure 8-1(A) where a long-lasting, stimulus-free, recording is shown; the artifact is very strong and reflects the cardiac pulse; Figure 8-1(B) shows the mean spectral content of several recordings, most of the power coincides with the heart beat rate (5.2 Hz) and its harmonics.

When processing neural signals, one often assumes that the HA replicates in every trial with a similar shape. However, since the artifact is strongly correlated to the cardiac pulse that is highly variable (Malik & Camm, 1995), the artifact itself is characterized by an important variability. This variability mainly results from the control exerted by the autonomous nervous system and by a complex reflex system (Hainsworth, 1995); the use of anesthetics may reduce it, but it cannot be completely eliminated. It is usually of the same order of magnitude as the amplitude of the signal components related to neural activity, and constitutes the most important source of error when estimating the neural response. This is illustrated in Figure 8-1(C-D), where several signals of sets Z^A (C) and Z^B (D) for one experiment are shown together with their respective ensemble means and their standard deviations (after suppression of η). The estimated mean evoked response is also shown in Figure 8-1(D); its amplitude is clearly of the same order of magnitude as the artifact variability.

Figure 8-1. (Figure 2-11) **A:** Typical $L_{\Delta F/F}$ signal recorded in a single cortical site without stimulation showing several cycles of the strong HA. **B:** Power Spectral Density (PSD) of the HA estimated by ensemble averaging the individual PSDs of 244 signals (two sets recorded from the 144 cortical sites) without stimulation. The insert shows a detail of the same PSD estimation for $f < 50$ Hz. **C:** Detail of the early part of the mean artifact amplitude and variability for 55 cycles. **D:** Same for signals observed when single tone stimulation is presented in synchrony with the cardiac pulse. The average evoked response is also shown; it results from the subtraction of the mean curve in C from mean curve in D.

8.4.2 Measurement noise

In vivo measurements of cortical electrical activity obtained with optical imaging techniques and fluorescent potential-sensitive dyes are usually very noisy. A large quantity of dye molecules settles in the extracellular space, so that only a small fraction of the total available molecules effectively binds to the neurons' membranes. The amount of useful fluorescent photons is thus very small compared to the high level of background fluorescence; and the photodetection signal to noise ratio, which is proportional to the square root of the number of available photons, is very low (Grinvald et al., 1999b).

Noise has been characterized in this study for data sets obtained under two different experimental conditions. A first set of data was obtained in each experimental session while the excitation light was turned off. A second set of data was obtained at the end of the experimental session once the animal has been sacrificed. The first set of data represents the noise of the instrumentation chain, while the second represents the total measurement noise (i.e. the sum of the noise due to the unbound dye and the instrumental noise), in addition to some residual biological activity.

Figure 8-2. (Figure 2-8) Instrumental noise statistics (No excitation light).

Figure 8-3. (Figure 2-5) Total measurement noise + residual biological activity statistics (Dead animal).

Analysis of the first data set showed that the instrumental noise closely approaches a normal distribution with negligible autocorrelations (see Figure 8-2), and that noise statistics are homogeneous over all measuring sites (not shown). Analysis of the second data set showed that the total measurement noise (i.e. instrumental plus unbound dye) presents a more asymmetrical distribution (see Figure 8-3) and that its statistics are less homogeneous (not shown). However, the deviation from gaussianity and from zero autocorrelations is not significant (except for few data that might be perturbed by fluctuations in the excitation-light source or other external non-permanent interferences).

To conclude, the data are dominated by a very strong and variable artifact; and by random instrumental noise that can be modeled by a multivariate, centered, uncorrelated, and homogeneous Gaussian distribution.

8.5 Intrinsic signal estimation procedures

In order to estimate the intrinsic signal, one must eliminate the HA and suppress the measurement noise; we will now describe these two procedures.

8.5.1 Hemodynamic artifact processing

A common way to proceed with the HA is to use the dataset \mathbf{Z}^A to estimate it, and then to eliminate this estimate from the dataset \mathbf{Z}^B . The result is expected to contain only the evoked neural activity, plus a residual signal independent from the cardiac cycle and from the stimulation and composed by both intrinsic activity and measurement noise. The success of this approach depends on the quality of the artifact estimation. The two main assumptions of all procedures based on this idea are: first, a good reproducibility of the hemodynamic activity in each cardiac cycle; and second, that the fluorescence changes produced by the intrinsic activity combine linearly with that produced by the hemoglobin concentration changes.

The existing literature proposes two main procedures to eliminate the artifact from single recordings, both by subtraction of an artifact estimate from each raw signal ($\hat{\mathbf{s}}_n = \hat{\mathbf{a}}_n - \mathbf{z}_n^B$); either by subtraction of the two alternate recordings for each trial ($\hat{\mathbf{a}}_n = \mathbf{z}_n^A$), or by subtraction of an artifact estimate obtained from a full set of stimulation-free recordings ($\hat{\mathbf{a}}_n = \theta(\mathbf{Z}^A)$). In the first case, the main assumption is that the change of the hemodynamic activity from two successive recordings is negligible, so that the signal \mathbf{z}_n^A is itself the estimate of the artifact in \mathbf{z}_n^B (see for instance: Horikawa et al (1996)). This approach has two main drawbacks: first, a significant bias because the HA shows actually a poor reproducibility in repeated recordings (see section 8.4.1); second, an increase on the variance of the noise due to the subtraction of two noisy signals. In the second procedure the estimate is usually obtained by ensemble averaging ($\hat{\mathbf{a}}_n = \Sigma_n(\mathbf{Z}^A)$) (see for instance: Tokioka et al. (2000) and Arieli et al. (1995)), and has the benefit of reducing the noise variance in the artifact estimate. Nevertheless, it has also two main drawbacks: first, that the main assumption of this method is that of a small variability of the artifact so that the mean curve effectively approximate the artifact in each trial; and as we have already discussed, this is not true (see section 8.4.1); second, that the regularity of the estimate depends on the availability of a huge number of artifact realizations.

In order to improve the quality of the evoked response estimate with respect to the previous approaches, we introduced a regularization of the artifact estimate by linear filtering before subtraction. This approach takes into account the oscillatory behavior of the hemodynamic activity, which is actually a slow varying process with most of its power located in frequencies ranging from 1 to 40 Hz (see Figure 8-1). Faster signals mainly correspond to the measurement noise and to stimuli-uncorrelated intrinsic activity. In contrast to the standard elimination procedures, this simple method avoids increasing the variance; and combined with nonlinear denoising (see next section) of the \mathbf{z}_n^B signal, it results in a fast single-trial estimation of the intrinsic activity (see Figure 8-4). More specifically, we compute:

$$\hat{s}_n = \hat{a}_n - y_n = \phi(z_n^A) - \gamma(z_n^B),$$

where $\phi(\cdot)$ is a non-causal (forward-backward) linear low-pass filter with $f < 40\text{Hz}$, $\gamma(\cdot)$ is a wavelet transform based nonlinear denoising function (to be described in the following section), and y_n is the denoised signal contaminated by the HA.

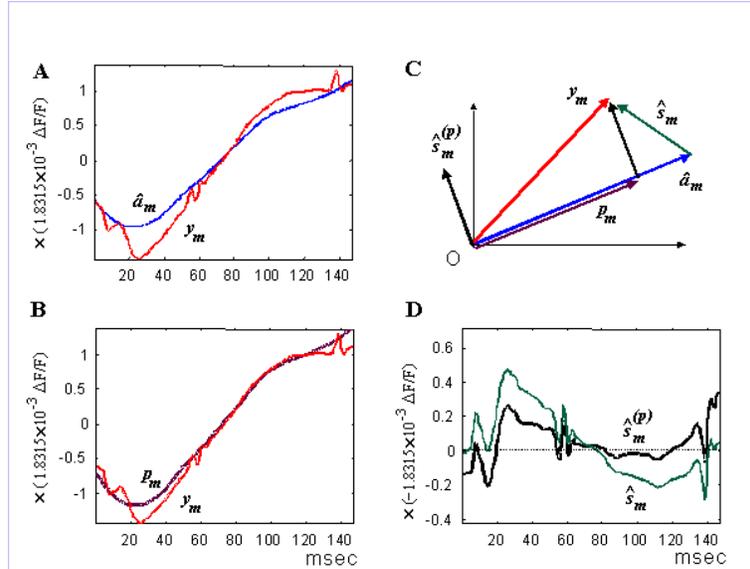


Figure 8-4. HA processing. **A:** A denoised, yet HA corrupted, single-trial $L_{\Delta F/F}$ signal that contains an evoked response (y_m) is shown together with the artifact estimate obtained by linear filtering of the ensemble average of a set of $L_{\Delta F/F}$ signals obtained without stimulation (\hat{a}_n). **B:** The same signal shown together with the HA projection estimate (p_n). **C:** Simplified graphic representation of the two HA elimination procedures (see text for details). **D:** The two final estimates of the intrinsic activity signal obtained with both procedures (\hat{s}_n and $\hat{s}^{(p)}_n$).

An alternative method that has been proposed to reduce the bias is to adapt any of these artifact estimates to the actual shape of signal z_n^B (see (Samonas et al., 1997) and (Arieli et al., 1995)). This can be done by vector decomposition; projecting z_n^B onto the artifact estimate to find the signal component that better approximates the actual artifact:

$$p_n = \mathbf{u} \langle z_n^B, \mathbf{u} \rangle, \quad \text{where } \mathbf{u} = \frac{\hat{a}_n}{\|\hat{a}_n\|}$$

$$\hat{s}^{(p)}_n = p_n - \gamma(z_n^B),$$

Although this method certainly limit the bias, it consistently deforms the estimated signal because it is based on the assumption that the values of z_n^B are normally distributed around the artifact; whereas the fluorescent evoked response is actually an intensity signal whose values have an asymmetric distribution with respect to the real artifact. An example is shown in Figure 8-4 where the ensemble mean estimation clearly outperforms the projection estimation method in the initial part of the signal. In fact, the bias introduced by the projection method depends on

the intensity of the evoked response (i.e.; the more intense the cortical response is, the more the projection estimate will be biased with respect to the real artifact).

It is not obvious that any of the artifact estimation procedures just described result in a lower bias than the others. Hence, bias is inevitable and must be taken into account when analyzing the results.

8.5.2 Measurement noise suppression

$L_{\Delta F/F}$ signals often have a very poor Signal to Noise Ratio, preventing the accurate estimation of the cortical electrical activities and limiting its effectiveness to track dynamical changes and spatiotemporal interactions. In addition, auditory evoked responses to simple stimuli are usually highly non-stationary because of the non-linear physiological processes involved, and so they are not well represented in the Fourier domain. For instance, mean evoked responses to short tone bursts under anesthesia start with a very fast depolarization caused by AMPA-receptor-mediated excitation; and then they slowly fall down because of GABAergic inhibition (Horikawa et al., 1996). More complex stimuli and lower levels of anesthesia are expected to generate very complex and non-stationary spatio-temporal patterns of response, including complex oscillations. Because of this fact, traditional linear filtering techniques should not be used.

The most popular neural activity estimation method consists of a simple ensemble averaging over many repetitions of an experiment. Nevertheless, ensemble average calculations show at least two problems. First, they rely on the assumption that the observed cortex is an ergodic system, such that the same stimuli always provoke the same cortical response and that fluctuations around this response are normally distributed. However, it is well-acknowledged that ergodicity does not hold in general; and in particular, not in the cortex, that is subject to many influences in addition to external stimuli. Another problem of this technique is that any stimuli-correlated important information contained in the fine detail of each recorded signal is completely lost when one averages across many trials due to imperfect time alignment of the evoked responses. In addition, any interesting stochastic fluctuations not time-locked to the stimulus are also lost.

Non-stationary signals such as the optical evoked responses are better represented in a wavelet space, and denoising them is better achieved by the use of non-linear approximation such as thresholding of the wavelet transform coefficients (Mallat, 1999). We have used a wavelet transform based method developed by Huang and Cressie (Huang & Cressie, 2000) that allows the estimation of stochastic signals corrupted by Gaussian noise, and which we have modified slightly to obtain better noise reduction in real optical signals. You can see a detailed description of the method in chapter 4.

8.6 Spectral Analysis

Figure 8-5 illustrates some representative signals obtained after processing the HA (no denoising). One can readily see some variability between consecutive trials both with and without stimulus. In particular, slow varying waveforms similar in strength with the mean evoked response, but not time-locked with it, are clearly observed in the last three signals. Weaker, but non-negligible high frequency variations are also observed.

Figure 8-5. (Figure 5-2) Variability between signals recorded in consecutive trials. The mean evoked response is superposed in each plot for comparison (blue).

We have examined the power spectrum of both Z^B and Z^A datasets after processing the artifact with the methods discussed in section 8.5.1 in order to study the spectral properties of the InV. We will focus specially on the residuals of the Z^A signals after processing, which are supposed to contain only spontaneous ongoing intrinsic activity and measurement noise. Spectra have been calculated for each signal without eliminating the measurement noise in order to avoid high frequency artifacts on the Fourier domain due to the use of wavelet transform denoising methods. The ensemble statistics of the spectra across trials have been studied.

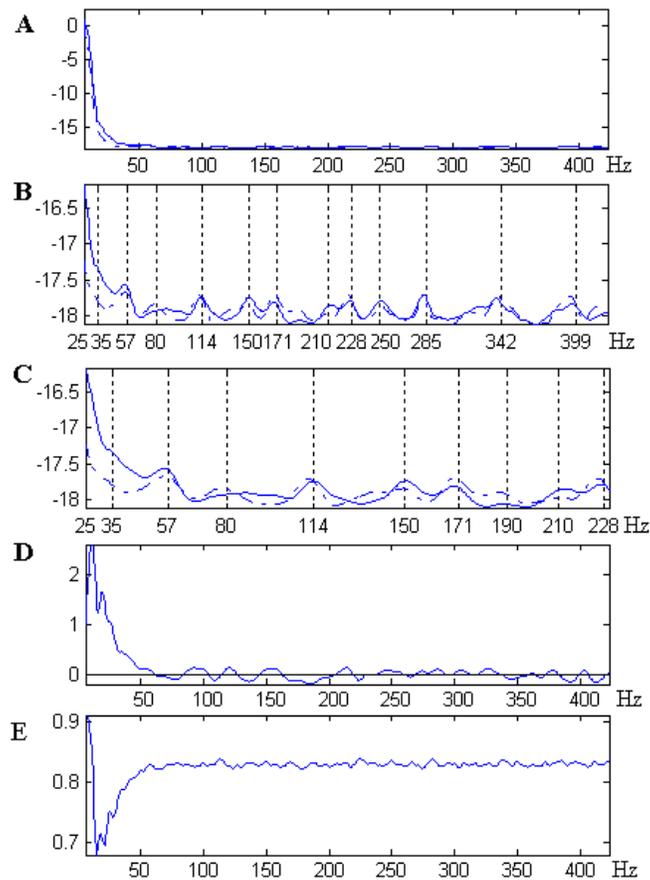


Figure 8-6. Comparative spectral analysis between data recorded with (continuous line) and without (dotted line) stimulation (Z^B and Z^A , respectively); for single tone burst stimulus, 144 channels, 48 trials, sampling frequency = 1736 Hz, and data length = 300 points. PSDs are shown in logarithmic scale. **A,B,C:** PSD of both datasets after artifact removal (ensemble average of single-site PSDs over all sites and all trials). **A:** Power is concentrated in low frequencies ($f < 40$ Hz) and overall spectral content is very similar. **B:** Detail of the high frequency content ($f > 25$ Hz) for both datasets; peak frequencies are shown. Small differences of spectral content are perceptible. **C:** Zoom over the frequency band showing most of the difference between both datasets. **D:** Power ratio between both datasets ($PR = 10 \log(\text{PSD}(Z^B) / \text{PSD}(Z^A))$) showing their relative spectral distribution. **E:** Coherence between both datasets ($C_{A,B} = |\text{PSD}(Z^B, Z^A)|^2 / (\text{PSD}(Z^B)\text{PSD}(Z^A))$). Spectral contents are very similar except for the spectral band corresponding to the evoked responses.

In Figure 8-6, the results of the spectral analysis confirm the observations made in Figure 8-5 for the entire Z^A dataset (results are similar for the Z^B dataset). These results are evidence that the so-called spontaneous activity is dominated by slow activities, localized in frequencies around 6 Hz and up to roughly 20 Hz (the data length limits the measurable spectrum to frequencies higher than 5.8 Hz). These spectra are in good agreement with the results obtained by Tokioka and Arieli, with low frequency oscillations (< 25 Hz) dominating the observed signals both in presence and in absence of stimulation. However, they show also some additional (but weak) information on components at higher frequencies.

Other small frequency peaks are seen in both datasets at higher frequencies (e.g., frequencies near 35, 57, 80, 114, 150, 171, 190, 210 Hz, and other peaks); some of this oscillatory power might be related to intrinsic activity. However, most of these peaks can be easily explained as being harmonics of the fundamental frequency of the HA ($f \sim 5.2$ Hz); and so they seem to be just residual errors after processing the HA.

Figure 8-6-D and Figure 8-6-E, allow us to compare the PSD of both datasets with two different measures: the spectral power ratio and the coherence. Both spectra are very similar overall, except for frequencies between 7 and 40 Hz. Most of the differences between evoked responses and stimuli-independent intrinsic activity are concentrated in this band. However, small differences are apparent at higher frequencies (i.e. ~ 90 to 200 Hz).

Finally, short oscillatory bursts at high frequencies ($f \sim 500$ Hz) have also been observed using time-frequency analysis (not shown). These bursts may reflect fast postsynaptic potentials of cortical origin (they may be related to gamma band oscillations (Steriade et al., 1998)). Nevertheless, they occurred too rarely in our data, preventing us to compute any relevant statistics and to draw any conclusion.

In the following section we will focus on the low frequency variability.

8.7 Influence of intrinsic variability and extrinsic variability residual errors on evoked neural activity measures

Evoked neural responses are usually assumed to be independent of the intrinsic stimuli-uncorrelated variability in electrode recordings; in this case the extrinsic and intrinsic fluctuations are very strong and completely mask the evoked activity. Therefore, multiple-trials and ensemble averages are commonly used in order to obtain average evoked responses, from which one can not infer anything about single responses. In contrast, using VSDOI data, we can in principle test another hypothesis; namely, that the features of the single-trial evoked activity depend on the local ongoing neural spontaneous activity. This can be done by studying single trial estimations of the total intrinsic activity (stimuli-uncorrelated and stimuli-correlated), that can be obtained as has been described in section 8.5. Some authors claim that the InV indeed plays a role in the definition of the amplitude and the dynamics of evoked neural activities (see (Arieli et al., 1996)); we will see that this conjecture is not so certain.

8.7.1 Hemodynamic artifact residual errors and evoked response

Based on the analysis of VSDOI data, Arieli et al. (1996) and Tokioka et al. (2000) have proposed that low frequency ongoing stochastic activities can be observed during in-vivo experiments (on the visual and auditory cortex, respectively), and that they have a direct influence in evoked responses. Arieli et al. (1996), propose that much of the trial-to-trial variability observed in this data can be attributed to this slow, spontaneous, ongoing activity; and that its amplitude in any single recording can be approximated by the value of the single-trial signal at the instant just before the onset of the average evoked response. Moreover, they suggest that a linear relationship exists between the ongoing activity estimated in this manner and the amplitude of the single-trial evoked activity (see Figure 2 in (Arieli et al., 1996)).

However, we will show in this section that a completely different interpretation can be done of the same observations. We will not assume, as Arieli et al. and Tokioka et al. did, that the low-frequency uncorrelated variability (UV) corresponds to spontaneous ongoing activity. We will rather show that much of this trial-to-trial variability can be attributed to residual errors in the HA elimination procedure. In addition, we show that a linear relationship can be drawn between the residual errors and the amplitude of the single-trial evoked response. We suggest that the data observed by Arieli et al. and Tokioka et al. were indeed contaminated by residual errors, and that these residual errors and not the spontaneous ongoing activity are responsible for most of the observed UV. As a corollary, we suggest that low-frequency intrinsic UV is imperceptible in this kind of experiment, and we will discuss why this occurs.

Let us define the residual error after the HA suppression procedure for a given signal as:

$$\varepsilon_n^0 = a_n(t_0) - \mu_\alpha(t_0),$$

where t_0 is the instant just before the onset of the average evoked activity, and $\mu_\alpha(t)$ is the HA prototype that is estimated as:

$$\mu_\alpha(t) \approx \phi\left(\sum_{n=1}^N z^A(t,n)\right),$$

where ϕ is a linear filter that regularizes the estimated artifact shape and N is the number of artifact examples (single trials, free of stimulation).

In Figure 8-7-A, two raw single-trial signals containing evoked responses are compared with $\mu_\alpha(t)$ ($N=48$ trials). In Figure 8-7-B a detail of the first 86 msec is shown; the similarity between the shape of $\mu_\alpha(t)$ and that of the artifacts in each trial is clear. Both signals correspond to the response of a single site in the dorsaucaudal area of the AC, in response to pure tone burst stimuli (frequency 12 kHz). Figure 8-7-C displays the two single-trial estimations of the evoked activity after subtraction of $\mu_\alpha(t)$, before and after instrumental noise elimination, and together with the mean evoked response. In this figure it is obvious that the bias introduced by the subtraction of $\mu_\alpha(t)$ can be significant in some trials (This figure illustrates the largest and the smallest residual errors found in the data set used for this analysis).

Finally, Figure 8-7-D displays the relationship between the HA residual errors measured just before the onset of the average evoked response (at 16 msec) and signal values at the peak time of the average evoked response (at 26 msec). A linear relationship between these two quantities can be clearly identified. This result is very similar to the one observed in (Arieli et al., 1996);

the correlation coefficient is typically bigger than 0.75, varying among cortical sites, and can reach values of 0.9, similar to those found by Arieli. Differences in the correlation coefficients can be explained by differences in the denoising procedures (we used a nonlinear technique that retains local fluctuations, whereas Arieli et al. smoothed the signal with a Gaussian window); the presence of outliers must also be taken into account. In addition, the slope of the linear dependency is very close to one, just as in (Arieli et al., 1996). Nevertheless, we found this value a little suspect, and deserving additional attention. We will focus on this value in the next section.

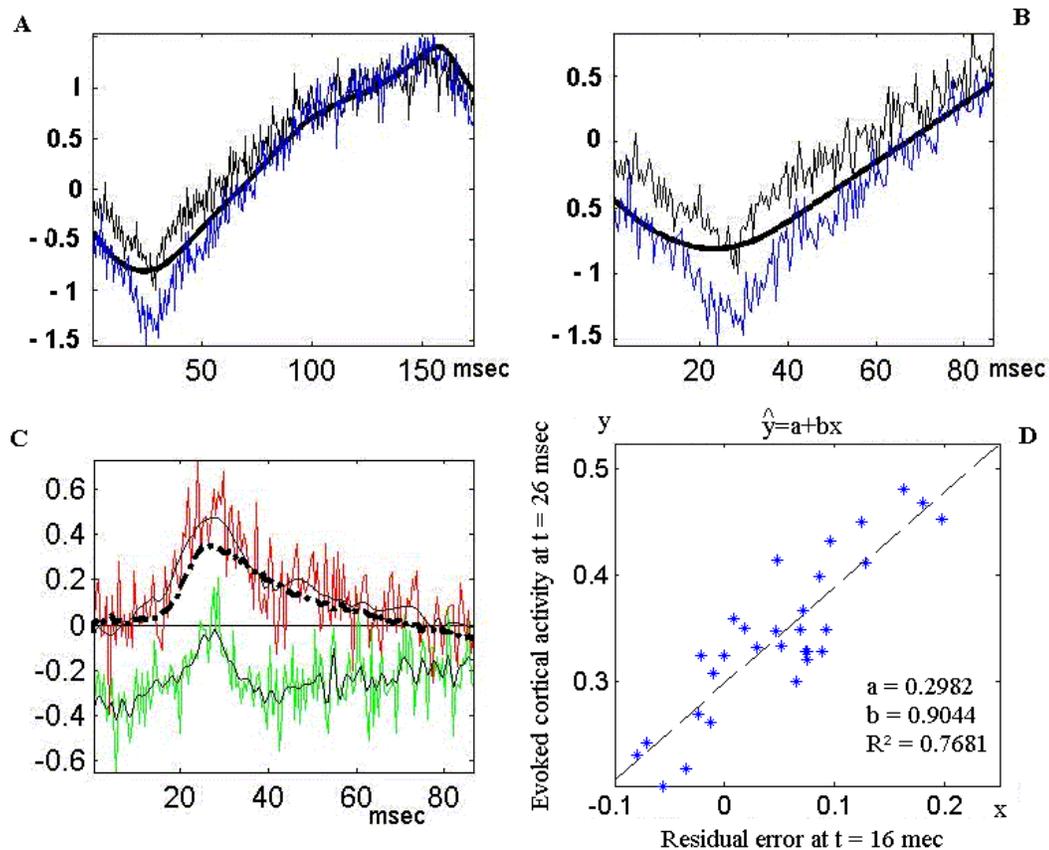


Figure 8-7. **A :** Two raw $L_{\Delta F/F}$ signals containing evoked responses and contaminated by the HA and noise. The mean HA calculated over 55 trials is superposed (thick line). **B:** Detail of figure A for the first half of the recording, showing the similarity of the artifact shape across trials. **C:** Single-trial evoked responses estimated by subtraction of the mean HA; noisy and denoised signals are superposed, together with the mean evoked response across trials (thick line-dot). **D:** Linear regression between the values of the estimated signals just before the onset of the average evoked activity (i.e. The HA residual errors), and the values of the signals at the instant of maximum average evoked activity.

8.7.2 Ongoing activity, or residual errors?

Simple mathematical considerations about the shape of the artifact and about its processing can shade some light about this linear relationship and about its slope. The result makes low-frequency spontaneous ongoing activity a variable of questionable relevance (at least for the experimental conditions used in this study).

As a first observation, we have seen that a small but significant amplitude variability of the HA exist from trial to trial; hence we can write:

$$a_n(t) = \mu_\alpha(t) + \varepsilon_n(t)$$

Because we know the mean artifact waveform, we can estimate the amplitude of the artifact in any signal at a given instant t_s (e.g., at the average evoked response peak time) with respect to its value at time t_0 (e.g., at a time just before the onset of the average evoked response). For the mean artifact, we can write:

$$\mu_\alpha(t_s) = \mu_\alpha(t_0) + K_s$$

And for any trial n we can write:

$$a_n(t_s) = \mu_\alpha(t_s) + \varepsilon_n(t_s) = \mu_\alpha(t_0) + K_s + \varepsilon_n(t_s)$$

Since, the variation of the shape of $a_n(t)$ from trial to trial is assumed to be very small; the residual error curve $\varepsilon_n(t)$ is assumed to be slowly varying, such that $\varepsilon_n(t_0) \approx \varepsilon_n(t_s)$. Therefore, we can express the value of the artifact at any instant as:

$$a_n(t_s) = \mu_\alpha(t_0) + K_s + \varepsilon_n(t_0) = a_n(t_0) + K_s$$

The raw signal observed at any trial n , under stimulus presentation, is given by:

$$z_n(t) = s_n(t) + e_n(t) = (f_n(t) + u_n(t)) + (a_n(t) + \eta_n(t))$$

And for a given instant t_s we can write:

$$z_n(t_s) = s_n(t_s) + (a_n(t_s) + \eta_n(t_s)) = (a_n(t_0) + K_s) + s_n(t_s) + \eta_n(t_s)$$

Finally, if we suppose that the value of the intrinsic signal at t_s is constant across trials ($s_n(t_s) = C_s$), we obtain the following equation:

$$z_n(t_s) = a_n(t_0) + K_s^* + \eta_n(t_s), \quad \text{where } K_s^* = K_s + C_s$$

This equation clearly explain the linear dependency found in (Arieli et al., 1996) between $z_n(t_s)$ and $a_n(t_0)$. We can also write this relation as:

$$z_n(t_s) - \mu_\alpha(t_s) = \varepsilon_n^0 + C_s + \eta_n(t_s),$$

that explains the linear dependency between the value of the single-trial signal estimations at instant $t_s = t_{peak}$; (i.e. $\hat{s}_n(t_{peak}) = z_n^B(t_{peak}) - \mu_\alpha(t_{peak})$) and ε_n^0 , as shown in Figure 8-7.

In addition, the theoretical slope in both equations is 1, which is compatible with the values observed with the experimental data in both figures, and the intercept of the second equation is C_{peak} , which is simply the peak value of the mean evoked activity. Finally, the correlation coefficient depends on the residual variance after instrumental noise suppression. The important values of the correlation coefficient found with the experimental data mean that the peak value of the evoked response is almost constant across trials.

The fact that this linear dependency is compatible with the assumption that $s_n(t_s)$ is constant across trials suggest that the contribution of an spontaneous, stimuli-uncorrelated intrinsic activity (u_n) is negligible (at least at low frequencies). Hence, the low-frequency variability

typically seen in optical measures may be explained almost completely by the residual errors of the HA suppression procedures.

8.8 Discussion

The analysis of brain electrical activity signals has traditionally been focused on ensemble average estimates of stimuli evoked responses. This kind of processing emphasizes the signal components that are time-locked with stimuli presentation and invariable from trial to trial (the mean evoked response); whereas trial-by-trial variability, being supposedly of an extrinsic nature, is wiped out. However, part of this trial-by-trial variability may be of an intrinsic nature; reflecting, for instance, stimuli-uncorrelated cortical ongoing activity. The underlying activity responsible for the InV may be related to functional control parameters, such as attentiveness or concentration, and it may play a role in the shaping of the single-trial evoked responses. Validating this last hypothesis requires the analysis of the neural activity in single trials rather than in ensemble estimates. However, the study of this kind of signals must take into account the existence of important extrinsic components that always present during in-vivo recordings and that can not be easily suppressed.

The analysis of the InV of neural populations activity signals obtained with fluorescent dyes and optical imaging techniques, and of its relationship with stimuli-evoked responses, has been the subject of at least two recent papers (Arieli et al., 1996; Tokioka et al., 2000). These authors base their analyses on the assumption of a precise single-trial estimation of the neural activity signal; yet, the accurate separation of intrinsic and extrinsic components from $L_{\Delta F/F}$ signals is a hard task.

This article explores the trial-by-trial variability of the $L_{\Delta F/F}$ signal and its relationship with stimuli-evoked responses. In addition, it underlines some problems commonly encountered in the single-trial estimation task and gives evidence that some published results might be flawed since they are supported by biased data resulting from the inaccuracy of the estimation techniques.

About single-trial intrinsic activity estimation

We have followed a similar approach to previous works ((Arieli et al., 1996; Tokioka et al., 2000)) to process the $L_{\Delta F/F}$ signals in single trials; yet, we have taken into account the HA residual errors in our analysis. We have shown that this signal processing strategy can not provide an unbiased estimation of the hemodynamic artifact (HA), preventing the accurate estimation of the intrinsic activity in single trials. The residual errors' is thus composed specially by slow time-varying waveforms of the same spectral content as the hemodynamic activity, but higher frequency oscillatory components corresponding to its harmonics are not negligible. Wavelet based denoising techniques have been used to eliminate measurement noise with relatively good results. However, these techniques are very sensitive to errors in variance estimation and to low SNR.

The use of the RH795 dye in these studies is an important factor on the amplitude of the residual errors because of its high sensitivity to hemoglobin concentration changes. Better quality estimates might be found by the use of better signal measurement and acquisition

techniques; such as the use of recent low-noise voltage-sensitive dyes that are less dependent on hemoglobin concentration changes (Shoham et al., 1999). Another possibility is the use of dual wavelength fluorescence measurements (Grinvald et al., 1999b), which may help to better estimate the HA.

About the relationship between trial-by-trial variability and evoked responses

Our results show that the relationship between spontaneous ongoing activities and evoked responses - if it exists – can not be measured with confidence using VSDOI measurements (with the RH795 dye). Since one can not effectively suppress extrinsic variations in $L_{\Delta F/F}$ signals, and residual errors overwhelm any spontaneous activity, no meaningful analysis of this relationship can be made.

Moreover, our results are evidence that the linear relationship between the (hypothetical) ongoing activity and the evoked response presented in former studies (see (Arieli et al., 1996)) is actually biased by the separation protocol used in those studies, and results from a flawed interpretation of the data. Explaining a linear relationship whose coefficient is equal to one can hardly be done using biological considerations. In contrast, we have given a simple mathematical proof for this coefficient by considering the residual errors in the elimination of the HA.

Arieli et al.'s analysis assumes that spontaneous cortical activities are oscillatory and slow time-varying; and slow oscillations have indeed been observed (see first pic on Figure 8-1-B). If, however, a low frequency oscillation were actually the main component in the variability, the only way of obtaining such a linear relationship would be almost perfect replications in each trial. This would mean either that the oscillation is in phase with the cardiac activity, or that it is so slow that it is almost constant during a typical recording. In the first case, the explanation would contradict the random character of the spontaneous activity; and in addition, it would make impossible the accurate separation of the intrinsic oscillation and the HA. In the second case the value of the slope (~ 1) would mean that the amplitude of the evoked response is independent of the slow intrinsic oscillation.

About spontaneous oscillations

According to Tokioka et al., the spectrum of the so-called “spontaneous activity” (on the AC of the guinea pig) ranges between 4 and 11 Hz, with the maximum peak near 5 Hz (Tokioka et al., 2000). Similar results have been found by Arieli et al. (on the visual cortex of the cat), who find that spectra of the InV are concentrated in frequencies smaller than 14 Hz. Slow oscillatory neural activities in this spectral band (δ and θ rhythms, and spindle waves) are indeed known to exist during natural sleep (Steriade et al., 1993). According to Tokioka et al., these slow stimuli-uncorrelated oscillations would be generated by a neural mechanism related to the thalamo-cortical projections arriving to the auditory cortical area under observation; this hypothesis is supported by several experimental observations (e.g., (Abeles et al., 1993b; Steriade et al., 1993)).

However, it is not clear that the optical imaging data used in these studies truly represent neural spontaneous activities. Tokioka et al.'s results were supported by single trial signals that have been processed with simple subtraction procedures and which have been observed during long time periods. Since the RH795 dye is very sensitive to the HA, and since the variability of the HA increases with time, their data may be biased by significant residual HA; i.e. the same residual errors that have been shown in the previous section to flaw Arieli's analyses. Moreover,

the cardiac rhythm of the Guinea-pig observed in our studies ranges between 5 to 6 pulses per second and its maximum spectral peak is around 5.2 Hz, just as the spectra observed by Tokioka et al. for their data and supposedly being of neural origin (compare Figure 8-1 with Figure 7 in (Tokioka et al., 2000)). In contrast, normal sleep oscillations have been observed (in cats) mostly at higher ($f \sim 7$ to 14 Hz (spindles)) or slower ($f \sim 1$ to 4 Hz (δ), and $f < 1$ Hz) frequencies (Steriade et al., 1993) (even if this values may vary somewhat between subjects and species). It is thus very likely that the oscillations observed by Tokioka are partly of cardiac rather than neural origin; just as it happens in our data and as it seems to happen for Arieli's data.

With respect to oscillations at higher frequencies, neither Arieli nor Tokioka have reported any observation. In contrast, we have seen multiple peaks at frequencies higher than 25 Hz and some high frequency bursts around 500Hz. Several authors have underlined the importance of synchronized activities and oscillations with periods between 10 and 30 msec (Amit & Brunel, 1997; Herculano-Houzel et al., 1999; Steinmetz et al., 2000); oscillations in these bands are frequently proposed as correlates of perceptive or cognitive neural process, and they correspond to the same frequency bands of neural oscillatory activities observed by several researchers (Eckhorn et al., 1988; Gray & Singer, 1989; Herculano-Houzel et al., 1999). Therefore, some of this signal variability may be of intrinsic nature, at least the peaks occurring at 35 and 80 Hz. However, most of these high frequency peaks have been easily explained as being residual errors in the form of harmonics of the HA (see section 8.6). The nature of the oscillatory bursts, on the other side, is still a mystery and merit more study. Non-oscillatory activities varying from trial to trial do occur, but they are difficult to characterize because of the small SNR of $L_{\Delta F/F}$ signals.

The importance of anesthesia

The fact that no definite evidence of significant intrinsic oscillatory activity (either spontaneous or evoked) has been observed during our analyses can be readily explained by the use of anesthesia. In fact, the type and level of anesthesia is a determinant factor, because it differentially inhibits the underlying mechanisms of neural oscillations (Antkowiak, 2001; Antkowiak & Kirschfeld, 2000) and cardiac activity (Roth et al., 2002). For instance, barbiturate anesthetics have a direct and powerful inhibitory action similar to GABAergic inhibition and are known to strongly depress cortical activity (Destexhe et al., 1999), while inhalation anesthetics like halothane desensitize cells, blocking ionic movement across the membrane.

Anesthetic agent depending differences can be found between Herculano-Houzel et al.'s data (combination of N_2O , O_2 , and Halothane), where gamma oscillations were clearly observed, and Arieli et al.'s data (Arieli et al., 1995) and our own experimental data, where barbiturates have been used and no significant gamma oscillations were observed. Differences can also be found for slow time-varying signal components: while they have been clearly shown to have an extrinsic nature for our data and (very likely) for Arieli et al.'s data too (see section 8.7), we can not be so sure about the nature of slow activities in Tokioka et al.'s data, which was obtained under Ketamine-Xylazine anesthesia.

Conclusions and perspectives

We have shown that, under commonly used experimental conditions, most of the trial-by-trial variability observed in VSDOI measurements is of an extrinsic nature, since it can be explained by residual errors of the artifact estimation procedures rather than by spontaneous ongoing

activities. This doesn't mean that the InV is negligible; it only means that most slow time-varying and fast oscillatory intrinsic variations are difficult to distinguish from extrinsic variations in this kind of measurements. The difficulty and importance of a precise estimation of the intrinsic activity are thus underlined. At least two important factors have been shown to influence data analysis: the quality of the fluorescent dye (noise and artifact sensitivity) and the type and depth of anesthesia. Therefore, more precise measurement and estimation techniques should be developed and a better control of anesthetic depth must be obtained, in order to allow the study of evoked responses and intrinsic variations in single trials. Devising new voltage-dependent dyes is a key issue, of which the relevance of optical imaging techniques in neural signals interpretation depends strongly.

Annexe 2

TECHNIQUES D'ANALYSE DE SIGNAUX NON STATIONNAIRES

9.1 Stationnarité

La notion de stationnarité d'un signal déterministe linéaire est liée à celle de stabilisation temporelle, et provient de la théorie de systèmes dynamiques linéaires. La théorie des signaux linéaires définit un signal stationnaire comme un signal qui peut être décomposé en une somme d'ondes sinusoïdales. De façon analogue à un système dynamique linéaire autonome qui atteint un régime temporel stable après un transitoire en se situant définitivement sur son attracteur périodique, c'est à dire que l'on suppose dans ce cas que l'origine ou la source du signal est le résultat de la somme des comportements d'un ou de plusieurs systèmes dynamiques linéaires autonomes stables.

Dans le cas d'un signal aléatoire linéaire, un signal est dit stationnaire si sa valeur espérée $E(x(t))$ est indépendante du temps, et si son autocorrélation $E(x(t_1)x^*(t_2))$ ne dépend que de la différence (t_1-t_2) . Pour la plupart des signaux réels, ces valeurs ne peuvent être connues mais peuvent être estimées par la moyenne temporelle $M(x(t))$ et par la fonction d'autocorrélation temporelle $C(x(t_1),x(t_2))$, respectivement. Si $M(x(t))$ et $C(x(t_1),x(t_2))$ suivent les propriétés énoncées auparavant pour $E(x(t))$ et $E(x(t_1)x^*(t_2))$, le signal $x(t_1)$ est défini comme étant stationnaire dans un sens large. Dans ces conditions, on peut montrer que pour le signal analytique associé, les valeurs espérées de l'amplitude et de la fréquence instantanées sont constantes et l'on peut faire le lien avec le cas déterministe.

9.2 Caractérisation

Dans l'analyse des signaux réels (sans composante complexe) qui nous intéresse, les signaux mesurés sont supposés être formés d'une partie déterministe porteuse d'informations, et d'une partie aléatoire (bruit) qui cache ces informations. Dans le cas le plus simple et le plus classique, la théorie de traitement des signaux repose sur la théorie des systèmes dynamiques linéaires autonomes (S.D.L.A). La partie déterministe évoquée ci-dessus correspond donc à des observations du comportement d'un ou plusieurs (S.D.L.A), dont l'information portée par le signal a été codifiée en variant les paramètres du (des) S.D.L.A(s). Les caractéristiques de la

réponse du (des) S.D.L.A. lors de la stabilisation représentent l'information codifiée. Les solutions de ces systèmes sont des exponentielles complexes, de manière que lors de la stabilisation, les signaux issus du système décrivent des oscillations périodiques de différentes amplitudes et fréquences. Ces signaux sont linéaires et stationnaires (i.e. invariants dans le temps) (L.T.I.), et dans ce cas la caractérisation est faite classiquement soit dans le domaine temporel, soit dans le domaine fréquentiel du signal.

Dans le domaine temporel, le signal est analysé par des caractéristiques simples (forme d'onde, amplitude, etc.), ou plus complexes comme la mesure des similarités entre signaux (récurrences ou périodicités pour un seul signal) en utilisant par exemple la fonction de corrélation (autocorrélation) linéaire. Si le signal a une composante aléatoire, les moments statistiques temporels du signal (moyenne, énergie ou puissance, etc.) sont analysés.

Dans le domaine fréquentiel, les signaux sont analysés dans un nouvel espace en utilisant une transformée linéaire qui décompose sur une base de fonctions d'analyse adéquate (Transformée de Fourier dans l'espace des fonctions périodiques sinusoïdales $e^{j\omega t}$). Si le signal a une composante aléatoire, les statistiques fréquentielles d'un signal (fréquence moyenne, Spectre fréquentiel d'Énergie ou de Puissance) ou de plusieurs signaux (Cohérence) sont analysées.

L'analyse des corrélations et l'analyse spectrale des signaux permettent d'étudier la dynamique et la 'mémoire' d'un S.D.L.A. ou l'existence des couplages entre plusieurs S.D.L.A.. Cependant dans le cas de systèmes plus complexes de nature non-stationnaire et/ou non-linéaire on peut avoir besoin d'autres outils plus performants. L'option classique, et parfois moins complexe, est l'étude du signal par morceaux qui eux sont stationnaires et linéaires. Par contre, cette option n'est pas adéquate quand le signal est fortement non-stationnaire et/ou non-linéaire.

Dans le cas linéaire non-stationnaire, des méthodes d'Analyse Spectrale Variant dans le Temps ont été développées dans les années 80 et arrivent maintenant à maturité, avec une théorie propre et des algorithmes adéquats pour son implémentation sur ordinateur. On trouve ici les analyses Temps-Fréquence, et Temps-échelle.

Cependant dans un cas plus complexe, pour les signaux fortement non-linéaires et non-stationnaires, on ne trouve pas le même développement, et un grand champ de recherche est ouvert. Le problème est encore plus important quand il faut analyser un système complexe formé d'un grand nombre de sous-systèmes non-linéaires et variant dans le temps et lorsqu'il faut tenir compte du domaine spatial (la localisation et géométrie des systèmes dynamiques sources).

Référence : (Duvaut, 1991)

9.3 Caractérisation Temps-Fréquence et Temps-Echelle

L'analyse spectrale temps-variant peut être divisée en deux groupes principaux selon le type de représentation conjointe de l'information : distributions covariantes en translation temps-

fréquence ou en translation temps-échelle ; et en deux types d'approche selon la linéarité de la représentation : décompositions linéaires (ou atomiques) et distributions bilinéaires.

Les décompositions atomiques linéaires sont le résultat de la projection des signaux sur une base de fonctions analysantes, pas nécessairement orthogonales. Chaque élément de la base analysante est basé sur une fonction prototype qui a de bonnes propriétés de localisation conjointe sur le plan bidimensionnel de la représentation. L'avantage de cette approche est le temps de calcul, grâce à la facilité que l'on a de développer des algorithmes rapides. D'autre part, dans les distributions bilinéaires la représentation est le résultat de l'utilisation d'un opérateur intégral sur une forme quadratique du signal. Cette approche est plus précise, une distribution bilinéaire peut satisfaire des propriétés strictes de localisation conjointe. Cependant, la bilinéarité provoque l'apparition de termes d'interférence et elle est, de plus, plus lourde à implémenter.

La représentation temps-fréquence est une extension naturelle de la transformée de Fourier dont la notion d'harmonique est remplacée par la notion de fréquence instantanée. La décomposition linéaire est en fait appelée "Transformée de Fourier à court temps". La distribution bilinéaire, appelée "classe de Cohen", est basée sur la notion d'opérateur unitaire du groupe de Weyl-Heisenberg.

La représentation temps-échelle permet de caractériser et suivre la structure du signal pendant le temps et de l'analyser à différentes échelles. Ceci permet par exemple d'étudier des petits détails à de hautes fréquences et d'étudier le signal de façon plus grossière à de basses fréquences, ou d'étudier des similarités dans la forme du signal à différentes échelles comme dans le cas des fractales. La décomposition linéaire est réalisée en utilisant un opérateur de déplacement temporel couplé à un opérateur de changement d'échelle et le résultat est appelé la Transformée en Ondelettes. La distribution bilinéaire est basée sur la notion d'opérateur unitaire du groupe algébrique "Affine".

Référence: (Auger et al., 1999)

9.4 Distributions bilinéaires, Classe de Cohen

La classe de distributions Temps-Fréquence la plus étudiée et utilisée est la classe de distributions bilinéaires de Cohen. Les distributions de cette classe possèdent la propriété de covariance en temps et en fréquence, c'est à dire que si un signal est déplacé en fréquence et en temps d'une certaine quantité, la représentation Temps-Fréquence va être déplacée de la même quantité.

L'expression générale de ces distributions peut s'écrire, soit sous la forme suivante :

$$C_x(t, f; p) = \iiint e^{j2\pi\theta(u-t)} p(\tau, \theta) x\left(u + \frac{\tau}{2}\right) x^* \left(u - \frac{\tau}{2}\right) e^{j2\pi f\tau} dud\theta d\tau,$$

soit sous cette forme :

$$C_x(t, \omega; \Phi) = \iint \Phi(\tau, \theta) AF(\tau, \theta) e^{-j(t\theta + \omega\theta)} d\theta d\tau$$

$$AF(\tau, \theta) = \int Rx(t, \tau) e^{j(t\theta)} dt$$

$$Rx(t, \tau) = x\left(t + \frac{\tau}{2}\right) x^*\left(t - \frac{\tau}{2}\right)$$

où AF est appelé « fonction d'ambiguïté », Φ est appelé le noyau de la distribution et Rx est défini comme l'autocorrélation instantanée. La fonction d'Ambiguïté est simplement la transformée inverse de Fourier, par rapport au temps, de l'autocorrélation instantanée, θ et τ sont respectivement le déplacement en fréquence (Doppler) et le déplacement en temps du signal.

Alors, nous pouvons interpréter les distributions temps-fréquence de la classe de Cohen comme le filtrage linéaire de la fonction d'ambiguïté du signal avec un filtre $\Phi(t, \omega)$ qui a comme double transformée de Fourier le noyau de la distribution.

9.5 Fonction d'Ambiguïté, noyau de la distribution, interférences et filtrage T-F

La notion de fonction d'Ambiguïté est très utile pour construire, comprendre et classer les différentes distributions temps-fréquence bilinéaires. On peut interpréter la fonction d'ambiguïté comme la fonction de corrélation du signal avec des copies de lui-même déplacées en temps et en fréquence. De cette façon un signal non-stationnaire simple, avec une certaine fréquence instantanée (unique), dont la fréquence varie dans le temps, va être représenté dans le plan d'ambiguïté (τ, θ) par une signature caractéristique.

$$AF(\tau, \theta) = \int \left(x\left(t + \frac{\tau}{2}\right) e^{j\left(t\frac{\theta}{2}\right)} \right) \left(x\left(t - \frac{\tau}{2}\right) e^{-j\left(t\frac{\theta}{2}\right)} \right)^* dt$$

Par exemple, un signal sinusoïdal avec une modulation linéaire en fréquence (*chirp*) va être représenté par une ligne qui passe par l'origine dans le plan d'ambiguïté. Si l'on a un signal multi-composantes avec plusieurs chirps parallèles on va retrouver la même forme et localisation de la signature (une ligne), mais avec une différence de phase qui correspond au déplacement en temps et en fréquence. La forme de la signature montre le type de relation temps-fréquence, et la phase montre la localisation exacte du signal dans le plan temps-fréquence.

Dans le cas d'un signal à plusieurs composantes on trouve un effet d'interférence dû au terme quadratique dans l'intégrale. Ces termes d'interférence se placent loin de l'origine. C'est possible de supprimer cette interférence si l'on multiplie l'AF avec une fonction qui élimine ces termes, cette fonction est le noyau de la distribution et chaque distribution TF est caractérisée par son

noyau. La représentation du noyau dans le plan d'ambiguïté doit avoir un support similaire au signal analysé pour obtenir un bon résultat.

Si le signal à multiples composantes avec différentes signatures dans le plan AF, le choix du noyau devient plus difficile. Si le comportement temps-fréquence du signal est invariable par rapport au temps, on peut choisir un noyau qui soit lui aussi invariable et qui soit le plus adapté aux signaux analysés. Cependant, en général ce n'est pas le cas, et l'utilisation d'un algorithme adaptable, avec un noyau qui varie dans le temps par rapport au signal, peut donner de meilleurs résultats.

9.6 Distribution Exponentielle et Noyau Optimal

Développée par Choi et Williams, cette distribution permet de contrôler l'effet des interférences des termes croisés dans des signaux multi-composantes. La technique est basée sur l'analyse du signal dans le domaine de la fonction d'ambiguïté et sur le fait que les termes croisés qui causent les interférences dans les distributions bilinéaires apparaissent éloignés du centre du plan d'ambiguïté. En utilisant un noyau exponentiel pour la distribution temps-fréquence, on arrive à diminuer ou même à supprimer les interférences.

$$\Phi_{ED}(\theta, \tau) = e^{-\theta^2 \tau^2 / \sigma}$$

Le contrôle s'exerce en variant le paramètre de dispersion σ de l'exponentielle, avec un σ petit on élimine les termes croisés, mais on diminue la résolution ; en augmentant σ on augmente la résolution, mais aussi les interférences. Il faut donc faire un compromis dans le choix de σ , selon le signal analysé.

Cette distribution n'élimine pas les problèmes d'interférence ni celui de la négativité, elle ne peut pas être considérée comme une vraie distribution d'énergie. Cependant, avec un bon choix du paramètre σ , et selon les caractéristiques du signal, on arrive à obtenir des distributions pratiquement libres de ces effets.

Référence: (Zaveri et al., 1992)

9.7 Distribution avec Interférence Réduite (RID)

La RID a été développée par Williams et al. (1996), il s'agit de la généralisation et de l'amélioration de la distribution exponentielle. Son noyau est construit de façon à atténuer les termes d'interférence de façon similaire à la distribution exponentielle, mais en plus il a la valeur de 1 sur les axes θ et τ dans le plan d'Ambiguïté de façon à retenir les marginaux en fréquence et temps.

Elle présente plusieurs propriétés souhaitables dans une représentation temps-fréquence qui font d'elle une des meilleures représentations pour des signaux déterministes et plutôt simples, c'est à dire pour des signaux pour lesquels les caractéristiques fréquentielles ne varient pas trop dans le temps et sont de courte durée. Le noyau de la distribution peut être construit en utilisant une méthodologie de design qui permet de choisir un noyau adéquat selon le signal analysé.

La procédure est la suivante :

1. Désigner une fonction primitive $h(t)$ réelle dans le temps qui satisfait les propriétés suivantes : aire unitaire, symétrique, limitée en temps ($h(t) = 0$ pour $t > |I/2|$, en se rapprochant doucement de zéro).
2. Le noyau est la transformée de Fourier de cette primitive par rapport au produit $\tau\theta$.

$$\Phi_{ED}(\theta, \tau) = \int h(t) e^{-j\theta\tau} dt$$

Avec cette méthodologie on obtient un noyau fonction du produit $\theta\tau$, et la distribution présente par conséquence la propriété d'invariance d'échelle (Williams, 1996).

9.8 Transformée en Ondelettes

La transformée en ondelettes (TO) est une transformée linéaire qui permet la caractérisation d'un signal non stationnaire dans un plan temps-échelle. Au contraire de la transformée de Fourier, qui décompose le signal en une somme de sinus et de cosinus et qui ne permet pas de connaître la localisation temporelle d'un événement, la TO projette le signal dans une base formée par des fonctions oscillantes de durée finie, les ondelettes. Il est donc possible d'étudier les propriétés locales des signaux, et de caractériser des transitoires et des signaux très complexes. Les ondelettes sont souvent utilisées pour l'analyse des signaux autosimilaires, comme ceux issus des systèmes non linéaires chaotiques, qui présentent un comportement morphologique fractal. Cependant l'analyse porte plus sur la forme du signal que sur la non linéarité du système.

La TO d'une fonction f est donnée par l'équation suivante :

$$Wf(a,b) = \langle f(t), \psi_{a,b} \rangle = \int_{-\infty}^{\infty} f(t) \frac{1}{\sqrt{a}} \psi^*\left(\frac{t-b}{a}\right) dt,$$

où $Wf(a,b)$ est la TO de f , a est un paramètre d'échelle, b un paramètre de localisation temporelle et $\psi_{a,b}(t)$ est l'ondelette (que nous allons supposer réelle par la suite). Une ondelette $\psi(t)$ est une fonction oscillatoire, normalisée (i.e., $\|\psi(t)\| = 1$), pour laquelle :

$$C\psi = \int_0^{\infty} \frac{|\widehat{\psi}(\omega)|}{\omega} d\omega < +\infty \quad (\text{Condition d'admissibilité})$$

où $\widehat{\psi}(\omega)$ est la transformée de Fourier de $\psi(t)$. Cette condition implique que $\widehat{\psi}(0) = 0$, c'est-à-dire, que sa moyenne est nulle :

$$\int_{-\infty}^{\infty} \psi(t) dt = 0$$

et qu'elle est continuellement différentiable. En ce cas, on peut reconstruire le signal par :

$$f(t) = \frac{1}{C_{\psi}} \int_0^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} Wf(a,b) \frac{1}{\sqrt{a}} \psi\left(\frac{t-b}{a}\right) db \frac{da}{a^2}$$

La théorie de la TO est très bien expliquée dans de nombreux textes et nous n'allons pas la développer d'avantage ici. Je conseille en particulier le livre de Stéphane Mallat (Mallat, 1999). D'autres références intéressantes sont (Cohen & Kovacevic, 1996; Daubechies, 1992; Jawerth & Sweldens, 1994; Meyer, 1994).

9.9 Transformée en Ondelettes Orthogonale (TOO)

La TO est cependant difficile à utiliser directement, son calcul est lourd et souvent inutile. En plus, le signal que nous avons étudié a été échantillonné à une fréquence finie, et l'information contenue dans la TO est donc très redondante. Une manière de réduire cette redondance est de n'analyser qu'un nombre fini d'échelles, et d'adapter l'échantillonnage selon l'échelle analysée. Pour un échantillonnage régulier du signal f , il est naturel d'étudier des échelles séparées d'une octave et d'utiliser un échantillonnage dyadique (en puissance de deux) suivant l'échelle. Ceci peut s'écrire de la manière suivante :

$$Wf(2^j, 2^j n) = \langle f(t), \psi_{j,n} \rangle, \quad \psi_{j,n}(t) = \frac{1}{\sqrt{2^j}} \psi\left(\frac{t-2^j n}{2^j}\right); \quad j, n \in \mathbf{Z}$$

Si le but de l'analyse est de représenter l'information contenue dans le signal f de manière optimale, la suite logique est de trouver une base orthonormée $\{\psi_{j,n}(t)\}_{j,n \in \mathbf{Z}}$; ces bases ont été construites par Ingrid Daubechies (Daubechies, 1992). Les ondelettes de Daubechies sont à support compact et minimal, ce qui limite le nombre de coefficients nécessaires pour caractériser un signal régulier, et qui les rend très utiles pour la compression de données.

La décomposition du signal dans une base d'ondelettes orthogonale est réalisée de manière aisée avec un algorithme rapide développé par Mallat (Mallat, 1989). Cet algorithme, connu sous le nom de Transformée en Ondelettes Orthogonale, se base sur une analyse multirésolution du signal (\bullet) et sur l'utilisation de filtres discrets pour passer d'une résolution à l'autre. Dans les lignes qui suivent on récapitulera cette technique ; elle est développée en détail dans (Mallat, 1999).

- Une analyse multirésolution de $L^2(\mathbb{R}^n)$ est une suite $\{V_j\}_{j \in \mathbb{Z}}$ de sous-espaces fermés de $L^2(\mathbb{R}^n)$, pour lesquels les propriétés suivantes se vérifient :

1. $\forall (j,k) \in \mathbb{Z}^2 \text{ et } \forall f \in L^2(\mathbb{R}^n), f(t) \in V_j \Leftrightarrow f(t-2^j k) \in V_j$

2. $\forall j \in \mathbb{Z}, V_{j+1} \subset V_j$

3. $\forall j \in \mathbb{Z} \text{ et } \forall f \in L^2(\mathbb{R}^n), f(t) \in V_j \Leftrightarrow f(2^{-j}t) \in V_{j+1}$

4. $\lim_{j \rightarrow \infty} V_j = \bigcap_{-\infty}^{\infty} V_j = \{0\}$

5. $\lim_{j \rightarrow -\infty} V_j = \text{Fermeture} \left(\bigcup_{-\infty}^{\infty} V_j \right) = L^2(\mathbb{R}^n)$

6. $\exists \phi(x) \in V_0$, d'intégrale non nulle, telle que $\{\phi(x-k)\}_{k \in \mathbb{Z}}$ est une base de Riesz de V_0

Celle-ci est la définition donnée dans : (Mallat, 1999). A noter que dans cette définition, les espaces V_j sont indexés par rapport à l'échelle (l'échelle est égale à 2^j et la résolution est égale à 2^{-j} ; si j augmente, la résolution diminue); il serait donc plus exact de parler d'analyse multiéchelle. Dans beaucoup de publications ils sont indexés de manière inverse, c'est-à-dire, par rapport à la résolution (e.g., voir (Cohen & Kovacevic, 1996; Jawerth & Sweldens, 1994)).

La fonction $\phi(t)$ est appelée fonction d'échelle, et elle est définie par des filtres discrets ($h[n]$) de la manière suivante :

$$\frac{1}{\sqrt{2}}\phi\left(\frac{t}{2}\right) = \sum_{-\infty}^{\infty} h[n]\phi(t-n)$$

Ces filtres, appelés filtres miroirs conjugués, sont donnés par :

$$h[n] = \left\langle \frac{1}{\sqrt{2}}\phi\left(\frac{t}{2}\right), \phi(t-n) \right\rangle$$

et ses transformés de Fourier $H(\omega)$ vérifient les propriétés suivantes:

$$\forall \omega \in \mathbb{R}, |H(\omega)|^2 + |H(\omega+\pi)|^2 = 2,$$

$$\text{et } H(0) = \sqrt{2};$$

Pour chaque $j \in \mathbb{Z}$, l'ensemble $\{\phi_{j,n}(t)\}_{n \in \mathbb{Z}}$ est une base orthonormée de l'espace V_j (échelle 2^j),

$$\text{avec } \phi_{j,n}(t) = \frac{1}{\sqrt{2^j}}\phi\left(\frac{t-2^j n}{2^j}\right).$$

De manière similaire il existe un filtre $g(n)$, avec transformée de Fourier $G(\omega)$, et une fonction $\psi(t)$ pour lesquels

$$\frac{1}{\sqrt{2}}\psi\left(\frac{t}{2}\right) = \sum_{-\infty}^{\infty} g[n]\phi(t-n)$$

avec les propriétés suivantes:

$$G(\omega) = e^{-i\omega}H^*(\omega+\pi),$$

$$\forall \omega \in \mathbb{R} |G(\omega)|^2 + |G(\omega+\pi)|^2 = 2,$$

$$\text{et } G(\omega)H(\omega) + G(\omega+\pi)H(\omega+\pi) = 0$$

Ces propriétés impliquent que pour chaque $j \in \mathbb{Z}$, l'ensemble $\{\psi_{j,n}(t)\}_{n \in \mathbb{Z}}$ est une base orthonormée de l'espace \mathbf{W}_j où,

$$\psi_{j,n}(t) = \frac{1}{\sqrt{2^j}}\psi\left(\frac{t-2^j n}{2^j}\right),$$

$$\text{et } \mathbf{V}_{j-1} = \mathbf{V}_j \times \mathbf{W}_j$$

L'ensemble $\{\psi_{j,n}(t)\}_{j,n \in \mathbb{Z}}$ est une base d'ondelettes orthonormées de $L^2(\mathbb{R})$ et la paire de filtres $h[n]$ et $g[n]$ permettent donc de décomposer un signal dans cette base.

En pratique, le signal observé $x[n]$ est discret. Il est défini dans un espace de résolution (r) finie, que l'on pose sous la forme $r = 2^{-L}$ ($L \leq 0$), égal à N échantillons par seconde. Une façon simple de résoudre ce problème est de supposer la relation suivante entre le signal continu $f(t)$ et le signal échantillonné $x[n]$:

$$f(t) = \sum_{-\infty}^{\infty} x[n] \phi\left(\frac{t-2^L n}{2^L}\right) \in \mathbf{V}_L$$

et, étant donné que $\{\phi_{L,n}(t)\}_{n \in \mathbb{Z}}$ est une base orthonormée :

$$x[n] = \frac{1}{\sqrt{2^L}}a_L[n] = \frac{1}{\sqrt{2^L}}\langle f(t), \phi_{L,n}(t) \rangle.$$

L'ensemble $\mathbf{a}_L = \{a_L[n]\}_{n \in \mathbb{Z}}$ caractérise la projection du signal f dans l'espace \mathbf{V}_L . De plus, si f est une fonction régulière : $x[n] \approx f(2^{-L}n)$.

La TOO peut donc être calculée à partir de l'échelle 2^L avec l'algorithme suivant :

$$a_{j+1}[p] = \sum_{-\infty,}^{\infty} h[n-2p]a_j[n], \quad d_{j+1}[p] = \sum_{-\infty,}^{\infty} g[n-2p]a_j[n],$$

où $\mathbf{a}_{j+1} = \{a_{j+1}[n]\}_{n \in \mathbf{Z}}$ caractérise la projection de $f(t)$ dans V_{j+1} , et $\mathbf{d}_{j+1} = \{d_{j+1}[p]\}_{n \in \mathbf{Z}}$ la reconstruction se calcule :

$$a_j[p] = \sum_{-\infty,}^{\infty} h[p-2n]a_{j+1}[n] + \sum_{-\infty,}^{\infty} g[p-2n]d_{j+1}[n]$$

Finalement, si le signal discret $x[n]$ est fini ($n = 0, 1, \dots, M-1$) il est nécessaire de modifier l'algorithme afin de diminuer des effets de bord. La manière la plus simple est de remplacer les convolutions par des convolutions circulaires, même si d'autres approches plus adaptées existent (e.g., ondelettes définies sur l'intervalle $[0,1]$).

Le signal $f(t)$ est donc caractérisé dans le domaine de la TOO, par l'ensemble de M coefficients $\{\mathbf{d}_{L+1}, \mathbf{d}_{L+2}, \dots, \mathbf{d}_j, \mathbf{a}_j\}$; $L < J < 0$, et la complexité du calcul est de l'ordre de $O(M)$.

Références : Cohen & Kovacevic, 1996; Jawerth & Sweldens, 1994; Mallat, 1999; Meyer, 1994

9.10 Transformée en Ondelettes Dyadique et algorithme « à-Trous »

La TOO est une transformée discrète et orthogonale, très efficace dans plusieurs applications telles que la compression des données. Cependant, à cause de la décimation introduite par l'algorithme multirésolution, elle est non-invariante par rapport aux translations ; ceci peut être un problème dans le cadre du traitement du signal. La Transformée en Ondelettes Dyadique (TOD2) est aussi une transformée discrète en échelle, mais pas dans le temps. Elle est donnée par :

$$Wf(2^j, u) = \langle f(t), \psi_{j,n} \rangle, \quad \psi_{j,n}(t) = \frac{1}{\sqrt{2^j}} \psi\left(\frac{t-u}{2^j}\right); \quad j, n \in \mathbf{Z}$$

Il existe un algorithme rapide, l'algorithme « à-trous », par lequel on peut calculer la TOD2 dans une grille discrète du temps, la même pour toutes les échelles (algorithme « à-trous ») (Dutilleul, 1989; Holschneider et al., 1989). Celui-ci est un algorithme multirésolution non-orthonormal, pour lequel la TOD est exacte (Shensa, 1992). Ceci nous permet d'avoir une représentation du signal, discret en temps et en échelle, contrairement à la TOO qui elle est invariante par rapport aux translations. L'algorithme *à-trous* est basé sur l'utilisation de filtres discrets, de manière similaire à l'algorithme de Mallat décrit dans la section précédente (dans ce cas, les $h[n]$ sont des filtres d'interpolation ; la relation entre cet algorithme et l'algorithme de Mallat a été clairement montrée par Shensa (1992)). Une description très claire se trouve en Mallat (1999), nous avons réalisé une implémentation récursive qui est reproduit dans la section 10.2 (Annexe 3).

9.10.1 Ondelettes B-Spline Dyadiques

Il y a deux types d'ondelette qui sont souvent implémentés avec l'algorithme à-trous. Le premier type d'ondelettes correspond à l'autocorrélation des ondelettes des bases orthonormées de Daubechies, et résultent de l'utilisation des filtres d'interpolation de Lagrange (Saito, 1993; Shensa, 1992). Ces ondelettes sont symétriques et plus régulières que l'ondelette de Daubechies. Les coefficients des filtres d'interpolation de Lagrange $\{h_n\}$ vérifient la propriété : $h_{2k} = \delta(k)$, c'est-à-dire que $h_{2k} = 0$ pour $k \neq 0$, c'est pourquoi ces filtres sont appelés : filtres « à-trous » (ce qui n'est pas équivalent à l'algorithme « à-trous »).

Un deuxième groupe d'ondelettes qui va nous intéresser d'avantage, et qui peut être facilement implémenté avec l'algorithme « à-trous », est celui des ondelettes B-Spline. La fonction B-Spline, d'ordre n , qui sert à construire ces ondelettes est décrite par :

$$B_n(\omega) = \left(\frac{\sin(\omega/2)}{\omega/2} \right)^{n+1}$$

et la fonction d'échelle correspondante est simplement :

$$\hat{\phi}(\omega) = B_n(\omega) \exp\left(\frac{-i\varepsilon\omega}{2}\right), \quad \text{où } \varepsilon = \begin{cases} 1 & \text{si } n \text{ pair} \\ 0 & \text{si } n \text{ impair} \end{cases}$$

Comme dans le cas de la TOO, les ondelettes ($\psi(t)$) et les fonctions d'échelle ($\phi(t)$) vérifient les équations suivantes :

$$\hat{\phi}(\omega) = \frac{1}{\sqrt{2}} \hat{h}\left(\frac{\omega}{2}\right) \hat{\phi}\left(\frac{\omega}{2}\right)$$

$$\hat{\psi}(\omega) = \frac{1}{\sqrt{2}} \hat{g}\left(\frac{\omega}{2}\right) \hat{\phi}\left(\frac{\omega}{2}\right)$$

où h et g sont des filtres discrets, passe-bas et passe-haut, respectivement ; et où $\hat{h}(0) = \sqrt{2}$; le filtre h est donné par :

$$\hat{h}(\omega) = \sqrt{2} \frac{\hat{\phi}(2\omega)}{\hat{\phi}(\omega)} = \sqrt{2} \left(\cos\left(\frac{\omega}{2}\right) \right)^{n+1} \exp\left(\frac{-i\varepsilon\omega}{2}\right)$$

Nous pouvons ensuite construire différents types d'ondelettes selon le filtre g que l'on utilise. Une méthodologie assez simple de construction d'ondelettes B-Spline, décrite en (Mallat, 1999), consiste à choisir un filtre g de la forme :

$$\hat{g}(\omega) = \sqrt{2} \left((-i) \sin\left(\frac{\omega}{2}\right) \right)^m$$

L'ondelette ainsi construite a m moments nuls, et correspond à la m -dérivée d'un B-Spline d'ordre $n+m$.

Par exemple, si nous voulons construire une ondelette de deux moments nuls à partir d'un B-Spline cubique, nous avons :

$$\hat{\phi}(\omega) = \left(\frac{\sin(\omega/2)}{\omega/2}\right)^4, \quad \hat{h}(\omega) = \sqrt{2} \left(\cos\left(\frac{\omega}{2}\right)\right)^4, \quad \text{et} \quad \hat{g}(\omega) = \sqrt{2} \left(\sin\left(\frac{\omega}{2}\right)\right)^2$$

et l'ondelette résultante est donnée par :

$$\hat{\psi}(\omega) = \left(\frac{\omega}{4}\right)^2 \left(\frac{\sin(\omega/4)}{\omega/4}\right)^6$$

qui correspond à la deuxième dérivée d'un B-Spline d'ordre 5.

Les fonctions d'échelle et les ondelettes duales de reconstruction peuvent être construites en choisissant le filtre dual comme : $\tilde{h} = h$. Ensuite, la condition de reconstruction de la TOD2 implique que :

$$\hat{\tilde{g}}(\omega) = \frac{2 - |\hat{h}(\omega)|^2}{\hat{g}^*(\omega)}$$

Ainsi, si l'on veut construire une ondelette de 2 moments nuls à partir d'un B-Spline cubique nous avons :

$$\hat{\tilde{g}}(\omega) = \sqrt{2} \left(1 + \sum_{n=1}^3 \left(\cos\left(\frac{\omega}{2}\right)\right)^{2n} \right)$$

Nous avons calculé les coefficients des filtres pour quelques ondelettes, voir l'Annexe 3, section 10.3.

Les fonctions B-Spline possèdent plusieurs propriétés très appréciées en traitement du signal, nous allons en mentionner quelques unes par la suite. Tout d'abord, les fonctions d'échelle B-Spline ont un support compact et sont les fonctions d'échelle les plus courtes pour un ordre L d'approximation donné (où $L = n+1$) (Unser, 1999). Cette propriété est importante, puisqu'elle implique que les ondelettes et les fonctions d'échelle, ainsi que les filtres h et g , ont aussi un support compact (Mallat, 1999) et que son implémentation computationnelle est très efficace. Deuxièmement, l'interpolation et l'approximation par B-Splines exhibent la propriété de courbure minimale, ce qui veut dire qu'elles ont une tendance minimale à osciller. Troisièmement, ces fonctions sont $(n-1)$ fois continûment dérivables, ce qui fait qu'elles ont des propriétés d'approximation excellentes. Finalement, on doit mentionner que ces fonctions ont des propriétés de localisation en temps et en fréquence excellentes (Unser, 1999).

9.10.2 Les ondelettes B-Spline et les dérivées de la fonction de Gauss

Il existe une relation étroite entre les ondelettes B-Spline présentées précédemment et les dérivées de la fonction de Gauss. En fait, on peut montrer que les fonctions B-Spline convergent vers la fonction de Gauss quand $n \rightarrow \infty$; et ceci pour toutes les normes L^p , pour $1 \leq p \leq +\infty$; et que la relation suivante est vérifiée : (Unser et al., 1992)

$$B_n(t) \approx G_n(t) = \left(\frac{\pi(n+1)}{6}\right)^{-1} \exp\left(\frac{-6t^2}{(n+1)}\right)$$

De manière similaire, une ondelette B-Spline de deux moments nuls, construite à partir d'un B-Spline d'ordre n (comme il a été décrit dans la section précédente), approche la dérivée de la fonction $G_{n+2}(2t)$ (avec une constante de proportionnalité). Par exemple, dans la Figure 9-1-A on montre l'ondelette construite à partir de $B_3(t)$ (multiplié par 16), et la deuxième dérivée de $G_5(t)$; la similarité entre les fonctions $B_5(t)$ et $G_5(t)$ est illustrée dans la Figure 9-1-B.

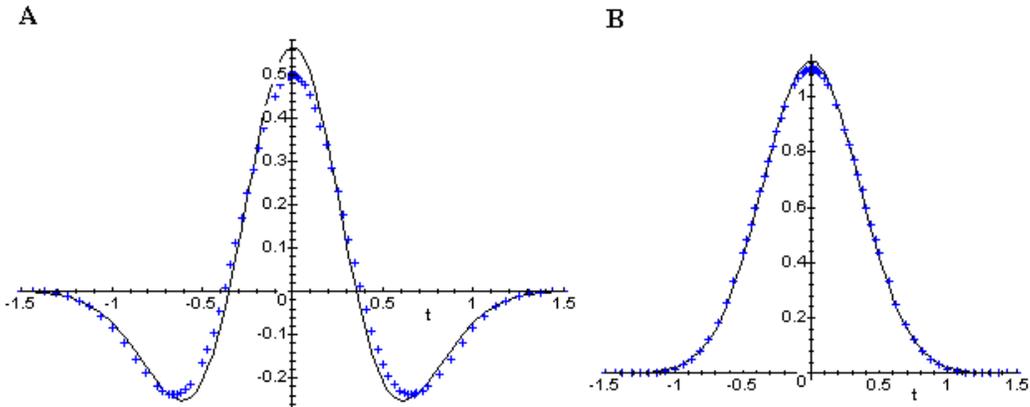


Figure 9-1. A : Ondelette B-Spline, construite à partir de $B^3(t)$ (+), et dérivée deuxième de $G_2^5(t)$ (-) (multiplié par un facteur de proportionnalité). **B :** B-Spline d'ordre $n = 5$ (+) ($B^5(2t)$) et fonction de Gauss approchée ($G_2^5(t)$) (-).

$$\psi_{2^j}(t) = \frac{1}{\sqrt{2^j}} \psi\left(\frac{t}{2^j}\right) ; \quad \psi\left(\frac{t}{2^j}\right) = -\frac{d^2}{dt^2} B^5\left(\frac{t}{2^{j-1}}\right) (2^{j-2})^2$$

9.11 Autres techniques

9.11.1 Algorithme de Chung et Kennedy

Chung et Kennedy (Chung & Kennedy, 1991) ont proposé une méthodologie ad hoc, non linéaire, de traitement des signaux d'origine biologique. La méthode sert à estimer un signal $S = \{s(t) ; t = 1, \dots, N\}$ à partir des données bruitées $Y = \{y(t) ; t = 1, \dots, N\}$, et elle sert en particulier à estimer des événements rapides cachés dans un bruit de variance importante. Cet algorithme a été conçu dans un cadre bayésien, il est basé sur deux ensembles d'hypothèses mutuellement exclusifs :

Soit:

$$H_k^f(t): y(j) = \hat{s}_k^f(j) + n(j), \text{ avec } n(j) \sim N(0, \sigma) \text{ et } \sigma \sim \pi(\sigma)$$

pour $j = t-M+1, \dots, t$

Soit:

$$H_k^b(t): y(j) = \hat{s}_k^b(j) + n(j), \text{ avec } n(j) \sim N(0, \sigma) \text{ et } \sigma \sim \pi(\sigma)$$

pour $j = t, t+1, \dots, t+M-1$; et pour $k = 1, \dots, K$

Où $\hat{s}_k^f(j)$ et $\hat{s}_k^b(j)$ sont deux groupes de K prédiseurs causaux et non causaux respectivement ; $\hat{s}_k^f(j)$ et $\hat{s}_k^b(j)$ sont, soit connus a priori, soit calculés de la manière suivante, avec des fenêtres de temps de longueur différente (L_k) :

$$\hat{s}_k^f(j) = g_k(y(t-1), y(t-2), \dots, y(t-L_k))$$

Puis on assigne une probabilité conditionnelle à chaque hypothèse (i.e. l'assignation de la probabilité est faite selon les connaissances a priori que l'on a sur la forme du signal):

$$f_k(t) = p(H_k^f(t) | Y_M(t)),$$

$$b_k(t) = p(H_k^b(t) | Y_M(t)),$$

où $Y_M(t) = \{y(t-M+1), \dots, y(t), \dots, y(t+M-1)\}$ est une fenêtre d'analyse centrée sur le point t .

Finalement, la valeur estimée du signal s au temps t s'obtient par le calcul de sa valeur espérée dans la fenêtre d'analyse :

$$\hat{s}(t) = E\{x(t) | Y_M(t)\}$$

$$\hat{s}(t) = \sum_{k=1}^K f_k(t) E\{x(t) | Y_M(t), H_k^f(t)\} + b_k(t) E\{x(t) | Y_M(t), H_k^b(t)\}$$

De sorte que l'algorithme pondère chaque prédiseur par la probabilité de chaque hypothèse dans la fenêtre d'analyse. Cet algorithme peut être adapté à chaque type de signal biologique d'intérêt ; il permet en particulier de détecter des sauts rapides et faibles dans un signal bruité, si les paramètres sont bien choisis, qui sont autrement cachés dans le bruit ou effacés par les techniques plus connues de filtrage linéaire des signaux.

Dans un cas plus simple (voir (Litaudon et al., 1995)), le signal non bruité est estimé par la simple pondération des résultats d'un ensemble de prédiseurs causaux et non causaux :

$$\hat{s}(t) = \sum_k^K [f_k(t) \frac{1}{M} \sum_{m=1}^M y(t+m) + b_k(t) \frac{1}{M} \sum_{m=1}^M y(t-m)], \text{ avec } f(t) + b(t) = 1;$$

où les poids $f(t)$ et $b(t)$, qui servent à combiner les prédiseurs, se déterminent à chaque instant. L'ensemble des prédiseurs est calculé avec des fenêtres de tailles différentes afin de prendre en compte les structures fines et les composantes plus grossières du signal, simultanément.

Annexe 3

10.1 Algorithme de débruitage par rétrécissement d'ondelettes Decompsrink I

```
function [y,yd,ys,ns, beta,varout] = Decomps(h(x,L,qmf,Lmax,varmeth,show,varin)
% Decompsrink - De-Noising with Decompl as defined in:
% "Deterministic/Stochastic Wavelet Decomposition for Recovery
% of Signal from Noisy Data"
% Hsin-Cheng Huang and Noel Cressie
% Technometrics, vol?, no?
% http://wagner.stat.sinica.edu.tw/~hchuang/paper.html
%
% Usage
% [y,yd,ys,ns, beta] = Decomps(h(x,L,qmf,Lmax,varmeth,show)
% Inputs
% x 1-d signal. length(x)= 2^J
% L Level of coarsest scale L
% 1<L<<J
% Lmax Maximum level to retain in the reconstruction
% (wcoef(L>Lmax) = 0), L <Lmax <J
% Lmax(Default)=J-2: finest details are supposed to be only noise
% qmf Quadrature Mirror Filter for Wavelet Transform
% Optional, Default = Symmlet 8.
% varmeth Variance estimation method
% 0 : Use the value given in the last parameter (varin)
% 1 : Using semivariogram as Huang proposes
% 2 : Using traditional MAD method
%
% show if 1 then show figures showing the process, if 0 don't.
% varin Variance value input
%
% Outputs
% y final (stochastic + deterministic) denoised estimate
% yd deterministic structure estimate
% ys stochastic component estimate
% ns noise component
% beta Wavelet Transform of estimate
% varout Estimated variance at fine resolution
%
% Description
%
% Signal is decomposed by an orthogonal wavelet tranform: w = Tx
% The transformed signal is modeled as: w = beta + epsilon,
% where epsilon is a gaussian noise.
% The expected denoised component b is decomposed as: beta = mu + eta,
% where mu is the deterministic component and eta the stochastic component.
%
% Notes:
% 1. Variance estimation in finest scale can be done is not done with the semivariogram
method as Huang,
% or with the traditional mad^2
%
% -----
% Written by: Camilo La Rota 30/05/2001
% Laboratoire TIMC
% Faculté de Médecine de Grenoble, France
% Last modification: October 2002
% -----

x = shapeasrow(x);
[n,J] = dyadlength(x);
```

```

if (nargin < 2) | (isempty(L)),
    L=3;
end
if ((nargin < 3) | (isempty(qmf))),
    qmf = makeonfilter('Symmlet',8);
end
if ((nargin < 4) | (isempty(Lmax)))
    Lmax =J-2; %J-1 level is supposed to be only noise for biological signals
end
if (nargin < 5 | (isempty(varmeth)))
    varmeth=1; %Variance estimation method
end
if (nargin < 6 | (isempty(show)))
    show=0; %show decomposition process
end
if (nargin < 7 | (isempty(varin)))
    varin=1; %show decomposition process
end
%
%
%-----Wavelet Tranform -----
wcoef      = fwt_po(x,L,qmf) ;

%
% noise variance estimation with high resolution wavelet coefficients
wfine      = wcoef(dyad(J-1));

switch varmeth
case 0,
    noisevar = varin; % variance value given as input
case 1,
    noisevar = varvar(wfine); % variance estimation with Huang method (is not as robust as
they say ...)
case 2,
    noisevar=(mad2(wfine))^2; % estimate with donoho method
case 3,
    noisevar=((mad2(wfine)) + sqrt(varvar(wfine)))/2)^2; % estimate with donoho method
otherwise,
    noisevar = varvar(wfine); % variance estimation with Huang method is not as robust as
they say ...
end

if show
    fig1=figure;
    set(fig1,'Name','Deterministic Component
Estimation','Units','normalized','Position',[0.05,0.55,0.4,0.4]);
end

% -----mean structure computation (mu)-----
-----

mu      = wcoef;

%cancel high resolution coefficients dues to noise
for j=J-1:-1:Lmax+1,
    mu(dyad(j))      = zeros(size(dyad(j)));
    if show subplot(221); plot(1:n,x,'b',1:n,iwt_po(mu,L,qmf),'r');title(['Approximation up to
level ' num2str(j)]);axis tight; pause;end
end

for j=Lmax:-1:L,
    wj= wcoef(dyad(j)); %loop through scales

if show %show quantile plot

```

```

        subplot(2,2,2);qngplot(wj);title('qngplot and estimated threshold'); axis tight;
    end

    nj= length(wj);
    [wjs,l]=sort(wj);
    qj= norminv2((1:nj)/(nj+1),0,1);
    Tj = median(abs(wj))/0.6745; %slope of quantiles-normalquantiles plot
    qwj(1) = qj;
    resj = wj-(Tj*qwj); %residual of wavelet coefficient to
corresponding quantile
    for i=1:nj
        if (abs(wj(i))>=abs(Tj*qwj(i)))
            qwj(i)=0;
        end
    end
    lambdaj = Tj*max(abs(qwj)); %estimation of threshold for scale j

    if show %show quantile plot
        t=axis;
        t=t(1):(t(2)-t(1))/100:t(2);
        thres=lambdaj*ones(size(t));
        hold;plot(t,thres,'r:',t,thres*(-1),'r:'); hold;
    end

    muj = ((resj.^2)./(Tj^2 + resj.^2)).*wj; %deterministic shrinkage, determinstic
component estimation

    for k = 1:2^j,
        if abs(wj(k)) <= lambdaj
            muj(k) = 0; %adaptive hardthreshold of deterministic component
        end
    end

    mu(dyad(j)) = muj;

    if show
        subplot(2,1,2);
        plot(1:nj,wj,'b*',1:nj,muj,'ko');title(['Wavelet coefficients shrinkage, Level:'
num2str(j)]);axis tight;hold;
        plot(1:nj,muj,'k'); %show estimated deterministic component for scale j
        t=axis;
        t=t(1):(t(2)-t(1))/100:t(2);
        thres=lambdaj*ones(size(t));
        plot(t,thres,'r:',t,thres*(-1),'r:'); hold;
    end

    clear qwj resj muj;
    if show subplot(221); plot(1:n,x,'b',1:n,iwt_po(mu,L,qmf),'r');title(['Aproximation up to
level ' num2str(j)]);axis tight; pause; end

    end %end loop trough scales

    yd = iwt_po(mu,L,qmf); % intermediate result, deterministic component
    yd = shapelike(yd,x);
%-----end deterministic estimation-----
    if show
        fig2=figure;
        set(fig2,'Name','Stochastic Component
Estimation','Units','normalized','Position',[0.55,0.55,0.4,0.4]);
        subplot(2,1,1); plot(1:n,x,'b',1:n,yd,'r');title('Estimated Deterministic Component');
axis tight;

        fig3=figure;
        set(fig3,'Name','Estimated
components','Units','normalized','Position',[0.55,0.05,0.4,0.4]);
        subplot(2,1,1); plot(1:n,x,'b',1:n,yd,'k');title('Estimated Deterministic Component');
axis tight; pause;
    end
end

```

```

% -----Stochastic component estimation (eta), (scale independence hypothesis, decompI)-
-----
if show
end
beta = mu;

for j=Lmax:-1:L,          %loop trough scales
    muj = mu(dyad(j));
    nj= length(muj);
    %stochastic process covariance estimation
    Dj      = wcoef(dyad(j)) - muj;
    Dj2     = Dj*Dj';
    Dvar    = (Dj2)/(2^j) - noisevar;
    sigma2j = max(Dvar,0);

    % -----Bayesian shrinkage, estimation with stochastic and mean components-----
    dbj      = (sigma2j/(sigma2j+noisevar)) * Dj;
    beta(dyad(j)) = muj + dbj;

    if show
        figure(fig2);
        subplot(2,1,1);
plot(1:n,x,'b',1:n,yd,'r',1:n,iwt_po(beta,L,qmf),'k');title(['Deterministic+Stochastic
Aproximation up to level ' num2str(j)]); axis tight;

        subplot(2,1,2);plot(1:nj,wcoef(dyad(j)),'b:',1:nj,muj,'r:'); axis tight; hold;
plot(1:nj,wcoef(dyad(j)),'b*',1:nj,muj,'ro'); axis tight;
plot(1:nj,beta(dyad(j)),'k+',1:nj,beta(dyad(j)),'k' ); hold;
        title(['Stochastic wavelet coefficient shrinkage at level:' num2str(j)]);
        pause;
    end

    clear muj;
    clear Dj;
end          %end loop trough scales

%----- end stochastic component estimation -----

% Inverse transformation
y      = iwt_po(beta,L,qmf);
y      = shapelike(y,x);
ys     = y-yd;
ns     = y-x;

y=y(:);
ys=ys(:);
yd=yd(:);
ns=ns(:);
varout = varin;

if show
    figure(fig3);
    subplot(2,1,1);plot(1:n,x,'b',1:n,yd,'r:',1:n,y,'k');title('Final Estimation
(Deterministic+Stochastic)'); axis tight
    subplot(2,1,2);plot(1:n,ns,'g:',1:n,yd,'b',1:n,ys,'k');title('Estimated components'); axis
tight
    pause;
end

```

10.2 Algorithmes à-trous

```

function wcoef= fwt_trous(x,L,h,g)
% fwt_trous -- Forward Wavelet Transform ("a trous" algorithm)

```

```

% Usage
% wcoef = fwt_trous(x,L,h,g)
% Inputs
% x 1-d signal; n= length(x) = 2^J
% L Coarsest Level of multiresolution decomposition; 0<< L << J
%   minimum L = 0 (non sense because of finite data)
%   maximum L = J (no decomposition)
% h lowpass filter
% g bandpass filter
%   (Filters must have odd length to fit the algorithm)
%   (Ex: If g(0)= -0.5, g(1)= 0.5 , and g(n<0)=0, g(n>1) = 0
%       then g must be [0 -0.5 0.5] )
% Outputs
% wcoef 1-d wavelet transform of x.
%       detail coefficients from finer to coarsest scale
%       and smooth coefficients at coarsest scale
% Description
% 1. Computes the undecimated dyadic wavelet transform with the a-trous algorithm
%   using the filter bank structure.
% 2. Returns a table of n files by S+1 columns, where S corresponds to
%   the maximum scale of the wavelet, that goes from 1 to S
%   S = J-L;
%   The table has the following structure:
%   [w(1) ... w(S-1) w(S) c(S)]
% 2. To reconstruct use iwt_trous
% See Also
% iwt_trous, iwt_trous1, fwt_trous1, wavelab toolbox
% -----
% Written by: Camilo La Rota
% Laboratoire TIMC
% Faculté de Médecine de Grenoble
% Last modification: Octobre 2002
% -----

if nargin < 2,
    L=3;
end
if nargin < 4,
    h = sqrt(2)*[1/16 1/4 3/8 1/4 1/16]; % Bspline cubique
    %g = sqrt(2)*[-1/16 -1/4 5/8 -1/4 -1/16];%
    g =sqrt(2)*[-1/4 1/2 -1/4]; % 2 vanishing moments wavelet
end

% swap h and g filters (h(-n), g(-n))
n=length(h);
h=h(n:-1:1);
n=length(g);
g=g(n:-1:1);

[n,J] = dyadlength(x);
if (L>0) & (L<J)
    S = J-L;

    ccoef      = zeros(S,n);
    wcoef      = zeros(S,n);
    ccoef0     = shapeasrow(x); %assume sampled data as c0(t) = <f(t),fi(t)>, fi is the
scaling function.

    %ccoeff     = extension(ccoef,'sym',h);%
    [ccoeff,wcoef]= fftrous(ccoef0,h,g,S,ccoeff,wcoef,1,1);
    wcoef= [wcoef' ccoef(S,:)'];
else
    disp('Error in level specification')
end
end

```

```

function [ct,wt]= fftrous(cin,h,g,S,ct,wt,j,k)
% fftrous -- Forward Wavelet Transform main algorithm("a trous" algorithm)
% Usage
%   function [ct,wt]= fftrous(c0,filt,S,ct,wt,j,k)
% Inputs
%   c0      1-d smoothed signal from j-1 scale;
%   filt    scaling filter
%   S      Max wavelet's scale
%   j      scale iteration parameter, goes from 1 to S
%   k      position of first coefficient calculated in the current scale
% Outputs (and recursive input)
%   wt      1-d detail coefficients table.
%   ct      1-d smooth coefficients table.
%
% Description
%   1. filters smooth signal with scaling filter
%   2. calculates detail coefficients
%   3. Put scaling and detail coefficients in their corresponding places in
%      scaling and detail coefficients tables.
%
%   4. Divides sequence in odd and even parts
%   5. call again itself (recursively) to filter again odd and even parts
%   6. Stop if L level reached
%
% See Also
%   fwt_trous, iwt_trous, ffilter
%
%-----
% Written by: Camilo La Rota
% Laboratoire TIMC
% Faculté de Médecine de Grenoble
% Last modification: Octobre 2002
%-----

if j<=S
    [c,w]= ffiltcell(cin,h,g);
    wt= fillctable(wt,w,j,k);
    ct= fillctable(ct,c,j,k);
    [ce,co]= spliteo(c);
    [ct,wt]= fftrous(co,h,g,S,ct,wt,j+1,k); %transform odd sequence
    [ct,wt]= fftrous(ce,h,g,S,ct,wt,j+1,k+2^(j-1)); %transform even sequence
end

```

```

function [ci,wi]= ffiltcell(ci_1,h,g)
% ffiltcell -- Forward Wavelet Transform cell("a trous" algorithm)
% Usage
%   [ci,wi]= ffiltcell(wi_1,filt)
% Inputs
%   ci_1    1-d smoothed signal from i-1 level;
%   h      lowpass filter
%   g      bandpass filter
% Outputs
%   wi      1-d detail coefficients, level i.
%   ci      1-d smooth coefficients, level i.
%
% Description
%   1. filters smooth signal with scaling filter
%      ci      = firfilt(ci_1,h)
%   2. calculates detail coefficients as:
%      wi      = firfilt(ci_1,g)

```

```

%
% See Also
%   fwt_trous, iwt_trous, wavelab toolbox
%

```

```

-----
% Written by: Camilo La Rota
% Laboratoire TIMC
% Faculté de Médecine de Grenoble
% Last modification: Octobre 2002
%
-----

```

```

ci_1      = shapeasrow(ci_1);
n         = length(ci_1);
if n > 1
    ci     = zeros(1,n);
    wi     = zeros(1,n);

    % [y,v] = symmext(ci,h);%
    %ci     = y(v+1:n+v);%
    ci     = firfilt(ci_1,h) ;
    wi     = firfilt(ci_1,g) ;
end

```

```

%   function y = firfilt(x,firf)
%   x:      input
%   firf:   fir filter impulse response
%   y:      filtered output
%

```

```

-----
% Written by: Camilo La Rota
% Laboratoire TIMC
% Faculté de Médecine de Grenoble
% Last modification: Octobre 2002
%
-----

```

```

N         = length(x);
Lf        = length(firf);
if (rem(Lf,2)==1)
    lplus  = Lf-1;
    lstrip = lplus/2;
    y = conv(x,firf);
    y = y(lstrip+1:N+lstrip);
else
    lstrip_l = Lf/2;
    lstrip_r = lstrip_l-1;
    y = conv(x,firf);
    y = y(lstrip_l+1:N+lstrip_r+1);
end

```

```

function wt= fillctable(wt,w,j,k)
% fillctable -- Fill Wavelet Transform coefficient table("a trous" algorithm)
% Usage
%   wt= fillctable(wt,w,j,k)
% Input
%   w
% detail wavelet transform coefficients
%   j           current scale of wavelet
%             maximum scale = number of files in the table < log2(n)
%             n, length of data.
%             minimum scale = 1, correspond to maximum resolution
%   k           first position

```

```

%      wt          Input table
%
%      Structure of the table (S*n):
%
%      | w(1)          | (detail coefficients)
%      |   :          |
%      | w(S-1)       |
%      | w(S)         |
%      | c(S)         | (average or smooth coefficients)
%
%      Outputs
%      wt          Filled table
%
%      Description
%      1. Put coefficients in the k+q*(2^(j-1)) positions into the coefficients table
%
%      -----
%      Written by: Camilo La Rota
%      Laboratoire TIMC
%      Faculté de Médecine de Grenoble
%      Last modification: Octobre 2002
%      -----

```

```

[S,N] = size(wt);
M      = length(w);
Q      = 2^(j-1);

```

```

if N == (M*Q)
    i=k:Q:N-(Q-k);
    wt(j,i)=w;
end

```

```

function [xe,xo]= spliteo(x);
% spliteo -- Split vector X in it's even (xe) and odd (xo) components(FWT "a trous" algorithm)
% Usage
%      [xe,xo]= spliteo(x)
%      Inputs
%      x      1-d vector;
%      Outputs
%      xe     1-d vector corresponding to even part of x.
%      xo     1-d vector corresponding to odd part of x.
%
%      Description
%      1. Divides input sequence into two sequences
%      xe that correspond to elements in even positions
%      xo that correspond to elements in odd positions
%
%      2. Output sequences in row format
%      -----
%      Written by: Camilo La Rota
%      Laboratoire TIMC
%      Faculté de Médecine de Grenoble
%      Last modification: Octobre 2002
%      -----

```

```

x      = x(:)';
n      = length(x);
if n > 1
    te   = 2:2:n;
    to   = 1:2:n;
    xe   = x(te);
    xo   = x(to);

```

end

```
% iwt_trous -- Inverse Wavelet Transform main algorithm("a trous" algorithm)
% Usage
%   function c0 = iwt_trous(wt,hd,gd)
% Inputs
%   wt      Discrete Dyadic Wavelet Transform coefficients table ;
%   hd      lowpass dual filter
%   gd      bandpass dual filter
%           (Filters must have odd length and centered)
%           (Ex: If gd(0)= -0.5, gd(1)= 0.5 , and gd(n<0)=0, gd(n>1) = 0
%           then gd must be entered as: [0 -0.5 0.5] to fit the algorithm)
%
% Outputs
%   c0      Reconstructed discrete function
%
% Description
%   1. filters coarsest scale (j+1=J)aproximation coefficients with lowpass dual filter
%   2. filters coarsest detail coefficients with lowpass dual filter
%   3. Calculates next (j) aproximation coefficients, j=j-1;
%   4. Repeat this process until j=0
%   5. Return reconstructed signal
%
% See Also
%   fwt_trous, fwt_trous1, iwt_trous1, ffilter, wavelab toolbox
%
% -----
% Written by: Camilo La Rota
% Laboratoire TIMC
% Faculté de Médecine de Grenoble
% Last modification: Octobre 2002
% -----

if nargin < 3,
    %Reconstruction filters for cubic B-Spline scaling funtion and 2 vanishing moments wavelet
    hd = sqrt(2)*[1/16 1/4 3/8 1/4 1/16]; % Bspline cubique
    gd =sqrt(2)*[1 10 47 140 47 10 1]/64; % Reconstruction wavelet
end

[N,S] = size(wt);
J=S-1;
cj = wt(:,S);
for j=J-1:-1:0
    w_jp1 = wt(:,j+1);
    c_jp1 = cj;
    cj = ifiltcell(w_jp1,c_jp1,j,hd,gd);
end
c0=cj';
```

```
function c_i = ifiltcell(w_ip1,c_ip1,i,hd,gd)
% ifiltcell -- Inverse Wavelet Transform cell("a trous" algorithm)
% Usage
%   c_i = ifiltcell(w_ip1,c_ip1,hd,gd)
% Inputs
%   c_ip1   1-d smooth coeff from i+1 level;
%   w_ip1   1-d detail coeff from i+1 level;
%   i       log2(scale)
%   hd      dual lowpass filter
%   gd      dual bandpass filter
% Outputs
```

```

% c_i      1-d smooth coefficients, level i.
%
% Description
% 1. filters smooth coefficients at level i+1 with hd filter
% 2. filters detail coefficients at level i+1 with gd filter
% 3. reconstruct smooth coefficients as:
%    c_i = h(n)*c_ip1(n*2^i) + gd(n)*w_ip1(n*2^i)
%
% See Also
%   fwt_trous, iwt_trous, fwt_trous1, iwt_trous1, wavelab toolbox
%
% -----
% Written by: Camilo La Rota
% Laboratoire TIMC
% Faculté de Médecine de Grenoble
% Last modification: Octobre 2002
% -----

c_ip1      = shapeasrow(c_ip1);
w_ip1      = shapeasrow(w_ip1);

n          = length(c_ip1);

if n > 1
    c_i     = zeros(1,n);

    scale=2^i;
    for j=1:scale
        c    = c_ip1(j:scale:n);
        w    = w_ip1(j:scale:n);
        ci   = firfilt(c,hd) ;
        wi   = firfilt(w,gd) ;
        ci   = (ci+ wi)/2;
        c_i(j:scale:n) = ci;
    end

end
end

```

10.3 Coefficients des filtres B-Spline et de Lagrange

```

function [h,g,hd,gd] = maketrousfiler(Type,Par)
%
% maketrousfiler -- Generate interpolation and highpass Filter Pair for the a-trous
%                   wavelet algorithm
%
% Usage
% [h,g,hd,gd] = maketrousfiler(Type,Par)
%
% Inputs
% Type      string, one of:
%           'BSpline'
%           'Lagrange'
%
% Par       For Bsplines:
%           Par = 21 quadratic Bspline, one-vanishing moment wavelet
%           Par = 31 cubic Bspline, one-vanishing moment wavelet
%           Par = 32 cubic Bspline, two-vanishing moment wavelet
%
%           For Lagrange Interpolator:
%           Par = 21 quadratic Bspline, one-vanishing moment wavelet
%           Par = 31 cubic Bspline, one-vanishing moment wavelet
%           Par = 32 cubic Bspline, two-vanishing moment wavelet
%
% Outputs
% h         low-pass dyadic filter

```

```

% hd dual low-pass dyadic filter
% ghigh-pass dyadic filter
% gd dual high-pass dyadic filter
% -----
% Written by: Camilo La Rota
% Laboratoire TIMC
% Faculté de Médecine de Grenoble, France
% Last modification: Octobre 2002
% -----

sqrt2 = sqrt(2);
if strcmp(Type,'BSpline'),
    if Par==21
        h = [0.125 0.375 0.375 0.125].*sqrt2;
        hd = [0.125 0.375 0.375 0.125].*sqrt2;
        g = [0 -0.5 0.5].*sqrt2;
        gd = [0 -.03125 -.21875 -.6875 .6875 .21875 .03125].*sqrt2;
    end
    if Par==30 % Case G(w) = sqrt(2)-H(w)
        h = [1/16 1/4 3/8 1/4 1/16].*sqrt2;
        g = [-1/16 -1/4 5/8 -1/4 -1/16].*sqrt2;
    end
    if Par==31
        h = [1/16 1/4 3/8 1/4 1/16].*sqrt2;
        hd = [1/16 1/4 3/8 1/4 1/16].*sqrt2;
        g = [0 -0.5 0.5].*sqrt2;
        gd = [0 -.0078125 -.0703125 -.2890625 -.7265625 .7265625 .2890625 .0703125
.0078125].*sqrt2;
    end
    if Par==32
        h = [1/16 1/4 3/8 1/4 1/16].*sqrt2;
        hd = [1/16 1/4 3/8 1/4 1/16].*sqrt2;
        g = [-1/4 1/2 -1/4].*sqrt2;
        gd = [1 10 47 140 47 10 1]*sqrt2/64;
    end
end

elseif strcmp(Type,'Lagrange'),
    if Par==2
        h = [1/2 1 1/2]./sqrt2;
        %hd = [0.125 0.375 0.375 0.125].*sqrt2;
        %gd = [-.03125 -.21875 -.6875 .6875 .21875 .03125].*sqrt2;
    end
    if Par==4 %Lagrange 4th order
        h = [-1/16 0 9/16 1 9/16 0 -1/16]/sqrt2;
        %hd = [1/16 1/4 3/8 1/4 1/16].*sqrt2;
        %gd = [-.0078125 -.0703125 -.2890625 -.7265625 .7265625 .2890625 .0703125
.0078125].*sqrt2;
    end
end

g=zeros(size(h));
L=(length(h)-1)/2;
i=1;
for k=-L:1:L
    g(i)=h(i)*(-1)^k;
    i=i+1;
end

end

```


BIBLIOGRAPHIE

- Abbott, L. F. (1991). Firing-rate models for neural populations. In *Neural Networks: From Biology to High-Energy Physics*, O. Benhar, C. Bosio, P. Del Giudice, & E. Tabet, eds. (Pisa, ETS Editrice), pp. 179-196.
- Abeles, M. (1991). *Corticonics : neural circuits of the cerebral cortex* (Cambridge ; New York, Cambridge University Press).
- Abeles, M., Bergman, H., Gat, I., Meilijson, I., Seidemann, E., Tishby, N., & Vaadia, E. (1995). Cortical activity flips among quasi-stationary states. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92, 19, 8616-8620.
- Abeles, M., Bergman, H., Margalit, E., & Vaadia, E. (1993a). Spatiotemporal firing patterns in the frontal cortex of behaving monkeys. *J Neurophysiol* 70, 4, 1629-1638.
- Abeles, M., & Gat, I. (2001). Detecting precise firing sequences in experimental data. *J Neurosci Methods* 107, 1-2, 141-154.
- Abeles, M., & Gerstein, G. L. (1988). Detecting spatiotemporal firing patterns among simultaneously recorded single neurons. *J Neurophysiol* 60, 3, 909-924.
- Abeles, M., Prut, Y., Bergman, H., & Vaadia, E. (1994). Synchronization in Neuronal Transmission and its Importance for Information Processing. In *Temporal coding in the brain*, G. Buzsáki, R. Llinás, W. Singer, A. Berthoz, & Y. Christen, eds. (Berlin ; New York, Springer-Verlag), pp. 39-50.
- Abeles, M., Prut, Y., Bergman, H., Vaadia, E., & Aertsen, A. (1993b). Integration, Synchronicity and Periodicity. In *Brain theory : spatio-temporal aspects of brain function*, A. Aertsen, ed. (Amsterdam ; New York, Elsevier), pp. 149-181.
- Abramovich, F., & Sapatinas, T. (1999). Bayesian approach to wavelet decomposition and shrinkage. In *Bayesian Inference in Wavelet Based Models*, Vol 141, P. Muller, & B. Vidakovic, eds. (Springer-Verlag), pp. 33-50.
- Aertsen, A., Erb, M., & Palm, G. (1994). Dynamics of functional coupling in the cerebral cortex: an attempt at a model-based interpretation. *Physica D* 75, 103-128.
- Aertsen, A. M., Gerstein, G. L., Habib, M. K., & Palm, G. (1989). Dynamics of neuronal firing correlation: modulation of "effective connectivity". *J Neurophysiol* 61, 5, 900-917.
- Amit, D. J. (1992). In defence of single-electrode recordings. *Network* 3, 385-391.
- Amit, D. J., & Brunel, N. (1997). Model of global spontaneous activity and local structured activity during delay periods in the cerebral cortex. *Cereb Cortex* 7, 3, 237-252.
- Amit, D. J., Gutfreund, H., & Sompolinsky, H. (1985). Spin-glass models of neural networks. *Physical Review A* 32, 2, 1007-1018.
- Andreasen, M., & Lambert, J. D. (1999). Somatic amplification of distally generated subthreshold EPSPs in rat hippocampal pyramidal neurones. *J Physiol* 519, Pt 1, 85-100.
- Antkowiak, B. (2001). How do general anaesthetics work? *Naturwissenschaften* 88, 5, 201-213.
- Antkowiak, B., & Kirschfeld, K. (2000). [Neural mechanisms of anesthesia]. *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* 35, 12, 731-743.
- Antoniadis, A., Bigot, J., & Sapatinas, T. (2001) Gaussian Wavelet Denoising (GaussianWaveDen) <http://www-lmc.imag.fr/SMS/software/GaussianWaveDen/>
- Arieli, A., Shoham, D., Hildesheim, R., & Grinvald, A. (1995). Coherent spatiotemporal patterns of ongoing activity revealed by real-time optical imaging coupled with single-unit recording in the cat visual cortex. *J Neurophysiol* 73, 5, 2072-2093.
- Arieli, A., Sterkin, A., Grinvald, A., & Aertsen, A. (1996). Dynamics of ongoing activity: explanation of the large variability in evoked cortical responses. *Science* 273, 5283, 1868-1871.
- Auger, F., Flandrin, P., Goncalves, P., & Lemoine, O. (1999) Time-Frequency toolbox for matlab
- Ballain, T., P. Litaudon, et al. (1998). "Role of the net architecture in piriform cortex activity: analysis by a mathematical model." *Biol Cybern* 79, 4, 323-36.
- Bascompte, J. (2001). Aggregate statistical measures and metapopulation dynamics. *J Theor Biol* 209, 3, 373-379.
- Berkner, K., & Wells, R. O. J. (1998). A CorrelationDependent Model for Denoising via Nonorthogonal Wavelet Transforms (Houston, TX 770051892, USA, Computational Mathematics Laboratory Department of Mathematics, Rice University).

- Bernander, O., Douglas, R. J., Martin, K. A., & Koch, C. (1991). Synaptic background activity influences spatiotemporal integration in single pyramidal cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 88, 24, 11569-11573.
- Besag, J. (1974). Spatial interaction and the statistical analysis of lattice systems (with discussion). *Journal of the Royal Statistical Society, Series B* 36, 2, 192--236.
- Bienenstock, E. (1995). A Model of Neocortex. *Network: Computation in Neural Systems* 6, 2, 179-224.
- Bovier, A. (2001). Statistical Mechanics of Disordered Systems, Lecture notes. Paper presented at: Concentrated Advanced Course on Statistical Mechanics of Disordered Systems (University of Copenhagen, Denmark).
- Bovier, A., & Picco, P. (1997). *Mathematical aspects of spin glasses and neural networks* (Boston, Birkhauser).
- Bowman, D. M., Eggermont, J. J., & Smith, G. M. (1995). Effect of stimulation on burst firing in cat primary auditory cortex. *J Neurophysiol* 74, 5, 1841-1855.
- Brislaw, C. M. (1995). Preservation of Subband Symmetry in Multirate Signal Coding. *IEEE Transactions on Signal Processing* 43, 12, 3046--3050.
- Brislaw, C. M. (1996). Classification of nonexpansive symmetric extension transforms for multirate filter banks. *Applied and Computational Harmonic Analysis* 3, 337--357.
- Bruce, A. G., & Gao, H.-Y. (1995). *Understanding WaveShrink: Variance and Bias Estimation* (Seattle, WA, USA, StatSci Division of MathSoft, Inc.), pp. 1-58.
- Buckheit, J., Chen, S., Donoho, D., Johnstone, L., & Scargle, J. (1995) About WaveLab (Version 7.01) <ftp://playfair.stanford.edu/pub/wavelab>, <http://playfair.stanford.edu/wavelab>
- Buzsáki, G., Llinás, R., Singer, W., Berthoz, A., & Christen, Y. (1994). *Temporal coding in the brain* (Berlin ; New York, Springer-Verlag).
- Calvin, W. H. (1996a). *The cerebral code : thinking a thought in the mosaics of the mind* (Cambridge, Mass., MIT Press).
- Calvin, W. H. (1996b). *Cloning in Cerebral Cortex. In The cerebral code : thinking a thought in the mosaics of the mind* (Cambridge, Mass., MIT Press), pp. 256.
- Changizi, M. A. (2001). Principles underlying mammalian neocortical scaling. *Biol Cybern* 84, 3, 207-215.
- Chawla, D., Lumer, E. D., & Friston, K. J. (1999). The relationship between synchronization among neuronal populations and their mean activity levels. *Neural Comput* 11, 6, 1389-1411.
- Chawla, D., Lumer, E. D., & Friston, K. J. (2000). Relating macroscopic measures of brain activity to fast, dynamic neuronal interactions. *Neural Comput* 12, 12, 2805-2821.
- Chung, S. H., & Kennedy, R. A. (1991). Forward-backward non-linear filtering technique for extracting small biological signals from noise. *J Neurosci Methods* 40, 1, 71-86.
- Cohen, A. (1986). *Biomedical signal processing* (Boca Raton, Fla., CRC Press).
- Cohen, A., & Kovacevic, J. (1996). *Wavelets: The Mathematical Background*. *Proceedings of the IEEE* 84, 4, 514--522.
- Cohen, L. B., Keynes, R. D., and Hille, B. (1968). Light scattering and birefringence changes during nerve activity. *Nature* 218, 140, 438-441.
- Coifman, R. R., & Donoho, D. L. (1995). *Translation-Invariant De-Noising*. *Lecture Notes in Statistics*, 125-150.
- Conti, F., & Weinberg, R. J. (1999). Shaping excitation at glutamatergic synapses. *Trends in Neurosciences* 22, 10, 451-458.
- Contreras, D., Destexhe, A., & Steriade, M. (1997). Intracellular and computational characterization of the intracortical inhibitory control of synchronized thalamic inputs in vivo. *J Neurophysiol* 78, 1, 335-350.
- Cowan, J. D. (2001). *Mathematical Neurosciences I, Lecture Notes* (University of Chicago).
- Date, A., Bienenstock, E., & Geman, S. (1998). On the Temporal Resolution of Neural Activity. In *Society for Neuroscience Abstracts* (Brown University, Division of Applied Mathematics).
- Date, A., Bienenstock, E., & Geman, S. (2000). A statistical tool for testing hypothesis about the temporal resolution of neural activity. Paper presented at: *Society for Neuroscience Abstracts*.
- Daubechies, I., ed. (1992). *Ten Lectures on Wavelets* (SIAM).
- Dayan, P., & Abbott, L. F. (2001). *Theoretical neuroscience : computational and mathematical*

- modeling of neural systems (Cambridge, Mass., MIT Press).
- de Sa, V. R., deCharms, R. C., & Merzenich, M. M. (1998). Using Helmholtz Machines to analyze multi-channel neuronal recordings. In *Advances in Neural Information Processing Systems*, Vol 10, M. I. Jordan, M. J. Kearns, & S. A. Solla, eds. (MIT Press), pp. 131-137.
- deCharms, R. C., & Zador, A. (2000). Neural representation and the cortical code. *Annu Rev Neurosci* 23, 613-647.
- DeFelipe, J. (1997). Microcircuits in the Brain. In *Biological and artificial computation : from neuroscience to technology : International Work-Conference on Artificial and Natural Neural Networks, IWANN '97, Lanzarote, Canary Islands, Spain, June 4-6, 1997 : proceedings*, J. Mira, R. Moreno-Díaz, & J. Cabestany, eds. (Berlin ; New York, Springer), pp. xxi, 1401.
- Denham, S. L. (2001). Cortical synaptic depression and auditory perception. In *Computational models of auditory function*, S. Greenberg, ed. (Amsterdam IOS Press, 1999.).
- Destexhe, A., Contreras, D., & Steriade, M. (1999). Cortically-induced coherence of a thalamic-generated oscillation. *Neuroscience* 92, 2, 427-443.
- Diesmann, M., Gewaltig, M. O., & Aertsen, A. (1999). Stable propagation of synchronous spiking in cortical neural networks. *Nature* 402, 6761, 529-533.
- Donoho, D., Huo, X., Duncan, M., Levi-Tsabari, O., Buckheit, J., Chen, S., Johnstone, L., & Scargle, J. (1995a) About WaveLab (Version 0.802) <http://www-stat.stanford.edu/~wavelab>
- Donoho, D., Johnstone, I., Kerkycharian, G., & Picard, D. (1995b). Wavelet shrinkage: Asymptopia? *J R Stat Soc* 57, 2, 301-369.
- Donoho, D. L. (1993). Nonlinear Wavelet Methods for Recovery of Signals, Densities, and Spectra from Indirect and Noisy Data. Paper presented at: Symposia in Applied Mathematics (Providence, R.I., Amer. Math. Soc.).
- Donoho, D. L. (1995). De-noising by Soft-Thresholding. *IEEE Transactions on Information Theory* 41, 3, 613--627.
- Donoho, D. L., & Johnstone, I. M. (1994). Ideal spatial adaptation by wavelet shrinkage. *Biometrika* 81, 3, 425--455.
- Donoho, D. L., & Johnstone, I. M. (1995). Adapting to Unknown Smoothness via Wavelet Shrinkage. *Journal of the American Statistical Association* 90, 432, 1200-1224.
- Donoho, D. L., & Johnstone, I. M. (1998). Minimax estimation via wavelet shrinkage. *Annals of Statistics* 26, 3, 879--921.
- Durrett, R. (1999). Stochastic Spatial Models. *SIAM Review* 41, 4, 677-718.
- Duttilleux, P. (1989). An implementation of the "algorithme à trous" to compute the Wavelet Transform. In "Wavelets: Time-Frequency Methods and Phase Space", J. M. Combes, A. Grossman, & P. Tchamitchian, eds. (Berlin, Springer), pp. 298--304.
- Duvaut, P. (1991). *Traitement du signal, Concepts et applications* (Paris).
- Ebner, T. J., & Chen, G. (1995). Use of voltage-sensitive dyes and optical recordings in the central nervous system. *Prog Neurobiol* 46, 5, 463-506.
- Eckhorn, R., Bauer, R., Jordan, W., Brosch, M., Kruse, W., Munk, M., & Reitboeck, H. J. (1988). Coherent oscillations: a mechanism of feature linking in the visual cortex? Multiple electrode and correlation analyses in the cat. *Biol Cybern* 60, 2, 121-130.
- Ehret, G. (1997). The auditory cortex. *J Comp Physiol [A]* 181, 6, 547-557.
- Ende, M., Louis, A. K., Maass, P., & Mayer-Kress, G. (1998). EEG Signal Analysis by Continuous Wavelet Transform Techniques. In *Nonlinear analysis of physiological data*, H. Kantz, J. Kurths, & G. Mayer-Kress, eds. (Berlin ; New York, Springer), pp. 213-219.
- Everson, R., Knight, B. W., & Sirovich, L. (1997). Separating spatially distributed response to stimulation from background. I. Optical imaging. *Biol Cybern* 77, 6, 407-417.
- Favorov, O., & Whitsel, B. L. (1988). Spatial organization of the peripheral input to area 1 cell columns. I. The detection of 'segregates'. *Brain Res* 472, 1, 25-42.
- Favorov, O. V., & Kelly, D. G. (1994a). Minicolumnar organization within somatosensory cortical segregates: I. Development of afferent connections. *Cereb Cortex* 4, 4, 408-427.
- Favorov, O. V., & Kelly, D. G. (1994b). Minicolumnar organization within somatosensory cortical segregates: II. Emergent functional properties. *Cereb Cortex* 4, 4, 428-442.
- Favorov, O. V., & Kelly, D. G. (1996). Stimulus-response diversity in local neuronal populations of the cerebral cortex. *Neuroreport* 7, 14, 2293-2301.

- Fernández, R. (1999). Measures for lattice systems (Proceedings of the XXth IUPAP International Conference on Statistical Physics, Paris, France, 1998). *Physica A* 263, 117-130.
- Fetz, E. E., Chen, D., Murthy, V. N., & Matsumura, M. (2000). Synaptic interactions mediating synchrony and oscillations in primate sensorimotor cortex. *J Physiol Paris* 94, 5-6, 323-331.
- Fiala, J. C., & Harris, K. M. (1999). Dendrite Structure. In *Dendrites*, G. Stuart, N. Spruston, & M. Häusser, eds. (New York ; Oxford, Oxford University Press).
- Francois, O., Abdollahi, L. M., Horikawa, J., Taniguchi, I., & Herve, T. (2000a). Statistical procedures for spatiotemporal neuronal data with applications to optical recording of the auditory cortex. *Neural Comput* 12, 8, 1821-1838.
- Francois, O., Larota, C., & Herve, T. (2000b). Diffusion and innovation rates for multidimensional neuronal data with large spatial covariances. *Network* 11, 3, 211-220.
- Franowicz, M. N., & Barth, D. S. (1995). Comparison of evoked potentials and high-frequency (gamma-band) oscillating potentials in rat auditory cortex. *J Neurophysiol* 74, 1, 96-112.
- Freeman, W. J. (1963). The Electrical Activity of a Primary Sensory Cortex: Analysis of EEG waves. *International Reviews of Neurobiology* 5, 10, 53-119.
- Freeman, W. J. (1972). Waves, Pulses, and the Theory of Neural Masses. In *Progress in Theoretical Biology*, Vol 2, R. Rosen, & F. M. Snell, eds. (New York and London, Academy Press), pp. 87-165.
- Freeman, W. J. (1979a). Measurement of cortical evoked potentials by decomposition of their wave forms. *Journal of Cybernetics and Information Science* 2, 4, 44-56.
- Freeman, W. J. (1979b). Nonlinear gain mediating cortical stimulus-response relations. *Biol Cybern* 33, 4, 237-247.
- Freeman, W. J. (1994). Qualitative overview of population neurodynamics. In *Neural Networks and Neural Modeling*, F. Ventriglia, ed. (Oxford [England] ; New York, Pergamon Press), pp. 185-216.
- Freeman, W. J. (1996). Random activity at the microscopic neural level in cortex ("noise") sustains and is regulated by low-dimensional dynamics of macroscopic cortical activity ("chaos"). *Int J Neural Syst* 7, 4, 473-480.
- Freeman, W. J. (2000a). Mesoscopic neurodynamics: from neuron to brain. *J Physiol Paris* 94, 5-6, 303-322.
- Freeman, W. J. (2000b). A proposed name for aperiodic brain activity: stochastic chaos. *Neural Netw* 13, 1, 11-13.
- Freeman, W. J., & Jakubith, S. (1993). Bifurcation analysis of continuous time dynamics of oscillatory neural networks. In *Brain theory : spatio-temporal aspects of brain function* (Amsterdam ; New York, Elsevier), pp. 183-207.
- Freeman, W. J., Kozma, R., & Werbos, P. J. (2001). Biocomplexity: adaptive behavior in complex stochastic dynamical systems. *Biosystems* 59, 2, 109-123.
- Freitas da Rocha, A., Pereira, A., & Bezerra Coutinho, F. A. (2001). N-methyl-d-aspartate channel and consciousness: from signal coincidence detection to quantum computing. *Progress in Neurobiology* 64, 6, 555 - 573.
- Friedrich, R., Jirsa, V. K., Haken, H., & Uhl, C. (1998). Analyzing Spatio-Temporal Patterns of Complex Systems. In *Nonlinear analysis of physiological data*, H. Kantz, J. Kurths, & G. Mayer-Kress, eds. (Berlin ; New York, Springer), pp. 101-114.
- Gaese, B. H., & Ostwald, J. (2001). Anesthesia changes frequency tuning of neurons in the rat primary auditory cortex. *J Neurophysiol* 86, 2, 1062-1066.
- Gao, H.-Y. (1998). Wavelet Shrinkage Denoising Using the Non-Negative Garrote. *Journal of Computational and Graphical Statistics* 7, 4, 469-488.
- Gao, H.-Y., & Bruce, A. G. (1995). WaveShrink with Semisot Shrinkage (Seattle, WA, USA, StatSci Division of MathSoft, Inc.), pp. 1-24.
- Gat, I., Tishby, N., & Abeles, M. (1997). Hidden markov modeling of simultaneously recorded cells in the associative cortex of behaving monkeys. *Network, Computation in Neural Systems*, 8, 297-322.
- Gersh, W. (1996). Some New Tools for EEG Modeling and Analysis. In *Advances in processing and pattern analysis of biological signals*, I. Gath, & G. F. Inbar, eds. (New York and London, Plenum Press), pp. 1-19.
- Gerstein, G. L., & Aertsen, A. M. (1985). Representation of cooperative firing activity among simultaneously recorded neurons. *J Neurophysiol* 54, 6, 1513-1528.

- Gerstein, G. L., Bedenbaugh, P., & Aertsen, M. H. (1989). Neuronal assemblies. *IEEE Trans Biomed Eng* 36, 1, 4-14.
- Gray, C. M., Engel, A. K., Konig, P., & Singer, W. (1992). Synchronization of oscillatory neuronal responses in cat striate cortex: temporal properties. *Vis Neurosci* 8, 4, 337-347.
- Gray, C. M., Konig, P., Engel, A. K., & Singer, W. (1989). Oscillatory responses in cat visual cortex exhibit inter-columnar synchronization which reflects global stimulus properties. *Nature* 338, 6213, 334-337.
- Gray, C. M., & Singer, W. (1989). Stimulus-specific neuronal oscillations in orientation columns of cat visual cortex. *Proc Natl Acad Sci U S A* 86, 5, 1698-1702.
- Grinvald, A., Hildesheim, R., Shoham, D., Glaser, D. E., Sterkin, A., & Arieli, A. (1999a). Voltage-sensitive-dye Imaging in the Neocortex: Visualization of Coherent Neuronal Assemblies. In *Imaging of Neuronal Activity*, pp. 1-16.
- Grinvald, A., Shoham, D., Shmuel, A., Glaser, D., Vanzetta, I., Shtoyerman, E., Slovin, H., Sterkin, A., Wijnbergen, C., Hildesheim, R., & Arieli, A. (1999b). In-vivo Optical imaging of cortical architecture and dynamics. In *Modern techniques in neuroscience research*, U. Windhorst, & H. Johansson, eds. (Berlin New York, Springer), pp. xxv, 1325.
- Grinvald, A., Slovin, H., & Vanzetta, I. (2000). Non-invasive visualization of cortical columns by fMRI. *Nat Neurosci* 3, 2, 105-107.
- Grossberg, S. (2000). The complementary brain: unifying brain dynamics and modularity. *Trends Cogn Sci* 4, 6, 233-246.
- Grothe, B., & Klump, G. M. (2000). Temporal processing in sensory systems. *Curr Opin Neurobiol* 10, 4, 467-473.
- Grün, S., Diesmann, M., Grammont, F., Riehle, A., & Aertsen, A. (1999). Detecting unitary events without discretization of time. *J Neurosci Methods* 94, 1, 67-79.
- Hainsworth, R. (1995). The Control and Physiological Importance of Heart Rate. In *Heart rate variability*, M. Malik, & A. J. Camm, eds. (Armonk, NY, Futura Pub. Co.), pp. xiv, 543.
- Haken, H. (1978). *Synergetics : an introduction : nonequilibrium phase transitions and self-organization in physics, chemistry, and biology* Hermann Haken, 2d enl. edn (Berlin ; New York Springer-Verlag).
- Haken, H. (1985). Complex systems, operational approaches in neurobiology, physics, and computers : proceedings of the International Symposium on Synergetics at Schloss Elmau, Bavaria, May 6-11, 1985 (Berlin ; New York, Springer-Verlag).
- Haken, H. (1996). *Principles of brain functioning : a synergetic approach to brain activity, behavior, and cognition* (Berlin ; New York, Springer).
- Hausser, M. (2001). Synaptic function: dendritic democracy. *Curr Biol* 11, 1, R10-12.
- Hausser, M., Spruston, N., & Stuart, G. J. (2000). Diversity and dynamics of dendritic signaling. *Science* 290, 5492, 739-744.
- Hebb, D. O. (1949). *The organization of behavior; a neuropsychological theory* (New York, Wiley).
- Herculano-Houzel, S., Munk, M. H., Neuenschwander, S., & Singer, W. (1999). Precisely synchronized oscillatory firing patterns require electroencephalographic activation. *J Neurosci* 19, 10, 3992-4010.
- Hermann, M., Hertz, J. A., & Prugel-Bennett, A. (1995). Analysis of Synfire Chains. *Network : computation in neural systems* 6, 3, 403-414.
- Hervé, T. (1987) *Champ Aleatoire et Information Neuronale: Application aux Voies Auditives*, Institut Polytechnique de Grenoble, Grenoble.
- Hervé, T., Dolmazon, J. M., & Demongeot, J. (1990a). Random field and neural information. *Proc Natl Acad Sci U S A* 87, 2, 806-810.
- Hervé, T., Irino, T., & Kawahara, H. (1990b). Representing temporal information in auditory periphery based on random field theory. Paper presented at: Workshop on Auditory Data, The Acoustical Society of Japan (NTT).
- Hiebeler, D. (1997). Stochastic Spatial Models: From Simulations to Mean Field and Local Structure Approximations. *J Theor Biol* 187, 307--319.
- Hines, M. L., & Carnevale, N. T. (2001). NEURON: a tool for neuroscientists. *Neuroscientist* 7, 2, 123-135.
- Hodgkin, A. L., & Huxley, A. F. (1952). A Quantitative Description of Membrane Current and its Application to Conduction and Excitation in Nerve. *J Physiol* 116, 500-544.
- Hodgkin, A. L., Huxley, A. F., & Katz, B. (1952). Measurement of Current-Voltage Relations in the Membrane of the Giant Axon of Loligo. *J Physiol* 116, 424-448.

- Holschneider, M., Kronland-Martinet, R., Morlet, J., & Tchamitchian, P. (1989). A real-time algorithm for signal analysis with the help of the Wavelet Transform. In "Wavelets: Time-Frequency Methods and Phase Space", J. M. Combes, A. Grossman, & P. Tchamitchian, eds. (Berlin, Springer), pp. 286--297.
- Hopfield, J. J. (1982). Neural networks and physical systems with emergent collective computational abilities. *Proc Natl Acad Sci U S A* 79, 8, 2554-2558.
- Horikawa, J., Hosokawa, Y., Kubota, M., Nasu, M., & Taniguchi, I. (1996). Optical imaging of spatiotemporal patterns of glutamatergic excitation and GABAergic inhibition in the guinea-pig auditory cortex in vivo. *J Physiol* 497, Pt 3, 629-638.
- Horikawa, J., Hosokawa, Y., Nasu, M., & Taniguchi, I. (1997). Optical study of spatiotemporal inhibition evoked by two-tone sequences in the guinea pig auditory cortex. *J Comp Physiol [A]* 181, 6, 677-684.
- Horikawa, J., Nasu, M., & Taniguchi, I. (1998). Optical recording of responses to frequency-modulated sounds in the auditory cortex. *Neuroreport* 9, 5, 799-802.
- Hosokawa, Y., Horikawa, J., Nasu, M., Sugimoto, S., & Taniguchi, I. (1998). Anisotropic neural interaction in the primary auditory cortex of guinea pigs with sound stimulation. *Neuroreport* 9, 15, 3421-3425.
- Hsieh, C. Y., Cruikshank, S. J., & Metherate, R. (2000). Differential modulation of auditory thalamocortical and intracortical synaptic transmission by cholinergic agonist. *Brain Res* 880, 1-2, 51-64.
- Hsung, T.-C., Lun, D. P.-K., & Siu, W.-C. (1999). Denoising by singularity detection. *IEEE Transactions on Signal Processing* 47, 11, 3139 - 3144.
- Huang, H.-C., & Cressie, N. (2000). Deterministic/stochastic wavelet decomposition for recovery of signal from noisy data. *Technometrics* 42, 262-276.
- Hubener, M., Shoham, D., Grinvald, A., & Bonhoeffer, T. (1997). Spatial relationships among three columnar systems in cat area 17. *J Neurosci* 17, 23, 9270-9284.
- Ising, E. (1925). Beitrag zur Theorie des Ferro- und Paramagnetismus. *Zeitschrift f Physik* 31, 253-258.
- Istrail, S. (2000). Statistical Mechanics, Three-Dimensionality and NP-completeness - I. Universality of Intractability for the Partition Function of the Ising Model Across Non-Planar Lattices. Paper presented at: Proceeding of the 31st ACM Annual Symposium on the Theory of Computing (STOC 2000) (Portland, Oregon., ACM Press).
- Jaffe, D. B., & Carnevale, N. T. (1999). Passive normalization of synaptic integration influenced by dendritic architecture. *J Neurophysiol* 82, 6, 3268-3285.
- Jawerth, B., & Sweldens, W. (1994). An Overview of Wavelet Based Multiresolution Analysis. *SIAM Rev* 36, 3, 377-412.
- Jaynes, E. T. (1985). Macroscopic Prediction. In Complex systems, operational approaches in neurobiology, physics, and computers : proceedings of the International Symposium on Synergetics at Schloss Elmau, Bavaria, May 6-11, 1985, Vol 31, H. Haken, ed. (Berlin ; New York, Springer-Verlag), pp. 254-269.
- Jaynes, E. T. (1988). The evolution of Carnot's principle. In Maximum-Entropy and Bayesian Methods in Science and Engineering, Vol 1, G. J. Erickson, & C. R. Smith, eds. (Dordrecht, The Netherlands, Kluwer Academic Publishers), pp. 267-282.
- Jonas, P., Major, G., & Sakmann, B. (1993). Quantal components of unitary EPSCs at the mossy fibre synapse on CA3 pyramidal cells of rat hippocampus. *J Physiol* 472, 615-663.
- Kaipio, J. P., & Karjalainen, P. A. (1997). Simulation of nonstationary EEG. *Biol Cybern* 76, 5, 349-356.
- Kappen, B. (1999). An Introduction to Stochastic Neural Networks. In Handbook of Biological Physics, Vol IV, C. G. a. F. Moss, ed. (Amsterdam, Elsevier).
- Kauermann, G., Müller, M., & Carroll, R. J. (1998). The efficiency of bias-corrected estimators for nonparametric kernel estimation based on local estimation equations. *Statistics & Probability Letters* 37, 41-47.
- Kelso, J. A. S. (1995). Dynamic patterns : the self-organization of brain and behavior (Cambridge, Mass., MIT Press).
- Kharazia, V. N., Phend, K. D., Rustioni, A., & Weinberg, R. J. (1996). EM colocalization of AMPA and NMDA receptor subunits at synapses in rat cerebral cortex. *Neurosci Lett* 210, 1, 37-40.
- Kharazia, V. N., & Weinberg, R. J. (1997). Tangential synaptic distribution of NMDA and AMPA receptors in rat neocortex. *Neurosci Lett* 238, 1-2, 41-44.
- King, A. J., & Schnupp, J. W. (1998). Sensory neuroscience: visualizing the auditory cortex. *Curr Biol* 8, 22, R784-787.
- Kleppe, I. C., & Robinson, H. P. (1999). Determining the activation time course of synaptic AMPA

- receptors from openings of colocalized NMDA receptors. *Biophys J* 77, 3, 1418-1427.
- Kneip, A., Li, X., MacGibbon, B., & Ramsay, J. O. (2000). Curve registration by local regression. *Canadian Journal of Statistics* 28, 19-30t.
- Kohn, A., Metz, C., Quibrera, M., Tommerdahl, M. A., & Whitsel, B. L. (2000). Functional neocortical microcircuitry demonstrated with intrinsic signal optical imaging in vitro. *Neuroscience* 95, 1, 51-62.
- Kohn, A., Pinheiro, A., Tommerdahl, M. A., & Whitsel, B. L. (1997). Optical imaging in vitro provides evidence for the minicolumnar nature of cortical response. *Neuroreport* 8, 16, 3513-3518.
- König, P., Engel, A. K., & Singer, W. (1995). Relation between oscillatory activity and long-range synchronization in cat visual cortex. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92, 1, 290-294.
- Kruggel, F., von Cramon, D. Y., & Descombes, X. (1999). Comparison of filtering methods for fMRI datasets. *Neuroimage* 10, 5, 530-543.
- Kubota, M., Sugimoto, S., Horikawa, J., Nasu, M., & Taniguchi, I. (1997). Optical imaging of dynamic horizontal spread of excitation in rat auditory cortex slices. *Neurosci Lett* 237, 2-3, 77-80.
- Kubovy, M., & Van Valkenburg, D. (2001). Auditory and visual objects. *Cognition* 80, 1-2, 97-126.
- Kudoh, M., & Shibuki, K. (1994). Long-term potentiation in the auditory cortex of adult rats. *Neurosci Lett* 171, 1-2, 21-23.
- Kudoh, M., & Shibuki, K. (1997). Importance of polysynaptic inputs and horizontal connectivity in the generation of tetanus-induced long-term potentiation in the rat auditory cortex. *J Neurosci* 17, 24, 9458-9465.
- La Rota, C., Francois, O., Horikawa, J., & Herve, T. (2003). On the Variability of Auditory Evoked Electrical Activity measured by Optical Imaging techniques. submitted.
- Lang, M., Guo, H., Odegard, J. E., Burrus, C. S., & Wells, R. O. (1996). Noise Reduction Using an Undecimated Discrete Wavelet Transform. *IEEE Signal Processing Letters* 3, 1, 10-12.
- Larkum, M. E., Kaiser, K. M., & Sakmann, B. (1999a). Calcium electrogenesis in distal apical dendrites of layer 5 pyramidal cells at a critical frequency of back-propagating action potentials. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96, 25, 14600-14604.
- Larkum, M. E., Zhu, J. J., & Sakmann, B. (1999b). A new cellular mechanism for coupling inputs arriving at different cortical layers. *Nature* 398, 6725, 338-341.
- Lashley, K. S. (1930) *Basic Neural Mechanisms in Behaviour*
<http://psychclassics.yorku.ca/Lashley/neural.htm>
- Lindstrom, M. J. (1995). Self modeling with random scale and shift parameters and a free-knot spline shape function". *Statistics in Medicine* 14, 18, 2009-10021.
- Litaudon, P., Girardeau-Montaut, C., Girardeau-Montaut, J. P., & Cattarelli, M. (1995). Automatic analysis of cortical signals recorded with voltage-sensitive dyes using a forward-backward non-linear filtering technique and deconvolution. *J Neurosci Methods* 63, 1-2, 153-157.
- Litaudon, P., Herve, T., & Cattarelli, M. (1997). Evidence for synchronised responses in the piriform cortex by using Gibbs potential analysis. *Biol Cybern* 76, 2, 119-127.
- Little, W. A. (1974). The existence of persistent states in the brain. *Mathematical Biosciences* 19, 101--120.
- Llinas, R. R., Leznik, E., & Urbano, F. J. (2002). Temporal binding via cortical coincidence detection of specific and nonspecific thalamocortical inputs: A voltage-dependent dye-imaging study in mouse brain slices. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99, 1, 449-454.
- Lumer, E. D., Edelman, G. M., & Tononi, G. (1997a). Neural dynamics in a model of the thalamocortical system. I. Layers, loops and the emergence of fast synchronous rhythms. *Cereb Cortex* 7, 3, 207-227.
- Lumer, E. D., Edelman, G. M., & Tononi, G. (1997b). Neural dynamics in a model of the thalamocortical system. II. The role of neural synchrony tested through perturbations of spike timing. *Cereb Cortex* 7, 3, 228-236.
- Makarenko, V. I., Welsh, J. P., Lang, E. J., & Llinas, R. R. (1997). A New Approach to the Analysis of Multidimensional Neuronal Activity: Markov Random Fields. *Neural Networks* 10, 5, 785-789.
- Malik, M., & Camm, A. J. (1995). *Heart rate variability* (Armonk, NY, Futura Pub. Co.).
- Mallat, S. G. (1989). A theory for multiresolution signal decomposition : the wavelet representation. *IEEE Transaction on Pattern Analysis and Machine Intelligence* 11, 674-693.
- Mallat, S. G. (1998). *Applied Mathematics Meets Signal Processing. Doc Math J DMV Extra Volume ICM 1998*, 1-4.

- Mallat, S. G. (1999). A wavelet tour of signal processing, 2nd edn (San Diego, Calif. ; London, Academic).
- Mallat, S. G., & Hwang, W. L. (1992). Singularity detection and processing with wavelets. *IEEE Transactions on Information Theory* 38, 2, 617-643.
- Martinierie, J., Adam, C., Le Van Quyen, M., Baulac, M., Clemenceau, S., Renault, B., & Varela, F. J. (1998). Epileptic seizures can be anticipated by non-linear analysis. *Nat Med* 4, 10, 1173-1176.
- Matsumura, M., Chen, D., Sawaguchi, T., Kubota, K., & Fetz, E. E. (1996). Synaptic interactions between primate precentral cortex neurons revealed by spike-triggered averaging of intracellular membrane potentials in vivo. *J Neurosci* 16, 23, 7757-7767.
- Mayer-Kress, G. (1994). Localized measures for nonstationary time-series of physiological data. *Integr Physiol Behav Sci* 29, 3, 205-210.
- McCoy, E. J., Percival, D. B., & Walden, A. T. (1995). On the phase of least-asymmetric scaling and wavelet filters, Technical Report TR-95-15 (London, Statistics Section, Imperial College.).
- McGrann, J. V., Shaw, G. L., Shenoy, K. V., Leng, X., & Mathews, R. B. (1994). Computation by symmetry operations in a structured model of the brain: Recognition of rotational invariance and time reversal. *Physical Review E Statistical Physics, Plasmas, Fluids, and Related Interdisciplinary Topics* 49, 6, 5830-5839.
- Menon, V., Freeman, W. J., Cuttillo, B. A., Desmond, J. E., Ward, M. F., Bressler, S. L., Laxer, K. D., Barbaro, N., & Gevins, A. S. (1996). Spatio-temporal correlations in human gamma band electrocorticograms. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 98, 2, 89-102.
- Metherate, R. (1998). Synaptic mechanisms in auditory cortex function. *Front Biosci* 3, d494-501.
- Metherate, R., & Cruikshank, S. J. (1999). Thalamocortical inputs trigger a propagating envelope of gamma-band activity in auditory cortex in vitro. *Exp Brain Res* 126, 2, 160-174.
- Metzner, W., & Juranek, J. (1997). A sensory brain map for each behavior? *Proc Natl Acad Sci U S A* 94, 26, 14798-14803.
- Meyer, J.-U., Schüttler, M., Thielecke, H., & Stieglitz, T. (2000). Biomedical Microdevices for Neural Interfaces. Paper presented at: 1st Annual International IEEE-EMBS Special Topic Conference on Microtechnologies in Medicine and Biology (Lyon, France).
- Meyer, Y. (1994). *Les Ondelettes, Algorithmes et Applications*, 2 edn (Paris, Armand Colin).
- Milton, J. G., & Mackey, M. C. (2000). Neural ensemble coding and statistical periodicity: speculations on the operation of the mind's eye. *J Physiol Paris* 94, 5-6, 489-503.
- Mitra, P. P., & Pesaran, B. (1999). Analysis of dynamic brain imaging data. *Biophys J* 76, 2, 691-708.
- Mohamed Abdallahi, L. O. (2001) Estimation des paramètres d'un modèle d'activité neuronale et applications de la théorie du champ moyen, thèse, Université Joseph Fourier - Grenoble I, Grenoble, France.
- Mountcastle, V. B. (1997). The columnar organization of the neocortex. *Brain* 120, Pt 4, 701-722.
- Najafi, K., Ji, J., & Wise, K. D. (1990). Scaling limitations of silicon multichannel recording probes. *IEEE Trans Biomed Eng* 37, 1, 1-11.
- Nason, G. P. (1996). Wavelet shrinkage using cross-validation. *J R Statist Soc B*, 58, 463-479.
- Nawrot, M., Aertsen, A., & Rotter, S. (1999). Single-trial estimation of neuronal firing rates: from single-neuron spike trains to population activity. *J Neurosci Methods* 94, 1, 81-92.
- Nunez, P. L. (1998). Neocortical dynamics of macroscopic-scale EEG measurements. *IEEE Eng Med Biol Mag* 17, 5, 110-117.
- Nunez, P. L. (2000). Toward a quantitative description of large-scale neocortical dynamic function and EEG. *Behav Brain Sci* 23, 3, 371-398; discussion 399-437.
- Nusser, Z. (2000). AMPA and NMDA receptors: similarities and differences in their synaptic distribution. *Curr Opin Neurobiol* 10, 3, 337-341.
- Nykamp, D. Q., & Tranchina, D. (2001). A population density approach that facilitates large-scale modeling of neural networks: extension to slow inhibitory synapses. *Neural Comput* 13, 3, 511-546.
- Ojima, H., Honda, C. N., & Jones, E. G. (1991). Patterns of axon collateralization of identified supragranular pyramidal neurons in the cat auditory cortex. *Cereb Cortex* 1, 1, 80-94.
- Omurtag, A., Kaplan, E., Knight, B., & Sirovich, L. (2000). A population approach to cortical dynamics with an application to orientation tuning. *Network* 11, 4, 247-260.
- Palm, G., Aertsen, A. M., & Gerstein, G. L. (1988). On the significance of correlations among neuronal spike trains. *Biol Cybern* 59, 1, 1-11.

- Pan, Q., Zhang, L., Dai, G., & Zhang, H. (1999). Two Denoising Methods by Wavelet Transform. *IEEE TRANSACTIONS ON SIGNAL PROCESSING* 47, 12, 3401--3406.
- Papoulis, A. (1991). Probability, random variables, and stochastic processes, 3rd edn (New York, McGraw-Hill).
- Peters, A. & Sethares, C. (1996). Myelinated axons and the pyramidal cell modules in monkey primary visual cortex. *J Comp Neurol* 365: 232--55.
- Phillips, W. A. (2001a). Contextual modulation and dynamic grouping in perception. *Trends in Cognitive Sciences* 5, 3, 95-97.
- Phillips, W. A. (2001b). Synchronization: making sense of the data. *Trends in Cognitive Sciences* 5, 7, 285.
- Phillips, W. A., & Singer, W. (1997). In search of common foundations for cortical computation. *Behav Brain Sci* 20, 4, 657-683; discussion 683-722.
- Plonsey, R., & Barr, R. C. (2000). Bioelectricity : a quantitative approach, 2nd edn (New York, Kluwer Academic/Plenum Publishers).
- Preston, C. J. (1974). Gibbs states on countable sets, Vol 68 ([London, New York], Cambridge University Press).
- Preston, C. J. (1976). Random fields, Vol 534 (Berlin, Springer-Verlag).
- Ramon y Cajal, S. (1995). Histology of the Nervous System of Man and Vertebrates. (English translation by N. Swanson and L. W. Swanson) Oxford Univ Press, NY. Originally published: Histologie du systeme nerveux de l'homme et des vertebres. (Trans. L. Azoulay), Paris, 1909-1911.
- Ramsay, J., & Li, X. (1998). Curve registration. *Journal of the Royal Statistical Society, Series B* 60, 351--363.
- Ramsay, J. O., & Silverman, B. W. (1997). *Functional Data Analysis*, Springer).
- Rauschecker, J. P. (1998). Cortical processing of complex sounds. *Curr Opin Neurobiol* 8, 4, 516-521.
- Rauschecker, J. P., & Tian, B. (2000). Mechanisms and streams for processing of "what" and "where" in auditory cortex. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97, 22, 11800-11806.
- Read, H. L., Winer, J. A., & Schreiner, C. E. (2001). Modular organization of intrinsic connections associated with spectral tuning in cat auditory cortex. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98, 14, 8042-8047.
- Redies, H., Brandner, S., & Creutzfeldt, O. D. (1989a). Anatomy of the auditory thalamocortical system of the guinea pig. *J Comp Neurol* 282, 4, 489-511.
- Redies, H., Sieben, U., & Creutzfeldt, O. D. (1989b). Functional subdivisions in the auditory cortex of the guinea pig. *J Comp Neurol* 282, 4, 473-488.
- Reinagel, P., & Laughlin, S. (2001). Natural stimulus statistics. *Network* 12, 3, 237-240.
- Riehle, A., Grun, S., Diesmann, M., & Aertsen, A. (1997). Spike Synchronization and Rate Modulation Differentially Involved in Motor Cortical Function. *Science* 278, 5345, 1950-1953.
- Rieke, F. (1997). *Spikes : exploring the neural code* (Cambridge, Mass., MIT Press).
- Robert, A. (1999) *Lamination and Within-Area Integration in the Neocortex*, University of California, San Diego.
- Robinson, P. A., Rennie, C. J., Wright, J. J., Bahramali, H., Gordon, E., & Rowe, D. L. (2001). Prediction of electroencephalographic spectra from neurophysiology. *Phys Rev E Stat Phys Plasmas Fluids Relat Interdiscip Topics* 63, 2 Pt 1, 021903.
- Rockland, K. S. (1998). Complex microstructures of sensory cortical connections. *Curr Opin Neurobiol* 8, 4, 545-551.
- Rønn, B. B. (1998) *Analyses of Functional Data.*, Ph.D., The Royal Veterinary and Agricultural University (RVAU).
- Rosencher, E., & Vinter, B., eds. (1998). *Optoélectronique* (Paris, MASSON).
- Roth, D. M., Swaney, J. S., Dalton, N. D., Gilpin, E. A., & Ross, J., Jr. (2002). Impact of anesthesia on cardiac function during echocardiography in mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 282, 6, H2134-2140.
- Rudolph, M., Hô, N., & Destexhe, A. (2001). Synaptic background activity affects the dynamics of dendritic integration in model neocortical pyramidal neurons. *Neurocomputing* 38, 40, 327-333.
- Rutkowski, R. G., Wallace, M. N., Shackleton, T. M., & Palmer, A. R. (2000). Organisation of binaural interactions in the primary and dorsocaudal fields of the guinea pig auditory cortex. *Hear Res* 145, 1-2, 177-189.
- Saito, N. (1993). Multiresolution representations using the auto-correlation functions of compactly supported wavelets. *IEEE Trans Signal Processing* 41 (*with correction: vol. 45, pp. 768, Mar 1997*), Special issue on wavelets and signal processing, 3584--3590.

- Samonas, M., Petrou, M., & Ioannides, A. A. (1997). Identification and elimination of cardiac contribution in single-trial magnetoencephalographic signals. *IEEE Trans Biomed Eng* 44, 5, 386-393.
- Schiessl, I., Stetter, M., Mayhew, J. E., McLoughlin, N., Lund, J. S., & Obermayer, K. (2000). Blind signal separation from optical imaging recordings with extended spatial decorrelation. *IEEE Trans Biomed Eng* 47, 5, 573-577.
- Schiller, J., Major, G., Koester, H. J., & Schiller, Y. (2000). NMDA spikes in basal dendrites of cortical pyramidal neurons. *Nature* 404, 6775, 285-289.
- Schiller, J., & Schiller, Y. (2001). NMDA receptor-mediated dendritic spikes and coincident signal amplification. *Curr Opin Neurobiol* 11, 3, 343-348.
- Schreiner, C. E. (1995). Order and disorder in auditory cortical maps. *Curr Opin Neurobiol* 5, 4, 489-496.
- Schreiner, C. E., Read, H. L., & Sutter, M. L. (2000). Modular organization of frequency integration in primary auditory cortex. *Annu Rev Neurosci* 23, 501-529.
- Schuz, A., & Palm, G. (1989). Density of neurons and synapses in the cerebral cortex of the mouse. *J Comp Neurol* 286, 4, 442-455.
- Sejnowski, T. J. (1997). The year of the dendrite. *Science* 275, 5297, 178-179.
- Seki, K., Kudoh, M., & Shibuki, K. (1999). Long-term potentiation of Ca²⁺ signal in the rat auditory cortex. *Neurosci Res* 34, 3, 187-197.
- Senn, W., Markram, H., & Tsodyks, M. (2001). An algorithm for modifying neurotransmitter release probability based on pre- and postsynaptic spike timing. *Neural Comput* 13, 1, 35-67.
- Shadlen, M. N., & Newsome, W. T. (1998). The variable discharge of cortical neurons: implications for connectivity, computation, and information coding. *J Neurosci* 18, 10, 3870-3896.
- Shaw, G. L., Silverman, D. J., & Pearson, J. C. (1985). Model of cortical organization embodying a basis for a theory of information processing and memory recall. *Proc Natl Acad Sci U S A* 82, 8, 2364-2368.
- Shensa, M. J. (1992). The Discrete Wavelet Transform: Wedding the A Trous and Mallat Algorithms. *IEEE Trans Signal Processing* 40, 10, 2464-2482.
- Shoham, D., Glaser, D. E., Arieli, A., Kenet, T., Wijnbergen, C., Toledo, Y., Hildesheim, R., & Grinvald, A. (1999). Imaging cortical dynamics at high spatial and temporal resolution with novel blue voltage-sensitive dyes. *Neuron* 24, 4, 791-802.
- Shors, T. J., & Matzel, L. D. (1997). Long-term potentiation: what's learning got to do with it? *Behav Brain Sci* 20, 4, 597-614; discussion 614-55.
- Silva, V., & de Sá, L. (1999). General Method for Perfect Reconstruction Subband Processing of Finite Length Signals Using Linear Extensions. *IEEE Transactions on Signal Processing* 47, 9, 2572--2575.
- Singer, W. (1994). Time as Coding Space in Neocortical Processing: A Hypothesis. In *Temporal coding in the brain*, G. Buzsáki, R. Llinás, W. Singer, A. Berthoz, & Y. Christen, eds. (Berlin ; New York, Springer-Verlag), pp. 51-79.
- Singer, W. (1999). Neuronal synchrony: a versatile code for the definition of relations? *Neuron* 24, 1, 49-65, 111-125.
- Smyth, D., Phillips, W. A., & Kay, J. (1996). Measures for investigating the contextual modulation of information transmission. *Network: Computation in Neural Systems* 7, 2, 307--316.
- Softky, W. R., & Koch, C. (1993). The highly irregular firing of cortical cells is inconsistent with temporal integration of random EPSPs. *J Neurosci* 13, 1, 334-350.
- Starck, J.-L., & Murtagh, F. (1999). Multiscale entropy filtering. *Signal Processing* 76, 147--165.
- Steinmetz, P. N., Roy, A., Fitzgerald, P. J., Hsiao, S. S., Johnson, K. O., & Niebur, E. (2000). Attention modulates synchronized neuronal firing in primate somatosensory cortex. *Nature* 404, 6774, 187-190.
- Steriade, M., McCormick, D. A., & Sejnowski, T. J. (1993). Thalamocortical oscillations in the sleeping and aroused brain. *Science* 262, 5134, 679-685.
- Steriade, M., Timofeev, I., Durmuller, N., & Grenier, F. (1998). Dynamic properties of corticothalamic neurons and local cortical interneurons generating fast rhythmic (30-40 Hz) spike bursts. *J Neurophysiol* 79, 1, 483-490.
- Stevens, C. F., & Zador, A. M. (1998). Input synchrony and the irregular firing of cortical neurons. *Nat Neurosci* 1, 3, 210-217.
- Stieglitz, T., & Meyer, J.-U. (1999). Microtechnical Interfaces to Neurons. In *Microsystem Technology in Chemistry and Life Sciences*, A. Manz, & H. Becker, eds. (Berlin ; New York, Springer), pp. 131-162.
- Stoop, R., Blank, D. A., & van der Vyver, J.-J. (2001). Synchronization-based computation, chaos and spike patterns in neocortical neural networks. *Paper*

- presented at: ECCTD 2001 (European Conference on Circuit Theory and Design) (Espoo, Finland, Helsinki University of Technology (HUT)).
- Stoop, R., & Bunimovich, L. A. (2000). A mathematical approach towards synchronization in neocortical neural networks. Paper presented at: Dynn 2000 (Bielefeld, Germany, ZIF, Universität Bielefeld).
- Stoop, R., Bunimovich, L. A., & Steeb, W. H. (2000). Generic origins of irregular spiking in neocortical networks. *Biol Cybern* 83, 6, 481-489.
- Storella, R. J., Horrow, J. C., & Polansky, M. (1999). Differences among heart rate variability measures after anesthesia and cardiac surgery. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 13, 4, 451-453.
- Stroud, J., Müller, P., & Sansó, B. (1999). Dynamic models for spatio-temporal data (Durham, North Carolina, Institute of Statistics and Decision Sciences, Duke University).
- Stuart, G., Spruston, N., & Häusser, M., eds. (1999). *Dendrites* (New York ; Oxford, Oxford University Press).
- Stuart, G. J., & Häusser, M. (2001). Dendritic coincidence detection of EPSPs and action potentials. *Nat Neurosci* 4, 1, 63-71.
- Stuetzle, W., & Mittal, Y. (1979). Some comments on the asymptotic behavior of robust smoothers. In *Smoothing Techniques for Curve Estimation*, Vol 757, T. Gasser, & M. Rosenblatt, eds. (Berlin ; New York, Springer-Verlag), pp. 191-195.
- Takahashi, H., Ejiri, T., Nakao, M., Matsumoto, K., Mase, F., Hatamura, Y., & Hervé, T. (2000). Surface Multipoint Microelectrode for Direct Recording of Auditory Evoked Potentials on the Auditory Cortex of a Rat. Paper presented at: 1st Annual International IEEE-EMBS Special Topic Conference on Microtechnologies in Medicine and Biology (Lyon, France).
- Taniguchi, I., Horikawa, J., Moriyama, T., & Nasu, M. (1992). Spatio-temporal pattern of frequency representation in the auditory cortex of guinea pigs. *Neurosci Lett* 146, 1, 37-40.
- Taniguchi, I., & Nasu, M. (1993). Spatio-temporal representation of sound intensity in the guinea pig auditory cortex observed by optical recording. *Neurosci Lett* 151, 2, 178-181.
- Tasaki, I., Watanabe, A., Sandlin, R., and Carnay, L. (1968). Changes in fluorescence, turbidity, and birefringence associated with nerve excitation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 61, 3, 883-888.
- Taswell, C. (2000). The what, how, and why of wavelet shrinkage denoising. *IEEE Computing in Science and Engineering* 2, 3, 12-19.
- Tetko, I. V., & Villa, A. E. P. (1997). Fast combinatorial methods to estimate the probability of complex temporal patterns of spikes. *Biol Cybern*, 76, 397-407.
- Tokioka, R., Kawaguchi, H., & Fukunishi, K. (2000). Spatio-temporal analyses of stimulus-evoked and spontaneous stochastic neural activity observed by optical imaging in guinea pig auditory cortex. *Brain Res* 861, 2, 271-280.
- Tompkins, W. J. (1993). *Biomedical digital signal processing : C-language examples and laboratory experiments for the IBM PC* (Englewood Cliffs, N.J., Prentice Hall).
- Tsodyks, M., Kenet, T., Grinvald, A., & Arieli, A. (1999). Linking spontaneous activity of single cortical neurons and the underlying functional architecture. *Science* 286, 5446, 1943-1946.
- Tsodyks, M., Pawelzik, K., & Markram, H. (1998). Neural networks with dynamic synapses. *Neural Comput* 10, 4, 821-835.
- Tsodyks, M. V., & Markram, H. (1997). The neural code between neocortical pyramidal neurons depends on neurotransmitter release probability. *Proc Natl Acad Sci U S A* 94, 2, 719-723.
- Tuckwell, H. C. (2000). Cortical potential distributions and information processing. *Neural Comput* 12, 12, 2777-2795.
- Uhl, C. (1999). *Analysis of neurophysiological brain functioning* (Berlin ; New York, Springer).
- Uhl, C., Kruggel, F., Opitz, B., & Yves von Cramon, D. (1998). A new concept for EEG/MEG signal analysis: detection of interacting spatial modes. *Hum Brain Mapp* 6, 3, 137-149.
- Unser, M. (1999). Splines: a perfect fit for signal and image processing. *IEEE Signal Processing Magazine* 16, 6, 22-38.
- Unser, M., Aldroubi, A., & Eden, M. (1992). On the asymptotic convergence of B-spline wavelets to Gabor functions. *IEEE Transactions on Information Theory* 38, 2 Part: 2, 864 - 872.
- Vaadia, E., Haalman, I., Abeles, M., Bergman, H., Prut, Y., Slovin, H., & Aertsen, A. (1995). Dynamics of neuronal interactions in monkey cortex in relation to behavioural events. *Nature* 373, 6514, 515-518.
- Valentine, P. A., & Eggermont, J. J. (2001). Spontaneous burst-firing in three auditory cortical

- fields: its relation to local field potentials and its effect on inter-area cross-correlations. *Hear Res* 154, 1-2, 146-157.
- Van Rullen, R., & Thorpe, S. J. (2001). Rate coding versus temporal order coding: what the retinal ganglion cells tell the visual cortex. *Neural Comput* 13, 6, 1255-1283.
- Vidakovic, B. (1998). Nonlinear wavelet shrinkage with Bayes rules and Bayes factors. *Journal of the American Statistical Association* 93, 173--179.
- Vidakovic, B., & Ruggeri, F. (2001). BAMS Method: Theory and simulations. *Sankhya : The Indian Journal of Statistics Volume 63, Series A*, Invited Paper for Special Issue on Wavelet Methods, 173--179.
- Wallace, M. N., & Harper, M. S. (1997). Callosal connections of the ferret primary auditory cortex. *Exp Brain Res* 116, 2, 367-374.
- Wallace, M. N., Rutkowski, R. G., & Palmer, A. R. (1999). A ventrorostral belt is adjacent to the guinea pig primary auditory cortex. *Neuroreport* 10, 10, 2095-2099.
- Wallace, M. N., Rutkowski, R. G., & Palmer, A. R. (2000). Identification and localisation of auditory areas in guinea pig cortex. *Exp Brain Res* 132, 4, 445-456.
- Wang, K., & Gasser, T. (1997). Alignment of Curves by Dynamic Time Warping. *The Annals of Statistics* 25, 3, 1251-1276.
- Wang, K., & Gasser, T. (1999). Synchronizing Sample Curves Nonparametrically. *The Annals of Statistics* 27, 2, 439-460.
- Wikle, C. K., Berliner, L. M., & Cressie, N. A. (1998). Hierarchical Bayesian space-time models. *Environmental and Ecological Statistics* 5, 2, 117--154.
- Williams, S. R., & Stuart, G. J. (2000a). Backpropagation of physiological spike trains in neocortical pyramidal neurons: implications for temporal coding in dendrites. *J Neurosci* 20, 22, 8238-8246.
- Williams, S. R., & Stuart, G. J. (2000b). Site independence of EPSP time course is mediated by dendritic I(h) in neocortical pyramidal neurons. *J Neurophysiol* 83, 5, 3177-3182.
- Williams, W. J. (1996). Reduced Interference Distributions: Biological Applications and Interpretations. *Proceedings of the IEEE* 84, 9, 1264-1280.
- Wright, J. J. (1999). Simulation of EEG: dynamic changes in synaptic efficacy, cerebral rhythms, and dissipative and generative activity in cortex. *Biol Cybern* 81, 2, 131-147.
- Wright, J. J., & Kydd, R. R. (1992). The electroencephalogram and cortical neural networks. *Network: Computation in Neural Systems* 3, 3, 341-362.
- Wright, J. J., Kydd, R. R., & Sergejew, A. A. (1990). Autoregression models of EEG. Results compared with expectations for a multilinear near-equilibrium biophysical process. *Biol Cybern* 62, 3, 201-210.
- Wright, J. J., Robinson, P. A., Rennie, C. J., Gordon, E., Bourke, P. D., Chapman, C. L., Hawthorn, N., Lees, G. J., & Alexander, D. (2001). Toward an integrated continuum model of cerebral dynamics: the cerebral rhythms, synchronous oscillation and cortical stability. *Biosystems* 63, 1-3, 71-88.
- Wu, J. Y., Lam, Y. W., Falk, C. X., Cohen, L. B., Fang, J., Loew, L., Prechtel, J. C., Kleinfeld, D., & Tsau, Y. (1998). Voltage-sensitive dyes for monitoring multineuronal activity in the intact central nervous system. *Histochem J* 30, 3, 169-187.
- Young, E. D. (1998). Parallel processing in the nervous system: evidence from sensory maps. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95, 3, 933-934.
- Zaveri, H. P., Williams, W. J., Iasemidis, L. D., & Sackellares, J. C. (1992). Time-Frequency Representation of Electroencephalograms in Temporal Lobe Epilepsy. *IEEE Trans Biomed Eng* 39, 502-509.
- Ziemann, U., Kastner, S., Kindermann, L., & Creutzfeldt, O. D. (1992). Two-tone inhibition in neurons of the cat's medial geniculate body. *Eur J Neurosci* 145, Suppl. 5.